تأثیر یک جلسه فعالیت برونگرا بر میزان عامل رشدی اندوتلیال عروق و اندوستاتین سرم در موش های نر ویستار

مریم نورشاهی[۱]، رعنا فیاض میلانی[۲]، میثم غلامعلی[۳]

۱- دانشیار دانشگاه شهید بهشتی تهران

۲- استادیار دانشگاه شهید بهشتی تهران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه شهید بهشتی

نشانی نویسنده مسئول: تهران- ولنجک - دانشکده تربیت بدنی دانشگاه شهید بهشتی- مریم نورشاهی
E-mail: M-Nourshahi@sbu.ac.ir

وصول: ۹۰/۹/۱۰ **اصلاح:** ۹۰/۱۱/۱۱ **پذیرش:** ۹۱/۱/۲۲

چکیده

مقدمه: آنژیوژنز به معنی ساخت مویرگ جدید از مویرگ‌های قبلی می باشد. این فرایند موجب تسهیل انتقال اکسیژن به عضلات فعال می گردد. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی حاد فرایند آنژیوژنز را تحت تاثیر قرار می دهد. اما هنوز تاثیر فعالیت برونگرا بر مهم‌ترین فاکتورهای درگیر در فرایند آنژیوژنز روشن نیست.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت برونگرا بر میزان عامل رشدی اندوتلیال عروق (VEGF) و اندوستاتین سرم درموش های نر ویستار بود.

روش شناسی: بدین منظور از ۳۶ سر موش نر ویستار با دامنه سنی ۷ ± ۴۹ روزه و وزن ۱۰±۲۹۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه کنترل (n=۱۲) و فعالیت برونگرا (n=۲۴) تقسیم شدند. فعالیت برونگرا شامل ۴۵ دقیقه دویدن بر روی نوارگردان با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و شیب ۱۶- درجه بود. بلافاصله و۲۴ ساعت بعد از فعالیت، ml ۲ خون از سرخرگ آئورت پایین رونده موش ها گرفته شد. تغییرات VEGF و اندوستاتین سرم توسط کیت الایزا اندازه گیری شد.

یافته‌ها: میزان VEGF سرم در گروه کنترل pg/ml ۱/۴۴±۱۶/۵ بود. این میزان بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد از فعالیت به ترتیب ۲۸٪ و ۱۲٪ کاهش یافت($p\leq$ ۰/۰۵). همچنین میزان اندوستاتین سرم نیز در گروه کنترل ng/ml ۲۳/۱۹±۱۸۷/۳۳بود، که بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد از فعالیت به ترتیب ۲۶٪ و ۳۴٪ کاهش یافت ($p\leq$۰/۰۵). از طرفی دیگر نسبت VEGF به اندوستاتین بلافاصله بعد از فعالیت کاهش (p=۰/۰۲) و ۲۴ ساعت بعد از فعالیت به طور معناداری افزایش پیدا کرد (p= ۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که بلافاصله بعد از فعالیت حاد برونگرا مهم‌ترین فاکتورهای درگیر در فرایند آنژیوژنز کاهش می یابند. این یافته‌ها ممکن است بینش نوینی را در راستای درک بهتر تغییرات چگالی مویرگی در پاسخ به تمرینات برونگرا به وجود آورد.

