

Received: 2023/08/10

Accepted: 2023/11/06

How to cite:

Malekipooya M. Response of acute incremental aerobic activity along with electrical stimulation on some markers of angiogenesis in Isoproterenol induced rats. *EBNESINA* 2024;26(1):28-37.

DOI: 10.22034/26.1.28

## Original Article

# Response of acute incremental aerobic activity along with electrical stimulation on some markers of angiogenesis in Isoproterenol induced rats

Mohammad Malekipooya<sup>1✉</sup>

### Abstract

**Background and aims:** Sports activity is an important and protective factor after cardiovascular diseases. The aim of this study was to investigate the response of acute incremental aerobic activity along with electrical stimulation on some markers of angiogenesis in Isoproterenol (ISO) induced rats.

**Methods:** This controlled experimental study involved 50 male rats (eight weeks old, weighing 210±15g) subjected to infarction with ISO (150mg/kg), subsequently divided randomly into 5 groups of 10: healthy, infarcted, engaged in sports activity, exposed to electrical stimulation, and engaged in aerobic activity combined with electrical stimulation. The intervention groups underwent activity (at a speed of 10 to 18m/min for 50 minutes) and electrical stimulation (at an intensity of 0.5mA for 20 minutes) in a single session. Venous blood samples were collected and analyzed using the ELISA method, with statistical analysis performed using the ANOVA test at a significance level of  $p < 0.05$ .

**Results:** Inducing rats with ISO resulted in a significant elevation in serum levels of VEGF and TSP1 in all groups ( $p = 0.0001$  for both). The ANOVA test revealed that a single session of sports activity led to a non-significant increase in VEGF levels and a non-significant decrease in TSP1 levels in infarcted rats in all groups compared to the infarcted group.

**Conclusion:** Incremental aerobic activity and electrical stimulation demonstrated positive effects on angiogenesis processes. However, due to the lack of statistical significance, further studies are warranted to explore the enhancement and proliferation of new capillary vessels in infarcted samples.

**Keywords:** Aerobic Exercise, Myocardial Infarction, VEGFs, TSP-1

EBNESINA - IRIAF Health Administration

(Vol. 26, No. 1, Serial 86 Spring 2024)

1. Assistant professor, Department of Exercise Physiology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

✉ Corresponding Author:

Mohammad malekipooya

Address: Department of Exercise Physiology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

Tel: +98 (86) 334122192

E-mail: Maleki.p@gmail.com



Copyright© 2024. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: <http://www.ebnesina.ajaums.ac.ir>

# پاسخ فعالیت هوازی فزاینده حاد به همراه تحریک الکتریکی بر برخی از نشانگرهای آنژیوژنز موش‌های صحرایی القاء شده با ایزوپروترونول

محمد ملکی پویا<sup>✉</sup>

### چکیده

**زمینه و اهداف:** فعالیت ورزشی یک عامل مهم و محافظت‌کننده پس از بیماری‌های قلبی عروقی است. هدف این مطالعه بررسی پاسخ فعالیت هوازی فزاینده حاد به همراه تحریک الکتریکی بر برخی از نشانگرهای آنژیوژنز موش‌های صحرایی القاء شده به ایزوپروترونول (ISO) بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی کنترل‌شده با گروه شاهد ۵۰ سر موش صحرایی نر ویستار (۸ هفته‌ای با وزن  $210 \pm 15$  گرم) پس از القاء آنفارکتوس با ISO (۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی سالم، آنفارکتوس، فعالیت‌ورزشی، تحریک الکتریکی و فعالیت‌ورزشی با تحریک الکتریکی تقسیم شدند. گروه‌های مداخله برای یک جلسه تحت فعالیت ورزشی فزاینده (با سرعت ۱۰ تا ۱۸ متر/دقیقه و مدت ۵۰ دقیقه) و تحریک الکتریکی (فوت شوک با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر و مدت ۲۰ دقیقه) قرار گرفتند. پس از تمرین و بی‌هوشی، نمونه خون وریدی سطوح سرمی VEGF و TSP1 جمع‌آوری گردید و به روش الیزا مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در سطح معنی‌داری  $p < 0/05$  استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد القاء موش‌های صحرایی با ISO منجر به افزایش معنی‌دار سطوح سرمی VEGF و TSP1 در کلیه گروه‌ها شد ( $p = 0/0001$ ). همچنین فعالیت ورزشی افزایش غیرمعنی‌دار سطوح سرمی VEGF و کاهش غیرمعنی‌دار TSP1 موش‌های صحرایی آنفارکتی در کلیه گروه‌ها نسبت به آنفارکتوس را به همراه داشت.

**نتیجه‌گیری:** فعالیت هوازی فزاینده و تحریک الکتریکی اثرات مثبتی بر فرایند آنژیوژنز داشته است، اما به دلیل معنی‌دار نبودن نیاز به مطالعات بیشتری جهت رشد و توسعه عروق مویرگی جدید در نمونه‌های آنفارکتی است.

**کلمات کلیدی:** ورزش هوازی، آنفارکتوس میوکارد، VEGF، TPS-1

(سال بیست و ششم، شماره اول، بهار ۱۴۰۳، مسلسل ۸۶)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۵

فصلنامه علمی پژوهشی ابن‌سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهجا

