

## بررسی دانسیته مویرگی مایوکارده و مقادیر پلاسمایی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی متعاقب تمرین تناوبی بین رت های نر و ماده

عبدالامیر سیاری<sup>۱\*</sup>، زهره هدایت منش<sup>۲</sup>، جمال حسینی<sup>۳</sup>

### چکیده

زمینه و هدف: انجام فعالیت های ورزشی می تواند منجر به آنژیوژنز و گسترش شبکه مویرگی شود. هدف این مطالعه، تعیین تأثیر تمرینات تناوبی بر مقادیر پلاسمایی فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی و دانسیته مویرگی مایوکارده در رت های نر و ماده بوده است.

روش بررسی: برای این مطالعه، تعداد ۶۰ سر رت نر و ماده با وزن و سن تقریبی یکسان انتخاب شدند. مقادیر پلاسمایی VEGF قبل و بعد از پروتکل تمرینی از طریق کیت های مخصوص و با استفاده از تکنیک الایزا مورد سنجش قرار گرفت. بعد از امحای رت ها و استخراج بافت قلبی آنها دانسیته مویرگی مایوکارده با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوکیستری ارزیابی شد.

یافته ها: تفاوت معناداری بین سطوح پایه VEGF و دانسیته مویرگی مایوکارده در رت های نر و ماده مشاهده نشد. متعاقب رشد جسمی بین گروه کنترل و شم تفاوت معناداری در مقادیر VEGF و دانسیته مویرگی مایوکارده به وجود نیامد. با وجود این، متعاقب انجام تمرینات تناوبی، افزایش معناداری در مقادیر پلاسمایی VEGF و دانسیته مویرگی مایوکارده ایجاد شد، ولی تفاوت معناداری بین رت های نر و ماده متعاقب تأثیر تمرینات تناوبی بر مقادیر پلاسمایی VEGF و دانسیته مویرگی مایوکارده وجود نداشت.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج مطالعه حاضر می توان چنین نتیجه گیری کرد که تمرینات تناوبی می توانند فرایند آنژیوژنز را از طریق افزایش مقادیر VEGF بهبود بخشیده، لذا گسترش شبکه مویرگی مایوکارده دور از انتظار نیست.

کلید واژگان: VEGF، دانسیته مویرگی مایوکارده، تمرین تناوبی.

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش. ۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش. ۳- کارشناس ارشد تربیت بدنی و علوم ورزشی.

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آبادان، آبادان، ایران. ۳- دانشگاه علمی کاربردی لردگان، لردگان، ایران.

\* نویسنده مسؤول:

عبدالامیر سیاری؛ دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آبادان، آبادان، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۳۴۶۶۲۴۶

Email: amir.saiari@gmail.com

## مقدمه

همه بافت‌های بدن برای زنده بودن و تکامل، نیازمند دریافت منابع غذایی و اکسیژن هستند. افزون بر این، دفع مواد زاید متابولیکی، شرط ثانویه حیات سلول‌ها و بافت زنده است. بر این اساس، توسعه و تکامل عروق، زمینه را برای رشد بافت‌ها مهیا می‌کند. در پاسخ به سازگاری‌های محیطی ناشی از افزایش تقاضا و نیازهای بدن، عروق شروع به رشد و تکامل می‌کند. آنژیوژنز یا رگزایی به معنای افزایش چگالی مویزگی‌های عضله اسکلتی و قلبی است (۱۶). ایجاد مویزگی جدید نیازمند تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال مویزگی است (۵). برای القای آنژیوژنز در شرایط فیزیولوژیک یا پاتولوژیک، کاهش فشار اکسیژن در بافت از اهمیت زیادی برخوردار است (۱۹، ۲۱). کاهش فشار اکسیژن (هایپوکسی)، موجب تولید عامل القاشده به-وسیله هایپوکسی (Hypoxia-Inducible Factor یا HIF) می‌شود. این عامل، خود موجب بیان ژن و ساخت پروتئینی به نام فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Endothelial Growth Factor) می‌شود. VEGF به عنوان قوی‌ترین میتوژن سلول‌های اندوتلیالی شناخته شده است (۱۳). زمانی که فشار سهمی اکسیژن کاهش می‌یابد، سلول‌های اندوتلیالی تحریک شده و مبادرت به شروع تکثیر، تقسیم و تشکیل لوله می‌کنند. زمانی هم که فشار سهمی اکسیژن متوسط تا معمولی و یا بالا باشد، بیان VEGF و فعالیت سلول اندوتلیالی کاهش می‌یابد (۲۷). از آنجایی که عروق خونی و مویزگ‌ها در میان فاسیکول‌ها و تارهای بافت عضلانی گسترده شده‌اند، لذا در طی فعالیت‌های ورزشی به‌واسطه چرخه‌های انقباض-انبساط مایوکارد، عروق خونی آن متحمل دوره‌های ایسکمیک - ریپرفیوژن می‌شوند. این دوره‌ها، خود از طریق ایجاد حالت هایپوکسی، باعث فعال‌سازی HIF-1 می‌شود. کمپلکس HIF-1 بعد از شکل‌گیری می‌تواند عناصر واکنش به هایپوکسی (Hypoxia Response Elements) را در هسته، که بر