واژه‌های کلیدی: *فعالیت برونگرا، VEGF، اندوستاتین، موش نر ویستار*

مقدمه

آنژیوژنز به معنی ساخت مویرگی جدید از مویرگ های قبلی می باشد. این فرایند در التیام زخم، رشد جنین، التهاب و بسیاری از شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی نقش مهمی را ایفا می‌کند (۱). فرایند آنژیوژنز به وسیله برخی فاکتورها که عمدتاً از سلول‌های اندوتلیال ترشح می شوند، کنترل می‌گردد (۲). مطالعات نشان داده اند که این فرایند توسط تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیکی وآنژیواستاتیکی کنترل می شود (۳). فاکتورهای نژیوژنیکی به عنوان محرک و فاکتورهای آنژیواستاتیکی به عنوان بازدارنده دارای نقش کلیدی در فرایند آنژیوژنز می‌باشند (٤). عامل رشدی اندوتلیال عروق (VEGF)، به عنوان مهم‌ترین میتوژن ساخت مویرگی در بدن، یک پپتید میتوژنیک ویژه سلول‌های اندوتلیال می‌باشد که از طریق تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال در فرایندهای واسکولوژنز و آنژیوژنز نقش مهمی را ایفا می کند (۵). از طرفی دیگر اندوستاتین قطعه جداشده از کلاژن XVIII با وزن مولکولی ۲۰ کیلودالتون می‌باشد (٦) که از طریق ممانعت از مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال موجب بازدارنگی فرایند آنژیوژنز می شود (۸، ۷).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که فعالیت های ورزشی موجب تحریک فرایند آنژیوژنز می‌گردند (۹) .فعالیت های حاد مقاومتی و استقامتی از طریق افزایش بیان فاکتورهای آنژیوژنیکی مانند: VEGF و کاهش بیان فاکتورهای آنژیواستاتیکی مانند: اندوستاتین، موجب تحریک فرایند آنژیوژنز می‌شوند(۱۰، ۱). در همین راستا مطالعات نشان داده‌اند که آنژیوژنز ناشی از فعالیت ورزشی به مدت و شدت فعالیت وابسته است (۱۲، ۱۱)، اما هنوز نقش نوع انقباض به کار گرفته شده در فعالیت ورزشی (بویژه انقباض برونگرا) در توسعه این فرایند معلوم نیست. مطالعات نشان می دهد که فعالیت برونگرا در مقایسه با فعالیت درونگرا از هزینه متابولیکی و اکسیژن مصرفی کمتری برخوردار است (۱۳). در همین زمینه نشان داده شده است که هایپوکسی و ایسکمی مهمترین محرک های فرایند آنژیوژنز می باشند. بنابراین اینگونه تصور می شود که فعالیت برونگرا در مقایسه با فعالیت درونگرا از طریق کاهش فرایند هایپوکسی فرایند آنژیوژنز را تحت تاثیر قرار دهد (۱۳). در زمینه تاثیر فعالیت برونگرا بر مهم‌ترین فاکتورهای درگیر در فرایند آنژیوژنز (عامل رشدی اندوتلیال عروق و اندوستاتین) تحقیقات بسیار اندکی صورت گرفته است. ازطرفی دیگر، تحقیقات بیان کرده‌اند که پاسخ‌های التهابی در پاسخ به فعالیت برونگرا از طریق تغییر در بیان پیش پروتئین‌ها و پروتئازهای مشتق از ماتریکس خارج سلولی مانند: متالوپروتینازهای ماتریکس موجب اتساع مویرگ، فعال شدن سلول‌های اندوتلیال و تخریب غشای پایه مویرگ می شوند (١٤،١٥). ادامه یافتن این شرایط موجب تغییرات عمده در بیان فاکتورهای تنظیم کننده فرایند آنژیوژنز از جمله VEGF و اندوستاتین گشته و در نهایت موجب تغییر در فرایند آنژیوژنز و چگالی مویرگی می‌شود (۱۵، ١٤).

بنابراین به نظر می رسد که، انقباض برونگرا به عنوان یکی از مهم‌ترین تحریکات مکانیکی، از طریق تولید پاسخ های التهابی موجب تغییر در بیان فاکتورهای آنژیوژنیکی و آنژیواستاتیکی وابسته به ماتریکس خارج سلولی می‌گردد (١٦، ١٤). در همین راستا کورناچیون وهمکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تمرینات برونگرا موجب کاهش معناداری در میزان چگالی مویرگی عضله نعلی موش های ویستار نسبت به گروه کنترل می گردد (۱۷). از طرفی دیگر ناکامورا و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه دویدن در سراشیبی که به مدت دو هفته انجام شد، mRNAVEGF به طورمعنی داری افزایش یافت (۱۳). حال با توجه به محدود تحقیقات صورت گرفته در زمینه تاثیر فعالیت برونگرا بر مهم‌ترین فاکتور آنژیوژنیکی یعنی عامل رشدی اندوتلیال عروق و یکی از مهمترین فاکتورهای

آنژیواستاتیکی یعنی اندوستاتین و نامشخص بودن تاثیر فعالیت برونگرا بر این فاکتورها، هدف از این پژوهش بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت برونگرا بر میزان VEGF و اندوستاتین سرم در موش های صحرایی نر بود.