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۹

۱. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

<sup>✉</sup>نویسنده مسئول: محمد ملکی پویا

آدرس: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد

اسلامی، اراک، ایران

تلفن: ۳۳۴۱۲۳۱۹۲ (۸۶) ۰۹۸+

ایمیل: Maleki.p@gmail.com

## مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی علت اصلی و اول مرگ‌ومیر در سطح جهان است و از بین علل آن انفارکتوس میوکارد شیوع بالایی داشته و با افزایش سن چالش بزرگ بهداشتی را نشان می‌دهد [۱]. در سال ۲۰۲۰ در ایالات متحده آمریکا ۹۲۸,۷۴۱ مرگ به این دلیل ثبت شده است. در فاصله بین ۲۰۱۷ تا ۲۰۲۰ نزدیک به ۱۲۹/۹ میلیون بزرگسال بیماری‌های قلبی عروقی را تجربه کرده و بیلیون‌ها دلار در دو سال هزینه به‌همراه داشته است. در ایران بیش از ۴۴٪ مرگ‌ومیرها ناشی از عارضه‌های قلبی عروقی است [۲]. ایسکمی در قلب با انسداد شریان‌ها در کرونری به‌وجود می‌آید و با علائمی مانند آنژین صدری، آریتمی، نارسایی قلبی، انفارکتوس میوکارد یا مرگ ناگهانی خود را نشان می‌دهد. این فرایند منجر به مرگ میوسیت‌ها به‌دلیل از دست دادن جریان خون، کم‌خونی و کمبود اکسیژن می‌شود. از این‌رو انفارکتوس میوکارد توجه و نگرانی متخصصین قلب را بیشتر به‌خود اختصاص داده است. ایجاد رگ‌های جدید به‌واسطه فعالیت‌بدنی جهت پیش‌گیری و بازتوانی در این بیماران بسیار اهمیت دارد. آنژیوژنز به فرآیند تکثیر سلول‌های اندوتلیال، تشکیل رگ‌های فعال، رشد و تکامل عروق خونی جدید از طریق جوانه زدن سلول‌های اندتلیوم عروق قلبی گفته می‌شود. در افراد بزرگسال این فرایند یک امر ذاتی در واکنش به کسر اکسیژن میوکارد بوده و در غیاب هایپوکسی نیز صورت می‌پذیرد. هایپوکسی با فعال کردن فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF)<sup>۱</sup>، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها از مهمترین علل آنژیوژنز است. افزایش HIF-1 $\alpha$ <sup>۲</sup> و پروتئین VEGF در حین ورزش و آنژیوژنز یک امر تأیید شده است. با توجه به این‌که ۷۰٪ بیماران انفارکتوس حاد میوکارد به‌واسطه زخم‌های تصلب شرائین ملایم حادث می‌گردند [۳]، ایجاد تعادل بین فرآیندهای رگ‌زایی و ضد رگ‌زایی از اهمیت خاصی برای توانبخشی بعد از یک رویداد ایسکمیک برخوردار

است. از این‌رو در این تحقیق از نشانگرهای VEGF و ترمبوسپومدین-۱ (TSP1)<sup>۳</sup> که در ارتباط با فرایند انفارکتوس میوکارد هست استفاده شده است. VEGF یک گلیکوپروتئین همودیمریک با وزن مولکولی تقریباً ۴۵ کیلودالتونی و به‌عنوان یک سیتوکاین چندعملکردی اصلی در فرآیند التهاب و ترمیم زخم‌ها است و با اتصال به گیرنده VEGF در سطح سلول‌های اندوتلیال یک القاء کننده بالقوه آنژیوژنز است [۴]. در مقابل فاکتورهای ایجادکننده رگ، عوامل آنژیواستاتیک وجود دارند که مانع از فرایند آنژیوژنز می‌شوند که از مهمترین آنها می‌توان به ترمبوسپوندین‌ها (TSPs) اشاره نمود [۵]. TSP-1 یکی از مهمترین نشانگرهای خانواده TSPs است. به نظر می‌رسد عملکرد این نشانگر در فرآیند آنژیواستاتیک به‌عنوان یک مهارگر آنژیوژنز تا کنون به درستی مشخص نشده است. اما اکثر تحقیقات نشان داده‌اند که این عامل از طریق کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال موجب مهار آنژیوژنز می‌شود [۶].

علاوه بر درمان‌های پزشکی بیماران با ناراحتی‌های قلبی عروقی، روش‌های متفاوت دیگری در طب مکمل در ارتباط با این بیماران وجود دارد که انجام فعالیت‌های ورزشی از اولین توصیه‌ها برای پیشگیری و بازتوانی است. نظر به اینکه فعالیت ورزشی یک عامل مهم و محافظت‌کننده پس از بیماری‌های قلبی عروقی است، ارتباط بین فعالیت بدنی و تغییرات سطوح سرمی متغیرهای فوق در بیماران مبتلا به سکته قلبی و افراد سالم هنوز ناشناخته است و اطلاعات اندکی در دست است. اثربخشی بازتوانی قلبی بر تمرینات ورزشی روی مرگ و میر، ابتلا به بیماری و کیفیت زندگی مرتبط با سلامت بیماران عروق کرونری قلب به‌طور گسترده‌ای مورد پذیرش واقع گردیده است [۷]. ملکی پویا و همکاران نشان دادند تمرینات ورزشی منجر به افزایش معنی‌دار مقادیر سرمی VEGF موش‌های صحرائی انفارکتی می‌شود [۸]، در صورتی که رنجبر و

1. Vascular Endothelial Growth Factor  
2. Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha

3. Thrombospondin

حاد به همراه تحریک الکتریکی را بر برخی از نشانگرهای آنژیوتنژن موش‌های صحرایی القاء شده با ایزوپروترونول پرداختند.

### روش بررسی

در این پژوهش پس از مون با گروه کنترل از ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی  $210 \pm 15$  گرم که از انستیتو پاستور خریداری شده بود، استفاده گردید. این حیوانات در قفس‌های پلی کربنات شفاف و در شرایط کنترل شده با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $50 \pm 5\%$  و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی نگهداری شدند. پس از انتقال حیوانات به محیط پژوهش به مدت ۱ هفته، در شرایط جدید نگهداری شدند و بعد از سازگاری با محیط آزمایشگاه به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی شامل سالم (H)، آنفارکتوس میوکارد (MI)، آنفارکتوس میوکارد-فعالیت ورزشی (MI.EX)، آنفارکتوس میوکارد-تحریک الکتریکی (MI.ES) و آنفارکتوس میوکارد-فعالیت ورزشی-تحریک الکتریکی (MI.EX.ES) تقسیم شدند.

جهت القاء آنفارکتوس میوکارد از تزریق زیر جلدی ایزوپروترونول<sup>۴</sup> (ISO ساخت شرکت سیگما آمریکا) با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد. ایزوپروترونول با محلول نرمال سالین (۰/۰۵ سی‌سی) رقیق شده و در دو روز متوالی با فاصله ۲۴ ساعت به موش‌های صحرایی تزریق شد [۱۷]. این ماده در مدل‌های حیوانی به‌ویژه موش‌های صحرایی یکی از روش‌های رایج القاء آنفارکتوس میوکارد است [۱۸].