روی ژن‌های هدف قرار دارد را شناسایی کند (۱۸، ۳۲). واکنش بین HIF-1 و HRE، سرانجام رونویسی ژن هدف (VEGF) را آغاز می‌کند (۲۴). در خلال فعالیت‌های ورزشی، به‌دلیل انقباضات عضلانی و رگ تنگی‌های ناشی از آن و همچنین افزایش سرعت جریان خون، تنش برشی واردشده بر جدار داخلی عروق (Shear Stress) زیاد شده و با تولید اکساید نیتریک (NO) باعث شروع آبشار رشد عروقی و پدیده آنژیوژنز می‌شود. افزایش حاد و مزمن تنش برشی به‌ترتیب باعث رگ‌گشایی و تغییرات ساختاری، به‌ویژه افزایش قطر و هایپرتروفی عروق می‌شود (۱۷). NO تولیدشده به‌واسطه تنش برشی، عاملی حیاتی برای اندوتلیوم بوده، آپوپتوز را مهار، تکثیر سلول‌های اندوتلیوم و بیان VEGF و فاکتور رشد فیروبلاستی (Fibroblast Growth Factor) را افزایش می‌دهد (۷). NO همچنین مهاجرت اندوتلیومی (۲۲) را به‌واسطه افزایش پودوکیناز (Podokinesis) (۲۳) بهبود می‌بخشد. افزایش پودوکیناز بیان  $\alpha\text{v}\beta 3$  را افزایش داده (۲۲) و ماتریکس خارج سلولی را به‌واسطه FGF ناشی از پلاسمینوژن نوع یوروکیناز تجزیه می‌کند (۳۵). با کاهش فعالیت زیستی NO، رگزایی نیز کاهش می‌یابد. عوامل مختلفی بر میزان تولید VEGF مؤثر است که از مهم‌ترین این عوامل می‌توان فشارهای برشی، انقباض و کشش عضله، کاهش غلظت گلوکز خون (Hypoglycemia)، انواع سایتوکین‌ها و فاکتور محرک هایپوکسی ناشی از هایپوکسی را نام برد (۱۱). برخی تحقیقات نشان داده‌اند که تولید VEGF به‌وسیله فاکتورهای التهابی نظیر  $\text{IL-1}\alpha$ ،  $\text{IL-1}\beta$ ، پروستاگلاندین و  $\text{TNF-}\alpha$  تحریک و افزایش می‌یابد (۱۰).

در زمینه فعالیت ورزشی و تأثیر آن بر آنژیوژنز مطالعاتی صورت گرفته که از آن جمله می‌توان به تحقیق نورشاهی (۱۳۹۱) اشاره کرد. وی گزارش کرده است که پس از انجام تمرینات منظم استقامتی مقادیر پلاسمایی

پلاسمایی پایه VEGF را مورد کاوش قرار داد. آنها گزارش کردند که سطوح پلاسمایی VEGF در سگ‌های نر بیشتر از جنس ماده بوده است. پیرامون تأثیر فعالیت ورزشی هوازی بر آنژیوژنز تحقیقاتی بسیار اندکی وجود دارد (۲۸). در این تحقیقات آنژیوژنز متعاقب تمرینات استقامتی و زیر بیشینه به روش تداومی، آن هم بدون مقایسه جنسیتی مورد بررسی قرار گرفته است؛ در حالی که در تمرینات تناوبی که در طی وهله‌های پرشدت تناوبی، بار کاری بر سیستم قلبی-عروقی به‌طور مضاعفی افزایش می‌یابد، مطالعه‌ای صورت نگرفته است. ضمن اینکه، در تحقیقاتی هم که آنژیوژنز را در بافت قلبی، بررسی کرده‌اند آزمودنی‌های حیوانی آن‌ها معمولاً مبتلا به بیماری خاصی نظیر دیابت بوده‌اند. از طرف دیگر، آمار و شواهد نشان می‌دهد که بروز انفارکتوس میوکارد در میان مردان بیشتر از زنان است (۲۶، ۳۰). بر این اساس، هدف مطالعه حاضر، مقایسه مقادیر VEGF و دانسیته مویرگی میوکارد در حالت معمول و پس از فعالیت‌های ورزشی تناوبی بین جنسیت‌های مختلف بوده است.

### روش بررسی

#### نمونه‌های حیوانی

تعداد ۶۰ سر موش (۳۰ نر و ۳۰ ماده) که دارای وزن و سن تقریباً یکسانی بودند به‌عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. روش نمونه‌گیری به‌صورت هدفمند بوده است. سپس آنها در شش گروه کنترل نر (۱۰ سر)، گروه کنترل ماده (۱۰ سر)، تمرین تناوبی نر (۱۰ سر)، تمرین تناوبی ماده (۱۰ سر)، گروه شم نر (۱۰ سر) و گروه شم ماده (۱۰ سر) تقسیم شدند.