روش شناسی

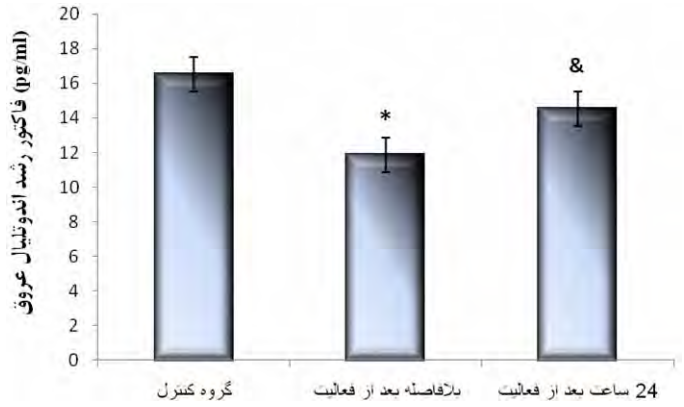
در این تحقیق از ۳٦ سر موش صحرایی نر ویستار با دامنه سنی ۷ ± ٤۹ روزه و وزن ۱۰±۲۹۰ گرم استفاده شد. اتاق نگهداری آزمودنی‌ها در دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد و رطوبت محیطی ۵۰-٤۵ درصد تنظیم شد. دوره ۱۲ ساعته تاریکی-روشنایی نیز رعایت می شد. غذای آزمودنی‌ها عبارت بود از آب و غذای معمول موش که به صورت آزاد تا پایان پروتکل دراختیار آزمودنی‌ها قرار گرفت. آزمودنی‌ها به منظور سازگاری با نوارگردان جوندگان، به مدت یک هفته و روزی یک بار، باسرعت ۱۰ متر بر دقیقه، به مدت ۱۰-۵ دقیقه برروی نوارگردان بدون شیب دویدند. این پروتکل هیچ نوع سازگاری را موجب نمی گردد (۱۲). تمامی آزمایش ها مطابق دستورالعمل مربوط به آیین نامه حمایت ازحیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

به منظور بررسی تاثیر فعالیت برونگرا بر میزان VEGF و اندوستاتین، آزمودنی‌ها به طور تصادفی به دو گروه کنترل (n=۱۲) و گروه تجربی (n=۱۲) تقسیم شدند. گروه تجربی نیز به دو گروه بلافاصله (n=۱۲) و ٢٤ ساعت (n=۱۲) تقسیم شدند. گروه تجربی فعالیت دویدن سراشیبی بر روی نوارگردان با شیب ۱٦- درجه، با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه وبه مدت ٤۵ دقیقه را انجام دادند. گروه کنترل در طول تمام مدت پروتکل تجربی در قفس نگه داشته شدند و هیچ گونه فعالیتی را انجام ندادند. بلافاصله و ٢٤ ساعت پس از فعالیت، موشهای صحرایی با استفاده از تزریق درون عضلانی کتامین (۲۵ mg/kg) – کزیلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش و ۲ ml خون از سرخرگ آئورت پایین رونده گرفته شد. جهت جداسازی سرم، نمونه های خونی سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه)، و برای سنجش میزان VEGF واندوستاتین، در دمای $-۸۰^{0}C$ نگهداری شد. میزان VEGF و اندوستاتین با روش الایزا اندازه گیری شد. برای آنالیز نمونه‌های مربوط به VEGF از کیت الایزا (Rat VEGF, ELISA, R & D, Minneapolis, USA) با حساسیت ۸/٤ پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی ٦/۹ و برای نمونه‌های اندوستاتین از کیت الایزا (Rat endostatin ELISA, Cusabio Biothech, Wuhan, China) با حساسیت ۱/۵٦ پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی۷/۳ استفاده گردید. به منظور تجزیه وتحلیل آماری نرم افزار SPSS نسخه ۱٦ مورداستفاده قرار گرفت. ابتدا نرمال بودن داده ها با آزمون اسمیرنوف-گلوموگروف مشخص شد، سپس برای نشان دادن اختلاف معناداری از روش آماری تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده شد. همچنین برای تعیین محل اختلاف از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معناداری $P\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

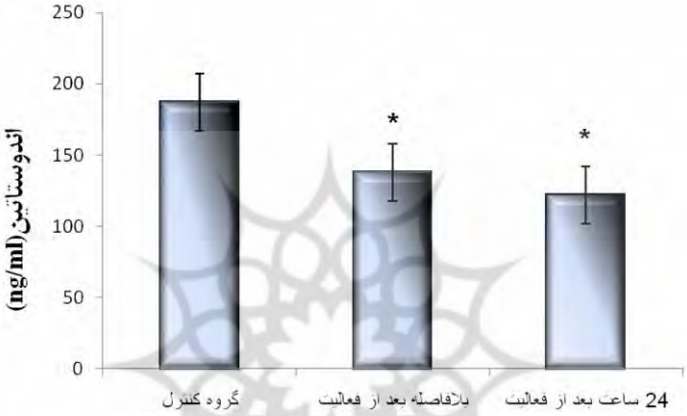
نتایج و یافته ها

نتایج نشان داد که فعالیت برونگرا میزان VEGF سرم را به طور معناداری تغییر داد($P=۰/۰۰۰۱$, $F=۳۰/۲۸$). میزان VEGF بلافاصله بعد از فعالیت برونگرا کاهش معناداری یافت ($P=۰/۰۰۱$). همچنین میزان VEGF، ٢٤ ساعت بعد از فعالیت نسبت به گروه کنترل کاهش پیداکرد، اما این میزان کاهش معنادار نبود. همچنین میزان VEGF، ٢٤ ساعت بعد از فعالیت نسبت به بلافاصله بعد از فعالیت افزایش معناداری یافت ($P=۰/۰۰۷$) (شکل -۱).