برای ایجاد تحریک الکتریکی در این پژوهش از دستگاه استیمولیتور R12 ساخت شرکت پرتو دانش استفاده شد. میزان شدت جریان الکتریسیته در این برنامه ۰/۵ میلی‌آمپر و برای

همکاران نشان دادند تمرین استقامتی منجر به کاهش سطوح VEGF گروه ایسکمی-تمرین شد [۹]. در مطالعه‌ای دیگر الفرت<sup>۱</sup> و همکاران نشان دادند تمرین ورزشی در موش‌های صحرایی پیر ویستار منجر به کاهش بیان TSP-1 mRNA می‌شود [۱۰]. همچنین هویر<sup>۲</sup> و همکاران نیز نشان دادند تمرین هوازی در مردان سالم، منجر به کاهش غیر معنی‌دار سطوح TSP-1 شد [۱۱]. اما چادلر<sup>۳</sup> و همکاران در یک تمرین هوازی نشان دادند سطوح TSP-1 در طبیعی‌سازی عروق بیماران تومور افزایش پیدا کرده است [۱۲].

از دیگر روش‌های جدید و مؤثر در درمان ایسکمی تحریک الکتریکی است [۱۳]. با توجه به مطالعات انجام شده انتظار می‌رود که تحریک الکتریکی یک روش توانبخشی برای افرادی که در تمرینات ورزشی مشارکت دارند باشد [۱۴] در همین راستا می‌توان به تحقیقات ملکی‌پویا و همکاران در کاهش التهاب بیماران انفارکته قلبی به‌واسطه تحریک الکتریکی اشاره نمود [۱۵، ۱۶]. پژوهشی که VEGF و TSP-1 را متعاقب فعالیت‌های بدنی و همچنین تحریک الکتریکی در نمونه‌های سخته‌ای بررسی کرده باشد، وجود ندارد. بحث فاکتورهای التهابی، سیستم ایمنی و واسطه‌ها و پاسخ‌های آن به فعالیت‌های ورزشی و تحریک الکتریکی، کاملاً جدید است و مطالعه‌ای در این زمینه صورت نگرفته و نظریه واحدی نیز در این خصوص نیز وجود ندارد. به‌ر حال در مطالعات مختلف اثرات مثبت تمرینات ورزشی و تحریک الکتریکی بر جنبه‌های مختلف سلامت قلب بیماران مبتلا به سخته قلبی مورد توجه قرار گرفته است، اما سازوکارهای فیزیولوژیک آنها به‌خوبی روشن نیست. با توجه به اهمیت بازتوانی سریع‌تر بیماران مبتلا به عارضه قلبی و ضرورت پژوهش‌های علمی در عدم ابتلای مجدد آنها به این بیماری، محققان مطالعه حاضر به بررسی پاسخ فعالیت هوازی فزاینده

1. Olfert  
2. Hoier  
3. Schadler

4. Thrombospondin

خون گرفته شده در لوله‌های ژل‌دار کلاته ساده ریخته شد و پس از قرارگرفتن به مدت ۱۰ دقیقه در شرایط دمایی محیط و لخته زدن، در سانتریفوژ برای ۵ دقیقه و با ۵۰۰۰ دور در دقیقه گذاشته شد. سپس نمونه‌های سرمی برای آنالیز بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. جهت تعیین مقادیر سرمی VEGF، TSP-1 و cTnI از روش الایزا و بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت‌های شرکت ایست بیوفارم (با ضریب تغییرات برون‌آزمونی ۱/۴، ۱/۴ و ۸٪ و حساسیت روش اندازه‌گیری ۰/۲ و ۰/۲ نانوگرم/میلی‌لیتر و ۷/۸ و پیکوگرم/میلی‌لیتر) استفاده شد.

### ملاحظات اخلاقی

در مطالعه حاضر، استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، منطبق بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود. همچنین این مطالعه بر اساس پروتکل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک انجام شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

پس از تأیید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها، از آنالیز واریانس (آنووا) دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری گرافپد (نسخه ۶) در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) و سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

### یافته‌ها

آمار توصیفی سطوح سرمی VEGF و TSP-1 با توجه به مداخله فعالیت ورزشی و تحریک الکتریکی در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین نمودار ۱-الف غلظت سرمی VEGF در گروه‌های مورد مطالعه پس از انجام مداخله را نشان می‌دهد. نتایج بیان کرد القاء ISO منجر به افزایش معنی‌دار سطوح VEGF بین گروه سالم و دیگر گروه‌ها شد ( $F = 35/5$  و

مدت ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد که از طریق خروجی‌های استیمولیتور (با تنظیمات Trial Number: 1، Recording Time: 1200000، Trial Period: 1200000) به دستگاه فوت شوک ارسال گردید [۱۹].

مرحله آشناسازی موش‌های صحرایی با تردمیل در هفته دوم، به مدت ۱ هفته، هفته‌ای ۵ روز، هر روز به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر/دقیقه انجام شد. بررسی‌ها نشان داده است که این میزان تمرین در حدی نیست که منجر به تغییر بارزی در ظرفیت هوازی شود. موش‌های صحرایی برای دویدن از طریق صدا و تحریک شرطی‌سازی شدند تا از نزدیک شدن، استراحت و برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند.

پس از سازگاری و القاء آنفارتوس و آشناسازی با تردمیل، تمرین ابتدا به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر/دقیقه و با شیب صفر درجه شروع شد. سپس برای رسیدن به سرعت مورد نظر به‌ازای هر دقیقه، ۲ متر/دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده شد، تا اینکه به سرعت ۱۸ متر/دقیقه رسید. سپس آزمودنی‌ها به مدت ۵۰ دقیقه با همین سرعت و شیب صفر درجه به فعالیت ادامه دادند. برای سرد کردن بدن در پایان جلسه تمرینی مدت ۵ دقیقه، سرعت نوارگردان به طور معکوس کاهش یافت تا به سرعت اولیه رسید [۲۰].