#### نحوه اجرای تحقیق

در ابتدا از کلیه موش‌های نر و ماده گروه‌های مختلف نمونه خونی جهت سنجش پیش‌آزمون VEGF بر اساس

VEGF در موش‌های ویستار افزایش و مقادیر ایندوستاتین کاهش معناداری یافته است (۴). همچنین رنجبر و همکارانش (۱۳۹۰) بیان کرده‌اند که پس از انجام تمرینات زیر بیشینه حاد در افراد غیر ورزشکار میزان VEGF و MMP-2 سرم بلافاصله پس از فعالیت کاهش می‌یابد. همچنین میزان VEGF در دو ساعت بعد از فعالیت نسبت به سطح پایه، در سطح پایین‌تری باقی ماند. او بیان می‌کند که احتمال زیاد تمرین استقامتی زیر بیشینه نتواند باعث تغییر معناداری در مقادیر VEGF و MMP-2 شود (۱). طاهری چادر نشین (۱۳۸۹) در پژوهشی پاسخ VEGF به فعالیت زیر بیشینه وامانده ساز را مورد بررسی قرار داد. وی گزارش کرده است که یک جلسه فعالیت زیر بیشینه وامانده ساز، موجب افزایش معنادار VEGF سرمی بلافاصله و تا دو ساعت بعد از اجرا شده است (۳). ون کرانبروک (Van Craenenbroeck) (۲۰۰۸) نیز نشان داد که به‌دنبال فعالیت ورزشی حاد، میزان VEGF سرم افزایش می‌یابد (۲۹). خزایی (Khazaei) (۲۰۱۲)، در پژوهش خود مشاهده کرد که بیان آنژیوژنز عروق کرونری در رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل به‌صورت معناداری پایین‌تر است. همچنین مصرف ال - آرژنین باعث افزایش دانسیته مویرگی در بافت قلبی موش‌های دیابتی شده بود. در نهایت، آنها نتیجه گرفتند که ال - آرژنین می‌تواند از طریق تغییر در مقادیر سرمی فاکتورهای آنژیوژنیک باعث بهبود آنژیوژنز در قلب رت‌های دیابتی شود (۱۵). شکرچی‌زاده و همکارانش (۱۳۹۱) تأثیر تمرین مقاومتی بر سطح پلاسمایی NO، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده نوع یک آن (VEGFR-1) را در رت‌های نر و سالم بررسی کردند. آن‌ها نتیجه گرفتند که متعاقب چهار هفته تمرین مقاومتی در رت‌های نر دیابتی، مقادیر NO، VEGF و VEGFR1 تغییر معناداری نسبت گروه کنترل پیدا نمی‌کند (۲). کمپ (Kemp) (۲۰۰۵) تفاوت‌های جنسیتی در میزان سطوح

دویدن بر روی تردمیل موش مدل CA1400Y10 ساخت ایران شرکت پیشرو اندیشه صنعت نمودیم. برنامه تمرینی و مشخصات کامل آن در جدول ۱ آمده است.

### روش‌های آماری

جهت تجزیه و تحلیل طبیعی بودن داده‌های تحقیق حاضر از آزمون آماری کلموگروف - اسمیرنوف و برای بررسی همگنی واریانس‌ها و وجود اختلاف در متغیرهای تحقیق بین گروه‌ها و جنسیت‌های مختلف به ترتیب از آزمون‌های لوین و تحلیل واریانس استفاده شده است. در صورت وجود اختلاف بین گروه‌های مختلف برای یافتن محل تفاوت از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شده است. قابل ذکر است کلیه عملیات‌های آماری در سطح  $\alpha=0/05$  انجام شده است.

### یافته‌ها

داده‌های حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که بین گروه‌های مختلف تحقیق در متغیر وزن ( $P=0/926$ ) و مقادیر پیش‌آزمون VEGF قبل از اعمال پروتکل تمرینی تفاوت معناداری وجود ندارد ( $P=0/903$ ). داده‌های توصیفی را می‌توان در جدول ۲ مشاهده کرد. پس از اعمال هشت هفته تمرین هوازی تناوبی، مشاهده شد که بین گروه‌های شم و تمرینی در پس‌آزمون مقادیر پلاسمایی VEGF اختلاف معناداری وجود دارد ( $P=0/001$ ). بررسی‌های بعدی با استفاده از آزمون بونفرونی نشان داد که بین گروه‌های تمرینی (نر و ماده) متعاقب هشت هفته تمرین هوازی تناوبی تفاوت معناداری وجود ندارد. تحلیل‌های عمیق‌تر نشان می‌دهد که تمرینات هوازی تناوبی به ترتیب باعث افزایش ۲۹/۴۵ و ۳۱/۷۵ درصدی در مقادیر پلاسمایی VEGF گروه‌های نر و ماده می‌شود. در مورد دانسیته مویرگی، نتایج نشان داد که بین جنسیت گروه‌های کنترل و

کیت (Rat VEGF, ELISA, R & D, Minneapolis, USA, Intraassay CV%: 6.9 & Sensitivity: 8.4 pg/ml) اخذ شد. سپس رت‌های گروه‌های کنترل نر و ماده به روش Exsanguition امحا شده و ضمن استخراج بافت قلبی دانسیته مویرگی بافت قلبی در آنها مورد سنجش قرار گرفت. در ادامه، رت‌های نر و ماده گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته در معرض پروتکل تمرینی قرار گرفتند. در این مدت زمان رت‌های گروه‌های شم در هیچ تمرینی شرکت نکردند. در انتهای پروتکل تمرینی، با فاصله زمانی یک ساعت، مجدداً از کلیه موش‌های نر و ماده گروه تمرینات تناوبی و گروه‌های شم نمونه خونی گرفته شد تا مقادیر پس‌آزمون VEGF مورد سنجش قرار بگیرد. در انتهای تحقیق نیز کلیه این رت‌ها به روش مذکور امحا شدند تا با استخراج بافت قلبی، دانسیته مویرگی مایوکارد آنها مورد بررسی قرار گیرد.