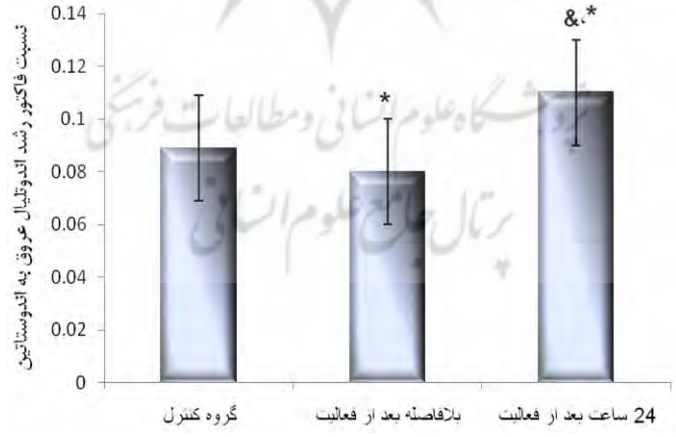
همچنین میزان اندوستاتین نیز تحت تاثیر فعالیت برونگرا قرار گرفت($P=۰/۰۰۰۱$, $F=۲۰/۸٤$). نتایج نشان داد که میزان اندوستاتین بلافاصله و٢٤ ساعت بعد از فعالیت نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافت



شکل ۱: تغییرات فاکتور رشد اندوتلیال عروق در پاسخ به فعالیت برونگرا، * نشانه اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل، & نشانه اختلاف معنادار نسبت به بلافاصله بعد از فعالیت برونگرا، داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده-اند. P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



شکل ۲: تغییرات اندوستاتین در پاسخ به فعالیت برونگرا، * نشانه اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل، داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



شکل ۳: تغییرات نسبت فاکتور رشد اندوتلیال عروق به اندوستاتین در پاسخ به فعالیت برونگرا،* نشانه اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل، & نشانه اختلاف معنادار نسبت به بلافاصله بعد از ورزش، داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان

(P≤۰/۰۵). میزان اندوستاتین ۲٤ ساعت بعد از فعالیت نسبت به بلافاصله بعد از فعالیت دچارکاهش شد، اما این کاهش معنادار نبود (شکل-۲).

از طرفی دیگر فعالیت برونگرا نسبت VEGF به اندوستاتین را به طور معناداری تغییر داد(P=۰/۰۰۱ , F=۱۲/۳۵). نتایج نشان داد که نسبت VEGF به

اندوستاتین بلافاصله بعد از فعالیت به طور معناداری کاهش (P=۰/۰۲)، و ۲٤ ساعت بعد از فعالیت این نسبت به طور معناداری افزایش می یابد(P=۰/۰۰۱)(شکل-۳).

بحث و نتیجه گیری

هدف از انجام این تحقیق بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت برونگرا بر میزان VEGF و اندوستاتین سرم در بازه‌های زمانی بلافاصله و ۲٤ ساعت بعد از فعالیت در موش های صحرایی نر بود. نتایج این تحقیق نشان داد که بلافاصله بعدا از فعالیت برونگرا میزان VEGF سرم دچار کاهش معناداری شد. این یافته با نتایج کسب شده توسط جیان وی و همکاران (۲۰۰٤) که کاهش معناداری را در میزان VEGF سرم در پاسخ به فعالیت حاد استقامتی گزارش کرده بودند موافق می باشد (۱). اما با نتایج کسب شده توسط گاوین و همکاران (۲۰۰۷) و رولمن و همکاران (۲۰۰۷) در تناقض می باشد(۱۸،۱۹). احتمالاً علل این عدم همسویی ناشی از محل خونگیری، شدت فعالیت، نوع تارهای فراخوانده شده و تفاوت در نوع پروتکل مورد استفاده باشد. میزان VEGF سرم وابسته به میزان تولید و ترشح VEGF از بافت های مختلف (بویژه عضله اسکلتی فعال) می باشد. مطالعات نشان می دهند که در پاسخ به فعالیت پروتئین VEGF از عضله اسکلتی وارد گردش خون می شود. بنابراین میزان VEGF خون سرخرگی با میزان خون سیاهرگی در پاسخ به فعالیت متفاوت می باشد(۱۹). از طرفی دیگر فعالیت با شدت بالا از طریق درگیر کردن فرایند هایپوکسی و فشار برشی بر میزان نسخه برداری و ترجمه mRNA VEGF تاثیر می-گذارد و این تغییرات در نهایت موجب افزایش میزان VEGF در گردش خون می شود (٤). همچنین با توجه به اینکه میزان بیان ژن VEGF در پاسخ به هایپوکسی در تارهای کند انقباض بیشتر از تارهای تند انقباض می باشد، این امکان نیز وجود دارد که فراخوانی نوع تارها نیز در میزان VEGF سرم در پاسخ به فعالیت سهیم باشد (۲۰).