بعد از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین تزریق از هر گروه چند موش صحرایی به‌صورت تصادفی انتخاب و تحت شرایط آزمایش جهت اطمینان از القاء آنفارتوس قرار گرفت. در این مطالعه آنفارتوس قلبی بر اساس تغییرات الکتروکاردیوگرافی (بالا رفتن قطعه ST) همراه با افزایش آنزیم قلبی cTnI (۳۴۴/۰۱ پیکوگرم/میلی‌لیتر) تأیید گردید [۲۱]. گروه‌ها بلافاصله پس از پایان پروتکل تمرینی با ترکیبی از کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) با رعایت مسائل اخلاقی بی‌هوش و کشته شدند. عمل خونگیری بعد از بی‌هوشی، مستقیم از دهلیز سمت راست قلب موش‌های صحرایی با سرنگ‌های تیوب‌دار ۱۰ سی‌سی صورت گرفت.

جدول ۱- تحلیل واریانس دوطرفه متغیرهای VEGF و TSP-1 با فعالیت ورزشی و تحریک الکتریکی

گروه‌های مقایسه	متغیر TSP-1					متغیر VEGF				
	اندازه اثر	مقدار p	مقدار F	درجه آزادی	میانگین (±خطای استاندارد)	اندازه اثر	مقدار p	مقدار F	درجه آزادی	میانگین (±خطای استاندارد)
MI یا H	۰/۸۳	۰/۰۰۰۱*	۲۳	۲۸	۱۲/۲±۰/۹۸	۰/۸۳	۰/۰۰۰۱*	۳۴	۲۸	۴۰۳/۵±۲/۸
MI.EX یا H	۰/۸۱	۰/۰۰۰۱*	۲۳	۲۸	۱۳±۰/۹۸	۰/۸۱	۰/۰۰۰۱*	۳۷	۲۸	۴۲۵/۳±۲/۸
MI.ES یا H	۰/۸۲	۰/۰۰۰۱*	۲۰	۲۸	۱۰/۴±۰/۹۸	۰/۸۲	۰/۰۰۰۱*	۳۵	۲۸	۴۰۹/۹±۲/۸
MI.EX.ES یا H	۰/۸۱	۰/۰۰۰۱*	۱۹	۲۸	۱۰/۷±۰/۹۸	۰/۸۱	۰/۰۰۰۱*	۳۶	۲۸	۴۲۳/۸±۲/۸
MI.EX یا MI	۰/۱۹	۰/۹۹۹	۰/۳۲	۲۸	۲۰/۹±۰/۹۸	۰/۱۹	۰/۲۹۰	۲/۸	۲۸	۶۹۶/۲±۲/۸
MI.ES یا MI	۰/۱۶	۰/۱۴۱	۳/۴	۲۸	۱۸/۳±۰/۹۸	۰/۰۷	۰/۹۶۴	۰/۹۳	۲۸	۶۸۰/۹±۲/۸
MI.EX.ES یا MI	۰/۱۹	۰/۰۶۹	۴/۱	۲۸	۱۸/۶±۰/۹۸	۰/۱۳	۰/۴۰۰	۲/۵	۲۸	۶۹۳/۸±۲/۸
MI.ES یا MI.EX	۰/۱۵	۰/۲۱۵	۳/۱	۲۸	۱۹/۱±۰/۹۸	۰/۱۵	۰/۶۶۳	۱/۹	۲۸	۷۰۳/۶±۲/۸
MI.EX.ES یا MI.EX	۰/۱۹	۰/۰۹۳	۳/۸	۲۸	۱۹/۴±۰/۹۸	۰/۰۶	۰/۹۹۹	۰/۳۰	۲۸	۷۱۶/۵±۲/۸
MI.EX.ES یا MI.ES	۰/۱۹	۰/۹۸۸	۰/۶۷	۲۸	۱۶/۸±۰/۹۸	۰/۰۷	۰/۷۸۷	۱/۶	۲۸	۷۰۱/۲±۲/۸

گروه سالم (H)، انفارکتوس میوکارد (MI)، انفارکتوس میوکارد-فعالیت ورزشی (MI.EX)، انفارکتوس میوکارد-تحریک الکتریکی (MI.ES) و انفارکتوس میوکارد-فعالیت ورزشی-تحریک الکتریکی (MI.EX.ES)

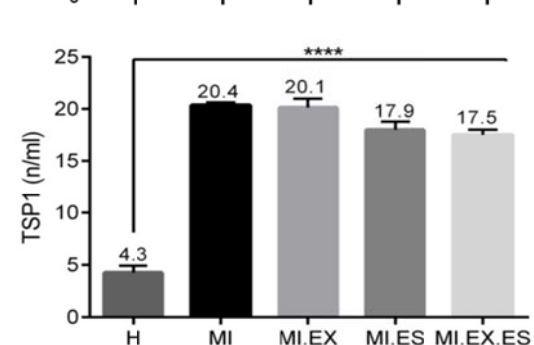
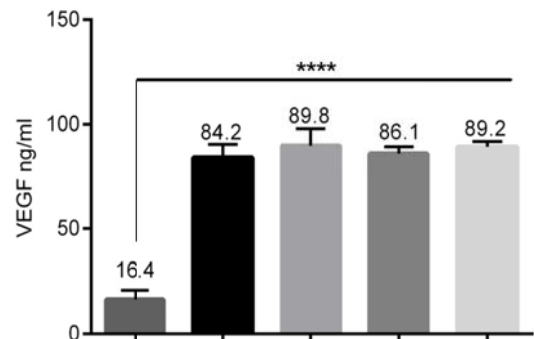
با فعالیت ورزشی، تحریک الکتریکی، تلفیقی از آن را نشان داد.