### روش سنجش دانسیته مویرگی مایوکارد

از نمونه‌های بافت قلبی بلوک بافتی تهیه شد. سپس به وسیله دستگاه میکروتوم سکن‌های عرضی با ضخامت ۵ میکرومتر از قسمت نوک قلب آماده شد، جهت مشخص شدن سلول‌های اندوتلیال مویرگی از روش رنگ‌آمیزی IHC با آنتی بادی (Anti-CD<sup>31</sup> Rat Monoclonal ) (Antibody, Abcam, Cambridge) استفاده شده است. تعداد چند فیلد میکروسکوپ نوری از سه مقطع میکروسکوپی ( $\times 400$ ) از هر نمونه بافتی انتخاب شده و تعداد مویرگ‌ها رنگ گرفته شده توسط یک پاتولوژیست با استفاده از یک میکروسکوپ الکترونیکی مورد شمارش قرار گرفت (۱۴).

### پروتکل تمرینی

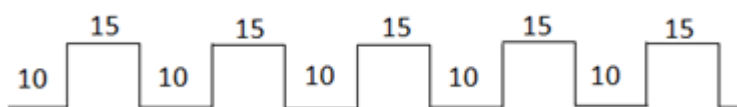
در تحقیق حاضر جهت القای دوره‌های ایسکمیک - ریپرفیوژن از تمرینات هوازی تناوبی با رعایت اصل اضافه بار استفاده شده است. بدین منظور به مدت هشت هفته و هفته‌ای سه جلسه (در کل ۲۴ جلسه)، رت‌ها را وادار به

ماده به تمرینات منظم هوازی تناوبی، پاسخ آنژیوژنیک می-دهد. بررسی های بعدی نشان داد که بین جنسیت ها در گروه های تمرین تفاوت معناداری وجود ندارد و به عبارت دیگر، پاسخ مایوکارڈ به محرک های آنژیوژنیک در هر دو جنس نر و ماده تقریباً مشابه می باشد. خلاصه نتایج آزمون-های آماری در جدول ۳ آمده است.

شم تفاوت معناداری در مقادیر دانسیته مویرگی وجود ندارد. به این ترتیب می توان گفت که هشت هفته رشد جسمی باعث تغییر معنادار در دانسیته مویرگی در مایوکارڈ رت-های نر و ماده نمی شود. علی رغم این موضوع بین جنسیت های مختلف گروه های تمرین هوازی تناوبی با گروه های کنترل و شم تفاوت معناداری وجود دارد. این موضوع خاطر نشان می کند که مایوکارڈ در هر دو جنس نر و

جدول ۱: شیوه اجرای تمرین فعالیت هوازی تناوبی

هفته	گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه	تناوب های هر هفته (هر تناوب یک دقیقه)	سرعت (m/min)	سرد کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه
۱	۳	۱۰	۱۵-۱۰	۳
۲	۳	۱۴	۲۰-۱۰	۳
۳	۳	۱۶	۲۵-۱۰	۳
۴	۳	۱۶	۳۰-۱۰	۳
۵	۳	۱۸	۳۵-۱۰	۳
۶	۳	۲۰	۴۰-۱۰	۳
۷	۳	۲۲	۴۰-۱۰	۳
۸	۳	۲۴	۴۰-۱۰	۳



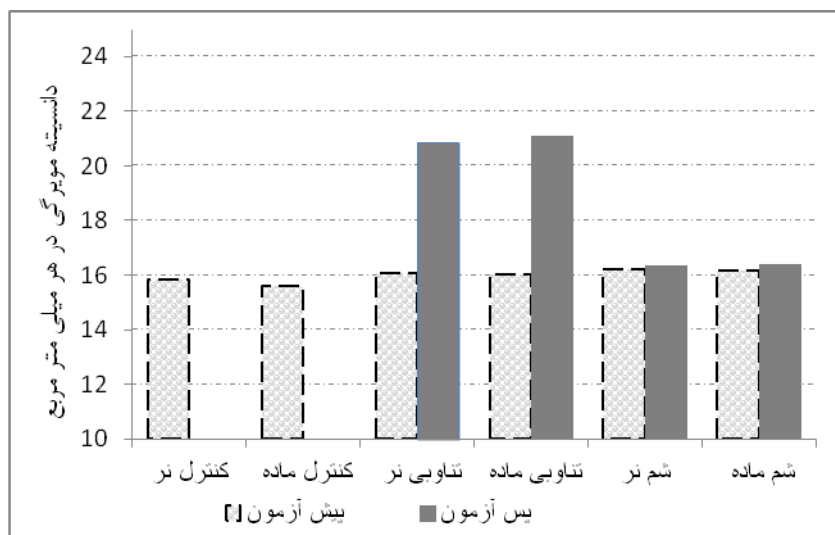
نمودار ۱: نمایی شماتیک از شدت پروتکل تمرینی در هفته اول