تغییر در میزان سطح فاکتورهای آنژیوژنیکی مانند VEGF و عامل رشدی فیبروبلاست (bFGF)، در بافت و گردش خون انسان (۱) و حیوانات (۲۲، ۲۱) به دنبال فعالیت ورزشی نشان داده شده است. چندین مکانیسم احتمالی برای تغییر در میزان VEGF سرم در پاسخ به فعالیت ورزشی وجود دارد (۱۹). لازم به ذکر است که میزان پروتئین های در گردش خون به وسیله تعادل بین میزان تولید و میزان اتصال به گیرنده ها و سایر پروتئین ها کنترل می شود. اما مکانیسمی که مسئول کاهش معنادار و موقتی VEGF در پاسخ به فعالیت ورزشی باشد، هنوز شناخته نشده است. اما از مهم‌ترین مکانیسم-های احتمالی که موجب چنین کاهش موقتی در VEGF سرم می‌شوند می توان به این موارد اشاره کرد، ۱: افزایش اتصال VEGF به گیرنده‌های آن در اندوتلیوم، که این امر در نهایت موجب تحریک فرایند آنژیوژنز در بافت های موضعی مانند: قلب و عضله اسکلتی می گردد، ۲: اتصال VEGF به سایر پروتئین ها مانند: هپارین سولفات و EPC، که افزایش این پروتئین‌ها از نشت پذیری بیش از حد عروق خونی در مقابل افزایش VEGF ، محافظت می کند(۱).

اما مکانیسمی که از طریق آن فعالیت برونگرا موجب کاهش میزان VEGF می‌گردد، هنوز مشخص نیست. اما آنچه که مسلم است فعالیت برونگرا موجب افزایش سایتوکاین های التهابی از جمله IL-8 می‌گردد (۲۱). IL-8 از طریق کاهش بیان VEGF از سلول‌های اندوتلیال، موجب سرکوب فرایند آنژیوژنز می گردد (۲۳). لذا به نظر می‌رسد افزایش IL-8 ناشی از فعالیت برونگرا موجب کاهش موقتی میزان VEGF سرم می‌گردد. همچنین فاکتور افزایش یافته ناشی از هایپوکسی-۱ (HIF-1) به عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تنظیم کننده فرایند نسخه‌برداری و بیان ژن VEGF شناخته می-شود (۱۸). مطالعات نشان داه‌اند که HIF-1 حتی در

شرایط عدم وجود هایپوکسی توسط فاکتورهایی مانند: نیتریک اکسید در سلول‌های هپاتوم و گلیوبلاستوم وانسولین در سلول های Hep-G2 فعال می گردد (۲۵، ۲٤). ویلیام و همکاران (۲۰۰٦) نشان دادند که در مدل‌های حیوانی هر نوع کشش مکانیکی (مانند کششی که هنگام فعالیت برونگرا ایجاد می گردد) می تواند موجب کاهش میزان HIF-1 گردد (۲٦). لذا ممکن است یکی دیگر از دلایل احتمالی کاهش موقتی میزان VEGF متعاقب فعالیت برونگرا کاهش میزان HIF-1 باشد.

از دیگر نتایج این تحقیق افزایش میزان VEGF سرم در ۲٤ ساعت بعد از فعالیت برونگرا نسبت به بلافاصله بعد از فعالیت بود. احتمالاً این افزایش ناشی از افزایش فعالیت MMPs (بویژه MMP-9 و MMP-2) باشد، که این امر می تواند سبب تخریب بیشتر غشای پایه مویرگ توسط این پروتئازها، و در نهایت موجب تنظیم افزایشی بیان ژن VEGF از سلول‌های اندوتلیال گردد (٤).