### بحث و نتیجه گیری

هدف از پژوهش حاضر بررسی پاسخ فعالیت هوازی فزاینده حاد به همراه تحرک الکتریکی بر برخی از نشانگرهای آنژیوژنز موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس میوکارد در خصوص روند ایجاد آنژیوژنز بود. از یافته‌های مهم این پژوهش می‌توان به افزایش غیر معنی‌دار سطوح سرمی VEGF در گروه تمرین هوازی فزاینده و کاهش غیر معنی‌دار سطوح سرمی TSP-1 اشاره نمود. در مدل موش‌های صحرایی در اثر ایسکمی، تمرینات ورزشی با فعال کردن مجدد VEGF قلبی مسیره‌های آنژیوژنز را فعال می‌کند. این امر منجر به افزایش شبکه مویرگی کرونری، و پرفیوژن خونی بیشتر میوکارد می‌شود. بهبود سراسری عملکرد بطن چپ و سیگنال‌های انقباضی میوسیت‌ها در پاسخ به تحریک آدرنرژیک از موارد دیگری است که در نهایت از تضعیف منفی ری‌مدلینگ قلبی جلوگیری می‌کند. بهبود عملکرد همودینامیک و سیستم فیزیکی آن نیز بیانگر یک تعادل مثبت اثر تمرین ورزشی بر بیماران قلبی-عروقی است [۲۲]. فعالیت‌های ورزشی، منجر به واکنش‌های التهابی، با فعال‌سازی هیستامین یا سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین-۱، آلفا، فاکتور نکروز تومور-بتا، گاما اینترفرون، رادیکال‌های آزاد مانند نیتریک اکساید می‌شوند. همچنین HIF در شرایط هایپوکسی منجر به تولید پروتئین‌های، هیدروژن پراکسیداز و فسفولیپید می‌شود. این

نتایج آزمون آنوا دوطرفه افزایش غیر معنی‌داری بین گروه سکنه قلبی با فعالیت ورزشی، تحریک الکتریکی، تلفیقی از آن را نشان داد.

همچنین نمودار ۲-الف غلظت سرمی TSP-1 در گروه‌های مورد مطالعه پس از انجام مداخله را نشان می‌دهد. نتایج بیان کرد القاء ISO منجر به افزایش معنی‌دار غلظت TSP-1 بین گروه سالم و دیگر گروه‌ها شد ( $F=۲۱/۳$  و  $p=۰/۰۰۰۱$ ). نتایج آزمون آنوا دوطرفه کاهش غیر معنی‌داری بین گروه سکنه قلبی



نمودار ۱- تغییرات غلظت سرمی VEGF (الف) و TSP-1 (ب)

گروه سالم (H)، انفارکتوس میوکارد (MI)، انفارکتوس میوکارد-فعالیت ورزشی (MI.EX)، انفارکتوس میوکارد-تحریک الکتریکی (MI.ES) و انفارکتوس میوکارد-فعالیت ورزشی-تحریک الکتریکی (MI.EX.ES)

\*\*\*\* نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه سالم و کلیه گروه‌ها

در افزایش مقادیر VEGF نیز همسو بود [۲۹]. نتایج تحقیقات بررسی شده با توجه به شدت و مدت متفات تمرینی افزایش سطح VEGF را، به‌ویژه در بیماران نشان می‌دهند که با یافته‌های این تحقیق در افزایش این متغیر همسو است. در خصوص افزایش فعالیت سطوح سرمی VEGF موش‌های صحرایی می‌توان گفت این امر احتمال دارد به‌دلیل اثر حفاظتی تمرینات هوازی فزاینده بر شاخص‌های فیبرز قلبی و پیشگیری عوارض احتمالی آن از طریق افزایش فعالیت این فاکتور التهابی در روند ایجاد عروق جدید هست [۳۰]. به‌نظر می‌رسد پروتکل ورزشی اخیر در شرایط پاتولوژیک منجر به سازگاری هرچند اندک در بیماران آنفراکتوس میوکاردی شد. در تضاد با نتایج افزایشی تحقیق فوق، بریکسیوس<sup>۵</sup> و همکاران همچنین نشان دادند مقادیر سرمی VEGF مردان ۵۰ تا ۶۰ سال که اضافه‌وزن داشتند، به‌دنبال ۶ ماه تمرین منظم هوازی دوچرخه‌سواری و دویدن تغییر معنی‌داری نداشت. علت این اختلاف در معنی‌دار نبودن VEGF ممکن است به‌دلیل نوع آزمودنی‌ها و مدت‌زمان فعالیت باشد (۶۰ دقیقه تمرین دویدن و ۹۰ دقیقه دوچرخه‌سواری برای سه جلسه در هفته در یک مدت‌زمانی طولانی) که منجر به سازگاری شده و همچنین در تحقیق فوق از پلاسمای خون استفاده شده است [۳۱]. رنجبر و همکاران نشان دادند در سکنه قلبی، بین گروه‌های ورزش، مکمل و ایسکمی میوکارد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و تمرینات استقامتی باعث کاهش VEGF می‌شود که با نتایج این تحقیق همسو نبوده است و این امر می‌تواند به‌دلیل مصرف مکمل ال-آرژنین به‌همراه تمرین باشد [۹]. از دیگر نتایج این تحقیق کاهش غیرمعنی‌دار غلظت سرمی TSP-1 موش‌های صحرایی آنفراکنه متعاقب فعالیت ورزشی حاد بود. در همین راستا الفرت و همکاران نشان دادند مقادیر TSP-1 mRNA به تمرین حاد ورزشی ۳ تا ۵ روز کاهش داشتند. همچنین ۸ هفته برنامه تمرین ورزشی به همراه تمرین حاد و گروه تمرینی