جدول ۲: مشخصات آنتروپومتریک و متغیرهای تحقیق در گروه های مختلف تحقیق

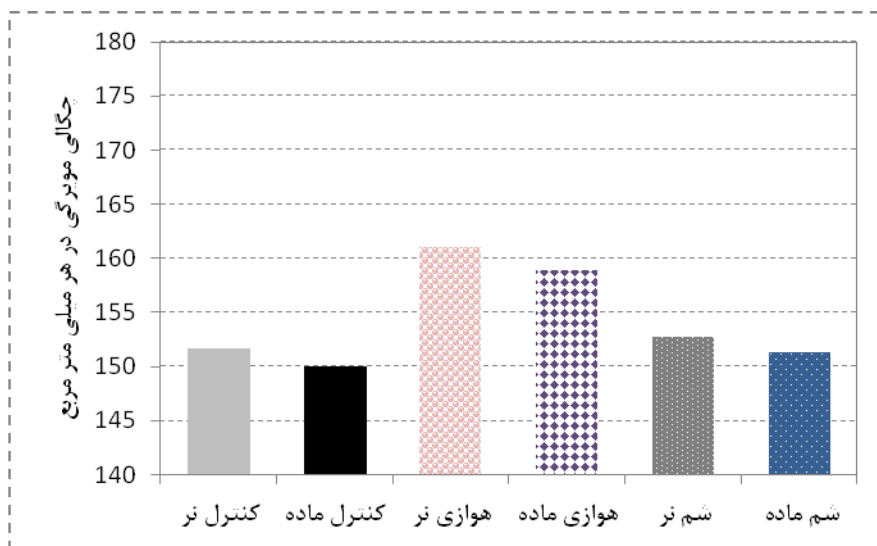
گروه	متغیرها	کنترل نر	کنترل ماده	هوازی نر	هوازی ماده	شم نر	شم ماده
تعداد		۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
وزن (گرم)		۲۱۶±۹/۰۶	۲۱۰/۳±۷/۷۸	۲۰۹/۷±۸/۴۲	۲۰۷/۷±۸/۳۸	۲۱۲/۷±۹/۱۳	۲۱۴±۸/۲۶
پیش آزمون VEGF (pg/ml)		۱۵/۸۵±۱/۵۲	۱۵/۶±۱/۵۵	۱۶/۰۹±۱/۴۱	۱۶±۱/۰۸	۱۶/۲۲±۱/۱۸	۱۶/۱۸±۱/۰۲
پس آزمون VEGF (pg/ml)		-----	-----	۲۰/۸۳±۱/۲۸	۲۱/۰۸±۱/۲۶	۱۶/۳۷±۱/۰۷	۱۶/۴±۱/۱
پیش آزمون دانسیته مویرگی (تعداد/میلی متر مربع)		۱۵۱/۷±۳/۴۰	۱۵۰±۲/۷۸	-----	-----	-----	-----
پس آزمون دانسیته مویرگی (تعداد/میلی متر مربع)		-----	-----	۱۶۱±۳/۴۹	۱۵۸/۹±۲/۳۸	۱۵۲/۸±۲/۸۵	۱۵۱/۳±۲/۴۹

جدول ۳: خلاصه نتایج آزمون تحلیل واریانس بین گروه‌ها و مراحل مختلف تحقیق

متغیر	درجه آزادی	مجذور میانگین	F	سطح معناداری
وزن	۵	۱۴۳۱۰۷/۸	۴۰۳۰/۳	۰/۹۲۶
پیش آزمون VEGF	۵	۰/۵۴۲	۰/۳۱۳	۰/۹۰۳
پس آزمون VEGF	۳	۶۹/۷۲۲	۵۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
دانسیته مویرگی	۵	۲۰۵/۰۹۷	۲۳/۹۳۶	۰/۰۰۱



نمودار ۲: مقادیر VEGF در پیش و پس آزمون گروه‌های مختلف تحقیق



نمودار ۳: دانسیته مویرگی مایوکارد در گروه‌های مختلف تحقیق

## بحث

میزان بیان ژن آن در بافت‌های مختلف از جمله عضله اسکلتی فعال می‌باشد (۲۵). یمیتسو (Iemitsu) (۲۰۰۶) نیز نشان داد که تمرینات ورزشی از طریق فعال‌سازی مسیر کینازی AKT و افزایش سطوح eNOS بیان ژن VEGF را در عضله قلبی افزایش می‌دهد (۱۲). در تحقیق حاضر مشاهده شد که انجام تمرینات منظم هوازی تناوبی، باعث افزایش معنادار دانسیتهٔ مویرگی میوکارد می‌شود، ولی بین گروه نر و ماده تفاوت معناداری در این شاخص وجود ندارد. این نتایج با نتایج خزایی (۲۰۱۲) همسو می‌باشد. در حین فعالیت‌های ورزشی به دلیل افزایش بازگشت وریدی، ناشی از تلمبهٔ عضلانی و مکش بطنی، میزان پرشدگی قلب بیشتر می‌شود، عروق خونی نیز متحمل کشش چرخه‌ای بیشتری شده (۳۳) و دیوارهٔ عروق کشیده می‌شود. همچنین کشیدگی عروق خونی حاصل از افزایش کشش چرخه‌ای (افزایش ضربان قلب) سبب تنظیم افزایشی فاکتورهای آنژیوژنیک به‌ویژه VEGF و گیرنده‌های تیروزین کینازی Tie-1، Tie-2 و Flk-1 (یا نوع دوم گیرنده VEGF) در سلول‌های اندوتلیال عروقی می‌شود و از این طریق، فرایند آنژیوژنز را تسهیل می‌کند (۲۰). علاوه بر کشش چرخه‌ای، اتساع بافت در طی رشد باعث ایجاد نوعی کشش به نام کشش ایستاتیکی می‌شود. در برخی تحقیقات نشان داده شده است که کشش چرخه‌ای نسبت به کشش ایستاتیکی، موجب افزایش سریع‌تر و طولانی‌تر گیرندهٔ نوع دوم VEGF (VEGFR-2)، افزایش طول توبول بیشتر و تشکیل انشعابات عروقی بیشتر می‌شود (۳۴). کشش چرخه‌ای از یک مسیر مشترک و در ارتباط با تنش برشی در فرآیند آنژیوژنز مشارکت می‌کند. فاکتورهای آنژیوژنیک پس از اتصال به گیرنده‌های خود بر روی سلول‌های اندوتلیالی منجر به فعال شدن آنها می‌شوند. با شروع فعالیت سلول‌های اندوتلیال، انواع خاصی از متالوپروتئازها از سلول‌های