همچنین از دیگر یافته های این تحقیق، کاهش معنادار میزان اندوستاتین سرم بلافاصله و یک روز بعد از فعالیت برونگرا بود. این در حالی است که اکثر مطالعات قبلی افزایش یا عدم تغییر در میزان اندوستاتین متعاقب فعالیت ورزشی حاد را گزارش کرده‌اند(۱۹،٤ ،۱). میزان اندوستاتین سرم در حالت استراحت نشان دهنده میزان دگرگونی‌های کلاژن می باشد. وجود اندوستاتین در گردش خون افراد سالم نشان دهنده این می تواند باشد که تحت شرایط نرمال فاکتورهای آنژیواستاتیکی نقش مهمی را در تنظیم فرایند آنژیوژنز ایفا می کند. این یافته با نتایج گزارش شده توسط سوهر و همکاران (۲۰۱۰) و بریکسیوس و همکاران (۲۰۰۷) که کاهش معناداری در میزان اندوستاتین سرم متعاقب فعالیت استقامتی گزارش کرده بودند، همسواست (۲۸، ۲۷). اما با نتایج کسب شده توسط سیدا و همکاران (۲۰۰۳) مخالف است (۲٦)، که احتمالاً دلیل این تناقض ناشی از سطح پایه بسیار پایین اندوستاتین سرم در آزمودنی های مطالعه سیدا و همکاران باشد. در مطالعه سیدا و همکاران که از آزمودنی های انسان استفاده کرده بودند، سطح پایه اندوستاتین ng/ml ۲/۲۷± ۵/۲۳ بود، در حالیکه میزان پایه اندوستاتین سرم در این مطالعه که از موش های صحرایی به عنوان آزمودنی استفاده شد، ng/ml ۲۳/۱۹± ۱۸۷/۳۳ بود.البته در این زمینه به مطالعات بیشتری نیاز است. مکانیسم کاهش اندوستاتین متعاقب فعالیت برونگرا کاملاً ناشناخته می باشد. تشکیل اندوستاتین بستگی به عمل پروتئازها بر روی کلاژن XVIII دارد (۹). از طرفی دیگر مطالعات نشان داده اند که فعالیت برونگرا موجب افزایش میزان سایتوکاین پیش التهابی فاکتور نکروزی بافتی-الفا از سلول‌های ماکروفاژ فعال شده می‌شود (۳۰، ۲۹). TNF-α به عنوان یکی از مهم‌ترین سایتوکاین شناخته شده، دارای تاثیرات مهمی روی عملکرد سلول‌های اندوتلیال می‌باشد (۳۱). برامر و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که TNF-α ممکن است از طریق تعدیل عمل پروتئازها موجب سرکوب تشکیل اندوستاتین در سلول های اندوتلیال گردد (۳۱). در نتیجه مکانیسم ذکر شده، احتمالاً دلیل کاهش معنادار میزان اندوستاتین سرم بلافاصله و۲٤ ساعت بعد از فعالیت برونگرا باشد.

همچنین تئوری که بیان می کند که فرایند آنژیوژنز فعال و غیر فعال می شود، پیشنهاد می دهد که ساخت مویرگ جدید زمانی اتفاق می افتد که فاکتورهای آنژیوژنیکی از جمله: VEGF بر فاکتورهای آنژیواستاتیکی مانند: اندوستاتین غلبه کنند و بالعکس تخریب مویرگ-های بافت زمانی روی می دهد که میزان فاکتورهای آنژیواستاتیکی بیشتر از فاکتورهای آنژیوژنیکی باشد(۱). در همین راستا نتایج نشان داد که نسبت VEGF به اندوستاتین بلافاصله بعد از فعالیت به طور معناداری کاهش یافت. علت این کاهش ناشی از کاهش ۲۸٪ VEGF بلافاصله بعد از فعالیت می باشد. اما ۲٤ ساعت بعد از فعالیت نسبت VEGF به اندوستاتین به طور معناداری افزایش یافت، که علت این افزایش نیز ناشی از

کاهش ۳٤٪ اندوستاتین در ۲٤ ساعت بعد از فعالیت می باشد.

با توجه به اینکه فرایند آنژیوژنز توسط تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک کنترل می شود از یافته های این تحقیق می توان دریافت که بلافاصله بعد از فعالیت برونگرا (دویدن روی تردمیل با شیب منفی) با کاهش نسبت فاکتور رشد اندوتلیال عروق به اندوستاتین سرم، تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیکی و آنژیواستاتیکی به سمت فاکتورهای آنژیواستاتیکی تغییر می یابد. اما در ۲٤ ساعت بعد از فعالیت برونگرا با کاهش اندوستاتین سرم این تعادل به سمت فاکتورهای آنژیوژنیکی تغییر می یابد. لازم به ذکر است که به منظور بررسی دقیق‌تر تغییرات فاکتورهای آنژیوژنیکی و آنژیواستاتیکی به فعالیت برونگرا بهتر است سایر فاکتورهای آنژیوژنیکی مانند: آنژیوپویتین، FGF، TGF و MMPs و سایر فاکتورهای آنژیواستاتیکی مانند: آنژیوستاتین نیز مورد ارزیابی قرار گیرند.