عوامل با هدف شکستن بافت نکروتیک منجر، به تحریک فرایند آنژیوژنز می‌گردد [۲۳]. در بین علل التهابی بیان شده که منجر به آنژیوژنز می‌گردد VEGF مهمترین فاکتور هست که هاپیوکسی از طریق تولید آدنوزین و گیرنده‌های آن روی سلول‌های اندوتلیال موجب افزایش تکثیر سلولی می‌شود. همچنین با افزایش HIF-1 $\alpha$  و پیوند با HRE<sup>۱</sup> فاکتور رشدی VEGF و گیرنده اول VEGF را زیاد می‌کند [۲۴]. مهری‌الوار و همکاران در تحقیق خود به‌بررسی اثر ۸ هفته تمرین استقامتی ۴۰ دقیقه‌ای، با شدت ۴۰ تا ۵۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی و ۳۰ دقیقه تمرین تناوبی بر موش‌های صحرایی با ایسکمی پرداختند و نشان دادند بیان ژن VEGF به‌صورت معنی‌داری نسبت به گروه‌های دیگر افزایش داشت [۲۵] که با نتایج تحقیق جونز<sup>۲</sup> و همکاران که ۱۲ هفته‌ای به بررسی غلظت عضلانی VEGF-A در بیماران عروق محیطی در نتیجه فعالیت بدنی و مقایسه آنها با افراد عادی پرداختند همسو بوده است و افزایش VEGFR1 را در برداشت [۲۶]. همچنین ارکت<sup>۳</sup> و همکاران در تحقیق خود به مدت ۵ هفته به بررسی بیان VEGF در عضلات قلبی موش‌های صحرایی دیابتی با استفاده از تردمیل پرداختند. نتایج نشان داد VEGF به‌صورت معنی‌داری در گروه دیابتی غیرفعال نسبت به گروه کنترل غیرفعال کاهش و تمرینات ورزشی در هر دو گروه دیابتی فعال و کنترل فعال افزایش معنی‌داری در سطوح VEGF داشته است [۲۷]. در پژوهش دوگان<sup>۴</sup> و همکاران افزایش سطح بیان ژن VEGF در گروه ایسکمی تمرین نسبت به گروه‌های دیگر (شم، ایسکمی و تمرین تناوبی) نشان داده شد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین سایر گروه‌ها مشاهده نشد و این تغییرات در گروه سالم هم معنی‌دار نبود [۲۸]. نتایج تحقیق ملکی‌پویا و همکاران نیز افزایش غلظت سرمی این متغیر را در موش‌های صحرایی آنفراکنه تأیید کردند [۸] که با نتایج هیات و همکاران

1. Hypoxia Response Element  
2. Jones  
3. Erekat  
4. Duggan

5. Brixius

هایپوکسی مزمن باعث کاهش بیان TSP-1 mRNA در عضله گاستروکونیموس موش صحرایی‌ها نسبت به تمرین ورزشی در موش‌های صحرایی سالم و پیر شده است [۱۰]. در پژوهش هویر<sup>۱</sup> و همکاران تمرینات هوازی کاهش غیرمعنی‌دار در سطوح TSP-1 افراد غیر ورزشی ایجاد کرد [۱۱] که نتایج تحقیقات فوق در کاهش متغیر آنتی‌آزتیوژنز هم‌راستا با نتایج این پژوهش است. در تضاد با نتایج تحقیقات فوق استنیم<sup>۲</sup> و همکاران افزایش بیان TSP-1 دیواره عروق موش‌های صحرایی دیابتی را مشاهده کردند و بیان کردند که این عامل می‌تواند به دلیل واکنش مستقیم سلولهای عروقی به غلظت گلوکز بوده که نشان می‌دهد ارتباط معنی‌داری بین دیابت و تصلب شرایین در موش‌های صحرایی مورد مطالعه وجود دارد [۳۲]. همچنین کیولا<sup>۳</sup> و همکاران نشان دادند موش‌های صحرایی سالم پاسخ‌های آنتی‌آزتیوژنیک بالاتری نسبت به فعالیت ورزشی ۱ ساعت با سرعت ۲۱ متر/دقیقه و شیب ۲/۵ درجه در مقایسه با موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت از خود نشان می‌دهند، ولی فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان عامل آنتی‌آزتیوژنیک TSP-1 در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت در مقایسه با موش‌های صحرایی سالم می‌شود، که به نظر یک رخداد محافظتی است [۳۳]. دلیل این تضاد را می‌توان به مدت زمان تمرین ورزشی، نوع بیماری و نمونه‌های تحقیقی اشاره کرد به طوری که در تحقیقات فوق نمونه‌ها دیابتی بوده، مدت و سرعت تمرین بیشتری از تحقیق حاضر داشتند.

نتیجه دیگر مطالعه حاضر افزایش غیرمعنی‌دار غلظت سرمی VEGF و کاهش غیرمعنی‌داری مقادیر TSP-1 به واسطه تحریک الکتریکی و همراه با فعالیت ورزشی بود. در خصوص تأثیر تحریک الکتریکی با فوت شوک و تمرین هوازی همراه با آن بر سطوح سرمی نشانگرهای فوق، مطالعه مشابهی به‌ویژه بر بیماران آنفارکتوس قلبی مشاهده نگردید. نیک‌صفت و

همکاران در تحقیق خود نشان دادند یک جلسه تحریک الکتریکی عضلانی منجر به افزایش معنی‌دار VEGF مردان غیرفعال می‌شود [۳۴]. در تحقیقات اندک انجام شده برخی از محققین نتیجه گرفتند تحریک الکتریکی می‌تواند تغییرات معنی‌داری در بهبود وضعیت بیماران با نارسایی قلبی متوسط و شدید ایجاد می‌کند [۳۵]. نتایج دیگر پژوهش دوساک<sup>۴</sup> و همکاران نشان داد تحریک الکتریکی عصبی عضلانی می‌تواند اثرات ضدالتهابی به‌همراه داشته باشد [۳۶]. در پژوهشی دیگر کاهش برخی از این سایتوکاین‌ها مانند TNF- $\alpha$  و برخی از ملکول‌های چسبان عروقی و سلولی به واسطه تحریک الکتریکی عصبی عضلانی مشاهده شد که با بهبود وضعیت بیماران قلبی همراه بوده است [۳۷]. نتایج مطالعات دیگری از ملکی‌پویا و همکاران، کاهش برخی از متغیرهای التهابی موش‌های صحرایی القاء شده به آنفارکتوس میوکارد را با تحریک الکتریکی و تلفیقی از تحریک فعالیت‌بدنی را نشان دادند [۱۵، ۱۶]. کلیه تحقیقات بیان شده کاهش متغیرهای التهابی و افزایش آنتی‌آزتیوژن را نشان می‌دهد که همسو با نتایج تحقیق فوق است. به‌نظر می‌رسد مکانیسم تحریک رگ‌زایی در بافت‌ها و سلول‌های اندوتلیال از طریق افزایش آزادسازی VEGF و فعال‌سازی گیرنده‌های VEGF، Akt (PI3K)<sup>۵</sup> و عناصر Rho-ROCK<sup>۶</sup> مسیر سیگنالینگ گیرنده‌های VEGF است [۳۸]. همچنین تحریک الکتریکی می‌تواند مسیرهای ضدالتهابی کولینرژیک را با آزاد کردن واسطه‌های التهابی مهار کند، در نتیجه شروع و پیشرفت بیماری‌های مختلف مرتبط با التهاب را کندتر می‌کند و این روند در ایجاد رگ جدید می‌تواند مؤثر باشد. همچنین مسیر فوق می‌تواند آزادسازی سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1b، TNF-a، IL-6 و IL-17 را مهار کند [۳۹]. به‌دلیل جدید بودن موضوع و تحقیقات مربوط به بازتوانی ورزشی