انجام تمرینات منظم هوازی تناوبی باعث افزایش معناداری در سطوح پلاسمایی VEGF در بین هر دو جنس رت، نسبت به گروه کنترل و شم می‌شود. با وجود این، پاسخ سیستم قلبی - عروقی نسبت به فعالیت هوازی تناوبی در بین جنسیت‌های نر و ماده در مقادیر VEGF تقریباً یکسان است. این نتایج با یافته‌های پژوهشی نورشاهی (۱۳۹۱)، طاهری چادرنشین (۱۳۸۹)، ون کرانبروک (Van Craenenbroeck) (۲۰۰۸) همسو می‌باشد، ولی با یافته‌های تحقیقی رنجبر (۱۳۹۰)، شکرچی زاده (۱۳۹۱) و کمپ (Kemp) (۲۰۰۵) هم‌خوانی ندارد. در تحقیق کمپ، نمونه‌های تحقیقاتی، سگ‌های کشندهٔ سورتمه می‌باشند، بنابراین آنها از لحاظ سیستم قلبی - عروقی کاملاً ورزیده بوده‌اند، ضمن اینکه حجم بافت عضلانی در سگ‌ها نسبت به موش‌ها بسیار بیشتر است و چون VEGF موجود در سرم یا پلاسما تحت تأثیر بافت عضلانی فعال است، بنابراین علت ناهمخوانی می‌تواند این موضوع باشد. در تحقیق شکرچی‌زاده، از پروتکل تمرین مقاومتی به مدت یک‌ماه استفاده شده است و از آنجایی که مقادیر VEGF تحت تأثیر شدت و مدت تمرین نیز قرار می‌گیرد (۲۰) ممکن است، شدت یا مدت تمرین به اندازه نبوده تا منجر به تغییر معنادار در مقادیر پلاسمایی VEGF گردد. مهم‌ترین دلیل افزایش VEGF در بافت‌های بدن، هایپوکسی ذکر شده است (۶). هایپوکسی می‌تواند باعث افزایش مقادیر HIF-1 $\alpha$  شود. طی ورزش‌های هوازی تناوبی به دلیل به هم فشردگی عروق موجود در عضلات، هایپوکسی موضعی در عضله ایجاد می‌شود. بر این اساس، افزایش مقادیر HIF-1 $\alpha$  در طی فعالیت‌های هوازی تناوبی دور از انتظار نیست. بنابراین مقادیر VEGF افزایش یافته و آنژیوژنز اتفاق می‌افتد (۸). رالمن (Rullman) (۲۰۰۷) نشان داد تغییر در میزان VEGF سرم ناشی از تغییر در

(۳۱). با افزایش شدت فعالیت ورزشی، بر قدرت انقباض و تعداد ضربان قلب افزوده می‌شود. این مسأله باعث می‌شود تا دوره‌های ایسکیمیک - ریپرفیوژن وارد شده بر عروق کرونر و کشش چرخه‌ای در طول سیستول و دیاستول افزایش یابد. بنابراین انتظار می‌رود در بافت قلبی نیز متعاقب تمرینات منظم، آنژیوژنز و افزایش دانسیته مویرگی رخ دهد. فریسی (Frisbee) (۲۰۰۶) گزارش کرده است که ۱۰ هفته تمرینات استقامتی از طریق افزایش نیتریک اکساید، میزان چگالی مویرگی عضلات فعال را افزایش می‌دهد و افزایش NO تولیدشده در پاسخ به تمرینات ورزشی، میزان VEGF ترشحی از سلول‌های اندوتلیالی را افزایش می‌دهد و این امر در نهایت منجر به افزایش چگالی مویرگی می‌شود (۹).

#### قدردانی

بدین وسیله از کلیه همکارانی که در تهیه و تدوین این مقاله با ما همکاری کرده اند تشکر می‌نمایم. این مقاله از طرح پژوهشی با عنوان: بررسی تاثیر فعالیت ورزشی هوازی بر آنژیوژنز و آرتریوژنز قلبی در رت های نر و ماده، که توسط معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آبادان تامین مالی شده، استخراج گردیده است.