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که بلافاصله بعد فعالیت برونگرا، عامل رشدی اندوتلیال عروق به عنوان مهم‌ترین تنظیم کننده مثبت فرایند آنژیوژنز کاهش و اندواستاتین به عنوان یکی از مهم‌ترین تنظیم کننده های منفی فرایند آنژیوژنز افزایش یافت. درحالی که ۲٤ ساعت بعد از فعالیت برونگرا، فاکتور رشد اندوتلیال عروق افزایش و اندواستاتین کاهش یافت. این یافته‌ها ممکن است بینش نوینی را در راستای درک هر چه بهتر تغییرات چگالی مویرگی در پاسخ به تمرینات برونگرا به وجود آورند.

منابع

1. Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. BMC Physiol 2004; 16:12-19.
2. Pamela FJ, Brian DS. Angiogenesis-understanding the mathematical challenge. Angiogenesis 2006; 9:127–138.
3. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. Science 1987; 235: 442-447.
4. Suhr F, Brixius K, de Marees M, Block B, Kleinoder H, Achtzehn S. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. J Appl Physiol 2007; 103:474-483.
5. Stammers R, Robinson CJ, Forster NM, Wagner B, Rafferty B. Vascular endothelial growth factor (VEGF): modulation of heparin-binding activity and bioactivity by site-directed mutagenesis. Endocrine 2005; 9:10-27.
6. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukae N, Vasios G, Lane W. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. Cell 1997; 88:277-285.
7. Kerstin E, Peetra M, Johan D, Lena CW, Michael J. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways. FEBS 2003; 536:19-24.
8. Tang K, Breen EC, Gerber HP, Ferrara NM, Wagner PD. Capillary regression in vascular endothelial growth factor-deficient skeletal muscle. Physiol Genomics 2004; 18:63-69.
9. Ensen L, Bangsbo J, Hellsten Y. Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. J Physiol 2004; 577:571-82.
10. Jian-Wei G, Megan S, Wei T, Amelia P. Tissue endostatin correlates inversely with capillary network in rat heart and skeletal muscles. Angiogenesis 2006; 9:93–99.
11. Gustafsson T, Puntschart A, Kaijser L, Jansson E, Sundberg CJ. Exercise-induced expression of angiogenesis-related transcription and growth factors in human skeletal muscle. Am J Physiol 1999; 276:679-685.