4. Dobšák

5. Phosphatidylinositol-3-kinase

6. Rho-Associated Coiled-Coil Kinase

1. Hoier

2. Stenina

3. Kivelä



توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک به تصویب رسیده است. از همه افرادی که در این تحقیق مشارکت داشتند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

### تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی در پژوهش وجود ندارد.

### منابع مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

به‌همراه تحریک الکتریکی بررسی اثرات متقابل آن با تحریک‌ها و شدت‌های متفاوت و به‌ویژه در غالب بیان ژن نیاز به تحقیقات بیشتری خواهد داشت.

با این‌که فعالیت هوازی فزاینده و تحریک الکتریکی منجر به افزایش فرآیند آنژیوژنز و کاهش عوامل آنژیواستاتیک موش‌های صحرایی آنفارکنه شد اما به‌دلیل معنی‌دار نبودن نیاز به مطالعات بیشتری جهت رشد و توسعه عروق مویرگی جدید در نمونه‌های مبتلا به آنفارکتوس قلبی است.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد IR.IAU.ARAK.REC.1398.011

### References

- Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, et al. Heart disease and stroke statistics-2021 update: A report from the american heart association. *Circulation*. 2021;143(8):e254-e743. doi:10.1161/cir.0000000000000950
- Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a mediterranean diet. *The New England journal of Medicine*. 2013;368(14):1279-1290. doi:10.1056/NEJMoa1200303
- Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*. 1995;92(3):657-671. doi:10.1161/01.cir.92.3.657
- Prapulla DV, Sujatha PB, Pradeep AR. Gingival crevicular fluid VEGF levels in periodontal health and disease. *Journal of Periodontology*. 2007;78(9):1783-1787. doi:10.1902/jop.2007.070009
- Li L, Zeng H, Chen JX. Apelin-13 increases myocardial progenitor cells and improves repair postmyocardial infarction. *American journal of physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 2012;303(5):H605-618. doi:10.1152/ajpheart.00366.2012
- Almeida I, Oliveira Gomes A, Lima M, Silva I, Vasconcelos C. Different contributions of angiostatin and endostatin in angiogenesis impairment in systemic sclerosis: a cohort study. *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2016;34 Suppl 100(5):37-42.
- Van De Heyning CM, De Maeyer C, Pattyn N, Beckers PJ, Cornelissen VA, Goetschalckx K, et al. Impact of aerobic interval training and continuous training on left ventricular geometry and function: A SAINTEX-CAD substudy. *International Journal of Cardiology*. 2018;257:193-198. doi:10.1016/j.ijcard.2017.11.053
- Malekipoooy M, Abedi B, Palizvan MR, Saremi A. Effect of an incremental aerobic training program on improving angiogenesis and balance in vascular endothelial growth factor and endostatinic in male rats with myocardial infarction. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2019;23(4):407-414. [Persian]
- Ranjbar K, Nazem F, Nazari A, Gholami M, Nezami AR, Ardakanizade M, et al. Synergistic effects of nitric oxide and exercise on revascularisation in the infarcted ventricle in a murine model of myocardial infarction. *EXCLI Journal*. 2015;14:1104-1115. doi:10.17179/excli2015-510
- Olffert IM, Breen EC, Gavin TP, Wagner PD. Temporal thrombospondin-1 mRNA response in skeletal muscle exposed to acute and chronic exercise. *Growth Factors*. 2006;24(4):253-259. doi:10.1080/08977190601000111
- Hoier B, Nordsborg N, Andersen S, Jensen L, Nybo L, Bangsbo J, et al. Pro- and anti-angiogenic factors in human skeletal muscle in response to acute exercise and training. *The Journal of Physiology*. 2012;590(3):595-606. doi:10.1113/jphysiol.2011.216135
- Schadler KL, Thomas NJ, Galie PA, Bhang DH, Roby KC, Addai P, et al. Tumor vessel normalization after aerobic exercise enhances chemotherapeutic efficacy. *Oncotarget*. 2016;7(40):65429-65440. doi:10.18632/oncotarget.11748
- Patterson C, Runge MS. Therapeutic angiogenesis: the new electrophysiology? *Circulation*. 1999;99(20):2614-2616. doi:10.1161/01.cir.99.20.2614
- Dobsák P, Nováková M, Siegelová J, Fiser B, Vítovec J, Nagasaka M, et al. Low-frequency electrical stimulation increases muscle strength and improves blood supply in patients with chronic heart failure. *Circulation Journal*. 2006;70(1):75-82. doi:10.1253/circj.70.75
- Malekipoooy M, Khansooz M, Palizvan M, Saremi A, Abedi B. Changes in serum Troponin-I and corticosterone levels after a period of endurance training and electrical stimulation in infarcted rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022;28(12):271-280. [Persian]
- Malekipoooy M, Khansooz M, Morady M, Sayyah M. Acute response of exercise rehabilitation with electrical stimulation on serum levels antigen, carbohydrate 125 (CA-125) and cystatin (Cys-C) in myocardial infarction rats. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2022;26(2):147-155. [Persian] doi:10.48307/fmsj.2022.26.2.147