فوق ترشح می‌شود و غشای پایه اندوتلیوم را در منطقه مذکور تجزیه می‌کند. با هضم غشای پایه، سلول‌های اندوتلیال تکثیر و مهاجرت می‌کنند. علاوه بر این، مولکول‌های اتصال از قبیل گیرنده‌های اینتگرینی ( $\alpha v \beta 5$  و  $\alpha v \beta 3$ ) که به وسیله پلاکت‌ها بیان می‌شوند نیز به فرایند کشیدن و جلو رفتن جوانه‌های رگ‌های خونی در حال رشد کمک می‌نماید. در مراحل بعدی فرایند آنژیوژنز، متالو ماتریکس پروتینازها (MMPs) جهت تجزیه ماتریکس خارج سلولی و آغاز بازسازی مجدد آن تولید می‌شوند. سپس با برهم کنش آنژیوپوئیتین و گیرنده نوع دوم آن (Tie-2) فرایند تشکیل لوله آغاز می‌گردد. در مرحله بعد، سیستم Ephb/Ephrinb (نوعی از گیرنده‌های تیروزین کینازی) نیز تنظیم فرایند تشکیل لوله‌ها را بر عهده گرفته و در نهایت پری سیت ها و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف برای پایدار کردن رگ خونی تازه تشکیل شده، به این ساختار اضافه می‌شوند (۱۹). یانگا (Yunga) (۲۰۰۹) معتقد است که کشش چرخه‌ای سلول‌های اندوتلیال ورید نافی انسان موجب تنظیم افزایشی ترشح آنژیوپوئیتین - ۲ (تخریب اولیه پیوند بین سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های عضله صاف عروق) و  $\beta$ -PDGF (ایجاد ثبات بین سلول‌های عضله صاف و سلول‌های اندوتلیال جوانه) شده و از این طریق موجب مهاجرت سلول اندوتلیال و تشکیل جوانه می‌شود

#### منابع

- 1-Ranjbar K, Nourshahi M, Hedayati M, Taheri H. A Study on the Serum Levels of Angiogenic Factors in Response to Acute Long-term Submaximal Exercise in Sedentary Men. *Physiol Pharmacol* 2011; 15(1): 124-32.
- 2-Shekarchizadeh P, Khazaei M, Gharakhanlou R, Karimian J, Safarzadeh AL. The Effects of Resistance Training on Plasma Angiogenic Factors in Normal Rats. *J Isfahan Med School* 2012; 30(176): 65-73.
- 3-Taheri H, Nourshahi M, Ranjbar K. Response of vascular endothelial growth factor to exhausted sub maximal exercise and its correlation with VO<sub>2</sub>max. *Exercise biological science* 2011; (7): 59-75.
- 4-Nourshahi M, Hedayati M, Nemati J, Ranjbar K, Gholamali M. Effect of eight weeks endurance training on serum vascular endothelial growth factor and endostatin in Wistar rats. *Koomesh* 2012; 13(4): 474-9.
- 5-Adams RH, Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(6): 464-78.
- 6-Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407(6801): 249-57.
- 7-Dulak J, Jozkowicz A, Dembinska-Kiec A, Guevara I, Zdzienicka A, Zmudzinska-Grochot D, Florek I, Woitowicz A, Szuba A, Cooke JP. Nitric oxide induces the synthesis of vascular endothelial growth factor by rat vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(3): 659 – 66.



- 8-Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. *Pflügers Archiv* 2009; 457(5): 963-77.
- 9-Frisbee JC, Samora JB, Peterson J, Bryner R. Exercise training blunts microvascular rarefaction in the metabolic syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291(5): 2483-92.
- 10-Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endoc Rev* 1997; 18(1): 4-25.
- 11-Gustafsson T, Ameln H, Fischer H, Sundberg CJ, Timmons JA, Jansson E. VEGFA splice variants and related receptor expression in human skeletal muscle following submaximal exercise. *J Appl Physiol* 2005; 98(6): 2137-46.
- 12-Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291(3): 1290-98.
- 13-Islami D, Bischof P, Chardonens D. Modulation of placental vascular endothelial growth factor by leptin and hCG. *Mol Hum Reprod* 2003; 9(7): 395-8.
- 14-Jacobi J, Porst M, Cordasic N, Namer B, Schmieder RE, Eckardt KU, Hilgers KF. Subtotal nephrectomy impairs ischemia-induced angiogenesis and hindlimb re-perfusion in rats. *Kidney Int* 2006; 69(11): 2013-21.
- 15-Khazaei M, Moshayedi MA, Teimouri Jervekani M, Aghili S, Montazeri S, Mehdipour Dastjerdi R, Hashemzahi F, Hashemi Jaz H. Effect of L-arginine and L-NAME on coronary angiogenesis in male diabetic rats. *J Res Med Sci* 2012; (2): S247-51.
- 16-Leosco D, Rengo G, Iaccarino G, Golino L, Marches M, Fortunato F, Zincareli C, Sanzari E, Ciccarelli M, Galasso G, Altobelli GG, Conti V, Matrone G, Cimmini V, Ferrara N, Filippelli A, Koch WJ, Rengo F. Exercise promotes angiogenesis and improves beta- adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. *Cardiovasc Res* 2008; 78(2): 385-94.
- 17-Loufrani L, Henrion D. Role of the cytoskeleton in flow (shear stress) induced dilation and remodeling in resistance arteries. *Med Biol Eng Comput* 2008; 46(5): 451-60.
- 18-Lundby C, Calbet JA, Robach P. The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66(2): 3615- 23.
- 19-Martinez A. A new family of angiogenic factors. *Cancer Lett* 2006; 236(2): 157-63.
- 20-Milkiewicz M, Ispanovic E, Doyle E, Jaas TL. Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation. *Int J Biochem Cell Bio* 2006; 38(3): 333-57.
- 21-Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, Coudert J, Fellmann N, Clottes E. Effect of intermittent hypoxic training on HIF gene expression in human skeletal muscle and leukocytes. *Eur J Appl Physiol* 2009; 105(4): 515-24.
- 22-Murohara T, Witzendichler B, Spyridopoulos I, Asahara T, Ding B, Sullivan A, Losordo DW, Lsner JM. Role of endothelial nitric oxide synthase in endothelial cell migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(5): 1156-61.
- 23-Noiri E, Lee E, Testa J, Quigley J, Colflesh D, Keese CR, Goaever I, Goligorsky MS. Podokinesis in endothelial cell migration: role of nitric oxide. *Am J Physiol* 1998; 274 (1 Pt 1): C236-44.
- 24-Rey S, and Semenza GL. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodeling. *Cardiovas Res* 2010; 86(2): 236-42.
- 25-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(6): 2346-51.
- 26-Shaw LJ, Bairey Merz CN, Pepine CJ, Reis SE, Bittner V, Kelsey SF, et al. WISE Investigators. Insights from the NHLBI-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study: Part I: gender differences in traditional and novel risk factors, symptom evaluation, and gender-optimized diagnostic strategies. *J Am Coll Cardiol* 2006; (47Suppl3): S4- 20.
- 27- Shweiki D, Ltin A, Scoffe D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359(6398): 845- 3.
- 28-Kemp SW, Reynolds AJ, Duffy LK. Gender Differences in Baseline Levels of Vascular Endothelial Growth Factor in the Plasma of Alaskan Sled Dogs. *Am J Biochem Biotech* 2005; 1(2): 111-4.
- 29-Van Craenenbroeck EM, Vrints CJ, Haine SE, Vermeulen K, Van Tendeloo VF, Hoymans VY, Conraads VM. A maximal exercise bout increases the number of circulating CD34+/KDR+ endothelial progenitor cells in healthy subjects. Relation with lipid profile. *J Appl Physiol* 2008; 104(4): 1006-13.
- 30-Wingard DL, Suarez L, Barrett-Connor E. The sex differential in mortality from all causes and ischemic heart disease. *Am J Epidemiol* 1983; 117(2):165-72.