12. Lloyd PG. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003;284:1668-1678.
13. Nakamura K, Kitaoka K, Tomita K. Effect of eccentric exercise on the healing process of injured patellar tendon in rats. J Orthop Sci 2008; 13:371-378.
14. Arroyo AG, Iruela-Arispe ML. Extracellular matrix, inflammation, and the angiogenic response. Cardiovasc Res 2010; 86: 226-235.
15. Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, Lee ES, Wu MH, Yuan SY. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation. Expert Rev Mol Med 2009; 4:11-19.
16. Heljasvaara R, Nyberg P, Luostarinen J, Parikka M, Heikkila, Rehn M. Generation of biologically active endostatin fragments from human collagen XVIII by distinct matrix metalloproteases. Exp Cell Res 2005; 307:292-304.
17. Cornachione A, Cacao-Benedini LO, Martinez EZ, Neder L, Claudia M. Effects of eccentric and concentric training on capillarization and myosin heavy chain contents in rat skeletal muscles after hindlimb suspension. Acta Histochem 2011;13:277-282.
18. Gavin TP, Drew JL, Kubik CJ, Pofahl WE, Hickner RC. Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. Acta Physiol 2007; 191: 139-46.
19. Rullman E, Rundqvist H, Wagsater D, Fischer H, Eriksson P, Sundberg CJ, Jansson E, Gustafsson T. A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle. J Appl Physiol 2007; 102: 2346-2351.
20. Shinichiro M, Hidemi F, Isao T, Ryusuke M, Kanae K, Aiji O. Comparison of capillary architecture between slow and fast Muscles in rats using a confocal laser scanning microscope. Acta Med 2010 ; 64: 11-18.
21. Buford TW, Cooke MB, Shelmadine BD, Hudson GM, Redd L, Willoughby DS. Effects of eccentric treadmill exercise on inflammatory gene expression in human skeletal muscle. Appl Physiol Nutr Metab 2009; 34:745-753.
22. Hastings AB, White FC, Sanders TM, Bloor CM. Comparative physiological responses to exercise stress. J Appl Physiol 1982; 52:1077-1083.
23. Li A, Dubey S, Varney ML, Dave BJ, Singh RK. IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. J Immunol 2003;170:3369-3376.
24. Kimura H, Weisz A, Kurashima Y, Hashimoto K, Ogura T, D'Acquisto F. Hypoxia response element of the human vascular endothelial growth factor gene mediates transcriptional regulation by nitric oxide: control of hypoxia-inducible factor-1 activity by nitric oxide. Blood 2000; 95: 189-197.
25. Zelzer E, Levy Y, Kahana C, Shilo BZ, Rubinstein M, Cohen B. Insulin induces transcription of target genes through the hypoxia-inducible factor HIF-1alpha/ARNT. Embo J 1998; 17:5085-5094.
26. Seida A, Wada J, Kunitomi M, Tsuchiyama Y, Miyatake N, Fujii M, et al. Serum bFGF levels are reduced in Japanese overweight men and restored by a 6-month exercise education. Int J Obes Relat Metab Disord 2003; 27:1325-1331.
27. Suhr F, Rosenwick C, Vassiliadis A, Bloch W, Brixius K. Regulation of extracellular matrix compounds involved in angiogenic processes in short- and long-track elite runners. Scand J Med Sci Sports 2010; 20: 441-418.
28. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years. Br J Sports Med 2008;42: 126-129.
29. Kirwan JP, Aguila LF. Insulin signaling, Exercise and cellular integerity. Bichem Soc Trans 2001; 31:1281-1285.
30. Toft AD, Jensen LB, Bruunsgaard H, Ibfelt T, Krestensen JH, Febrraio M. Cytokin response to eccentric exercise in young and elderly humens. Am J Physiol Cell Physiol 2002; 283:289–295.
31. Brammer RD, Bramhall SR, Eggo MC. Endostatin expression in a pancreatic cell line is modulated by a TNFalpha-dependent elastase. Br J Cancer 2005; 93:1024-1028.

Effects of acute eccentric exercise on serum vascular endothelial growth factor and endostatin concentration in male wistar rats

Nourshahi M [1], Feizemilani R [1], Gholamali M [2]

1. Shahid Beheshti University
2. MSc student of Shahid Beheshti University

Received: 01/12/2011 **Revised:** 31/01/2012 **Accepted:** 10/04/2012

Correspondence:
Maryam Nourshahi, Shahid Behashti Universtiy, Velenjak, Tehran, Iran,
Email: M-Nourshahi@sbu.ac.ir

Abstract

Introduction: Angiogenesis is the formation of new blood vessels from an existing vascular bed. This process can facilitate the oxygen delivery to active muscles. Studies have shown that acute exercise can affect the process of angiogenesis. However, the role of the type of contraction that is used in exercise, especially eccentric contraction, in angiogenesis process is not yet clear.

Purpose: The aim of this study was to investigate the effect of eccentric exercise on serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and Endostatin in male wistar rats.

Materials and Methods: 36 male wistar rats (age= 49±7 , weight=290±10) were used in this study. The rats were divided into two groups: the experimental group (eccentric exercise group) (n = 24) and the control group (n = 12). Also, the experiment group was subdivided immediately after the exercise (n = 12) and 24 hours after the exercise (n = 12). The eccentric exercise involved running on a treadmill with the speed of 20 m/s and -160 slopes for 45 minutes. Immediately and 24 hours after the exercise, blood sample was drawn from the descending aorta for measurement of serum VEGF and endostatin. Serum VEGF and endostatin were measured by ELISA method.

Results: Results of the study showed that immediately and 24 hours after the exercise the serum levels of VEGF decreased 28% and 12%, respectively ($p \leq 0.05$) Also, serum levels of endostatin decreased 26% and 38%, immediately and 24 hours after the exercise, respectively ($p \leq 0.05$). Additionally, VEGF/endostatin ratio decreased immediately after the exercise ($p=0.02$) and increased significantly 24 hours after the exercise ($p=0.001$).

Discussion and Conclusion: The finding of this study showed that the main factors that are involved in angiogenesis decreased significantly immediately after the eccentric exercise This finding may provide new insights into better comprehension of mechanisms related to changes of capillary density in response to eccentric training.

Keywords: *Eccentric exercise, VEGF, Endostatin, Male wistar rat.*