17. Malekipooy M, Abedi B, Palizvan MR, Saremi A. The effect of eight weeks of incremental endurance training on the levels of matrix metalloproteinase-1 (MMP1) and thrombospondin-1 (TSP1) in the rats, induced by myocardial infarction by isoproterenol. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2019;22(3):118-128. [Persian]
18. Malekipooya M, Khansooz M, Palizvan M, Saremi A, Abedi B. Changes in serum Troponin-I and corticosterone Levels after a period of endurance training and electrical stimulation in infarcted rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022;28(12):271-280. [Persian]
19. Uysal N, Sisman AR, Dayi A, Ozbal S, Cetin F, Baykara B, et al. Acute footshock-stress increases spatial learning-memory and correlates to increased hippocampal BDNF and VEGF and cell numbers in adolescent male and female rats. *Neuroscience Letters*. 2012;514(2):141-146. doi:10.1016/j.neulet.2012.02.049
20. Schefer V, Talan MI. Oxygen consumption in adult and AGED C57BL/6J mice during acute treadmill exercise of different intensity. *Experimental Gerontology*. 1996;31(3):387-392. doi:10.1016/0531-5565(95)02032-2
21. Malekipooy M, Khansooz M, Morady M, Sayyah M. Acute response of exercise rehabilitation with electrical stimulation on serum levels antigen, carbohydrate 125 (CA-125) and cystatin (Cys-C) in myocardial infarction rats. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2022;26(2):147-155. doi:10.48307/fmsj.2022.26.2.147
22. Leosco D, Rengo G, Iaccarino G, Golino L, Marchese M, Fortunato F, et al. Exercise promotes angiogenesis and improves beta-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. *Cardiovascular Research Center Bulletin*. 2008;78(2):385-394. doi:10.1093/cvr/cvm109
23. Rivilis I, Milkiewicz M, Boyd P, Goldstein J, Brown MD, Egginton S, et al. Differential involvement of MMP-2 and VEGF during muscle stretch- versus shear stress-induced angiogenesis. *American journal of physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 2002;283(4):H1430-1438. doi:10.1152/ajpheart.00082.2002
24. Hirota K, Semenza GL. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2006;59(1):15-26. doi:10.1016/j.critrevonc.2005.12.003
25. Mehrialvar Y, Ramazani A, Gaeini A, Golab F, Gheiratmand R. The effect of exercise intervention on angiogenesis gene expression (inducing and inhibiting factors) following myocardial ischemia-reperfusion. *EBNESINA*. 2017;19(3):13-23. [Persian]
26. Jones WS, Duscha BD, Robbins JL, Duggan NN, Regensteiner JG, Kraus WE, et al. Alteration in angiogenic and anti-angiogenic forms of vascular endothelial growth factor-A in skeletal muscle of patients with intermittent claudication following exercise training. *Vascular medicine*. 2012;17(2):94-100. doi:10.1177/1358863x11436334
27. Erekat NS, Al-Jarrah MD, Al Khatib AJ. Treadmill exercise training improves vascular endothelial growth factor expression in the cardiac muscle of type i diabetic rats. *Cardiology Research*. 2014;5(1):23-29. doi:10.14740/cr314w
28. Duggan C, Xiao L, Wang CY, McTiernan A. Effect of a 12-month exercise intervention on serum biomarkers of angiogenesis in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2014;23(4):648-657. doi:10.1158/1055-9965.epi-13-1155
29. Heiat F, Ahmadi A, Shojaefard M. The exercise preconditioning effect on cardiac tissue injury following induction of myocardial infarction in male rats. *BioMed Research International*. 2023;2023:3631458. doi:10.1155/2023/3631458
30. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *The Journal of Pathology*. 2008;214(2):199-210. doi:10.1002/path.2277
31. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years. *British Journal of Sports Medicine*. 2008;42(2):126-129; discussion 129. doi:10.1136/bjism.2007.035188
32. Stenina OI, Krukovets I, Wang K, Zhou Z, Forudi F, Penn MS, et al. Increased expression of thrombospondin-1 in vessel wall of diabetic Zucker rat. *Circulation*. 2003;107(25):3209-3215. doi:10.1161/01.cir.0000074223.56882.97
33. Kivelä R, Silvennoinen M, Lehti M, Jalava S, Vihko V, Kainulainen H. Exercise-induced expression of angiogenic growth factors in skeletal muscle and in capillaries of healthy and diabetic mice. *Cardiovascular Diabetology*. 2008;7:13. doi:10.1186/1475-2840-7-13
34. Niksefat M, Shadmehri S. The effect of an electrical muscle stimulation (EMS) session on changes in endostatin and vascular endothelial growth factor in inactive men. *Journal of Exercise & Organ Cross Talk*. 2023;3(1):15-21. doi:10.22034/jeoct.2023.389864.1071
35. Dobsák P, Nováková M, Fiser B, Siegelová J, Balcárková P, Spinarová L, et al. Electrical stimulation of skeletal muscles. An alternative to aerobic exercise training in patients with chronic heart failure? *International Heart Journal*. 2006;47(3):441-453. doi:10.1536/ihj.47.441
36. Dobšák P, Tomandl J, Spinarova L, Vitovec J, Dusek L, Novakova M, et al. Effects of neuromuscular electrical stimulation and aerobic exercise training on arterial stiffness and autonomic functions in patients with chronic heart failure. *Artificial Organs*. 2012;36(10):920-930. doi:10.1111/j.1525-1594.2012.01474.x
37. Karavidas AI, Raisakis KG, Parissis JT, Tsekoura DK, Adamopoulos S, Korres DA, et al. Functional electrical stimulation improves endothelial function and reduces peripheral immune responses in patients with chronic heart failure. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*. 2006;13(4):592-597. doi:10.1097/01.hjr.0000219111.02544.ff
38. Zhao M, Bai H, Wang E, Forrester JV, McCaig CD. Electrical stimulation directly induces pre-angiogenic responses in vascular endothelial cells by signaling through VEGF receptors. *Journal of Cell Science*. 2004;117(Pt 3):397-405. doi:10.1242/jcs.00868
39. Ramos-Martínez IE, Rodríguez MC, Cerbón M, Ramos-Martínez JC, Ramos-Martínez EG. Role of the Cholinergic Anti-Inflammatory Reflex in Central Nervous System Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(24). doi:10.3390/ijms222413427