- 31-Yunga YC, Chaec J, Buehlerd MJ, Hunterc CP, Mooney DJ. Cyclic tensile strain triggers a sequence of autocrine and paracrine signaling to regulate angiogenic sprouting in human vascular cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(36): 15279- 84.
- 32-Zamudio S, Wu Y, Ietta F, Rolfo A, Cross A, Wheeler T, Post M, Illsley NP, Caniggia I. Human Placental Hypoxia-Inducible Factor-1 Expression Correlates with Clinical Outcomes in Chronic Hypoxia in Vivo. *Am J Pathol* 2007; 170(6): 2171-9.
- 33-Zheng W, Christensen LP, Tomanek RJ. Stretch induces upregulation of key tyrosine kinase receptors in microvascular endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287(6): 2739-45.
- 34-Zeng G, Taylor SM, McColm JR, Kappas NC, Kearney JB, Williams LH, Hartnett ME, Bautch VL. Orientation of endothelial cell division is regulated by VEGF signaling during blood vessel formation. *Blood* 2007; 109(4): 1345- 52.
- 35-Ziche M, Parenti A, Ledda F, Dell'Era P, Granger HJ, Maggi CA, Presta M. Nitric oxide promotes proliferation and plasminogen activator production by coronary venular endothelium through endogenous bFGF. *Circ Res* 1997; 80(6): 845- 52.

# Survey of Myocardial Capillary Density and Plasma Level of Vascular Endothelial Growth Factor Following Interval Training between Male and Female Rats

Abdulmir Saiari<sup>1\*</sup>, Hedayatmanesh Zohreh<sup>2</sup>, Jamal Hossieni<sup>3</sup>

1-PhD Student of Exercise Physiology.

2-M.Sc of Exercise Physiology.

3-M.Sc of Physical Education and Exercise Science.

1,2-Department of Exercise Physiology, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran.

3-University of Applied Sciences Lordegan, Lordegan, Iran.

\*Corresponding author:

Abdulmir Saiari; Department of Exercise Physiology, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran.

Tel: +989163466246

Email: amir.saiari@gmail.com

## Abstract

**Background and Objective:** Exercise can lead to angiogenesis and development of capillary network. The aim of this study was to assess the effect of interval training on plasma level of vascular endothelial growth factor (VEGF) and myocardial capillary density in male and female rats.

**Subjects and Methods:** Sixty male and female rats with same average Age and weight were selected for investigation. Plasma VEGF Level was measured by special kit by ELIZA method before and after exercise training. Cardiac tissue was extracted for measuring capillary density in myocardium by immunohistochemical technique

**Results:** No significant differences were found between the baseline of VEGF level and myocardial capillary density in male and female rats. Following 8 weeks physical development there were no significant differences between VEGF level and myocardial capillary density in sham and control groups. Whereas level of VEGF and myocardial capillary density increased significantly following interval training, but no significant differences between male and female rats in training groups.

**Conclusion:** According to the finding of the present study interval training is equally effective in increasing VEGF level in both sexes leading to improved angiogenesis in rat myocardial.

**Keywords:** VEGF, Myocardial capillary density, Interval training.

► Please cite this paper as:

Saiari AA, Hedayatmanesh Z, Hossieni J. Survey of Myocardial Capillary Density and Plasma Level of Vascular Endothelial Growth Factor Following Interval Training between Male and Female Rats. *Jundishapur Sci Med J* 2015; 14(5):523-533.

Received: Oct 26, 2015

Revised: Oct 14, 2015

Accepted: Aug 18, 2015