پاسخ واسطه‌های آنژیوژنیک پلاسمایی به تمرین هوازی و عصاره آبی سیاه ولیک در رت‌های نر ویستار

آسیه عباسی دلویی[1*]، احمد عبدی[1]، هاجر عباس‌زاده صورتی[2]، مژگان احمدی[3]

۱- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
۲- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
۳- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی واحد یادگار امام خمینی شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
* آدرس مکاتبه: آمل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، گروه فیزیولوژی ورزشی
تلفن: ۰۹۱۱۱۲۷۴۳۶۶ – ۴۴۱۵۰۹۴۹ (۰۱۱)
پست الکترونیک: abbasi.daloii@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۵ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۱۰/۶

چکیده

مقدمه: فاکتورهای آنژیوژنیک مجموعه‌ای از فاکتورهای رشدی هستند که به طور مستقیم و غیرمستقیم باعث افزایش عروق در بافت می‌شوند. از طرفی به نظر می‌رسد عصاره دارویی برخی گیاهان می‌تواند با مسیرهای فاکتور رشدی در تعامل باشد.

هدف: هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین هوازی فزاینده و عصاره سیاه ولیک بر میزان تغییرات VEGF و آنژیوپویتین ۱ و ۲ پلاسما در موش‌های صحرایی نر ویستار بود.

روش بررسی: ۳۲ سر موش صحرایی نر (۴ تا ۶ ماهه) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل- سالین، تمرین- سالین، کنترل- سیاه ولیک، تمرین- سیاه ولیک تقسیم شدند. مقدار یک میلی‌لیتر عصاره آبی سیاه ولیک به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن موش به صورت دهانی بلافاصله پس از تمرین، ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته از پایان هفته دوم به موش‌ها داده شد و نمونه‌های خونی در پایان تیمار جهت اندازه‌گیری متغیرهای مورد نظر جمع‌آوری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ تحلیل شد.

نتایج: نتایج نشان داد تمرینات استقامتی فزاینده، غلظت VEGF پلاسما را در گروه تمرین، گروه عصاره سیاه ولیک و گروه ترکیب عصاره سیاه ولیک- تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش داشت. غلظت آنژیوپویتین ۱ پلاسما در گروه‌های تمرین، سیاه ولیک و ترکیب عصاره سیاه ولیک- تمرین کاهش و تغییرات آنژیوپویتین ۲ پلاسما در گروه عصاره سیاه ولیک (P= ۰/۰۲۲) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. نسبت ANG2/1 پلاسما در گروه عصاره سیاه ولیک (P= ۰/۰۲۸) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد ترکیب عصاره سیاه ولیک و تمرین هوازی بر شاخص‌های آنتی آنژیوژنز اثر سینرژیستی ندارند.

گل‌واژگان: آنژیوپویتین ۱، ۲، تمرین هوازی، عصاره سیاه ولیک، VEGF

www.SID.ir

مقدمه

به خوبی مشخص شده عدم فعالیت بدنی باعث افزایش خطر ابتلاء به بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله آترواسکلروز می‌شود [۲-۱]. بیماری عروق کرونر، سکته مغزی و بیماری‌های عروق محیطی از نشانه‌های بالینی آترواسکلروز می‌باشند [۳۱]. گزارش شده که فعالیت بدنی می‌تواند از طریق کاهش هیپرلیپیدمی (Hyperlipidemia)، فشار خون بالا، چاقی، تراکم پلاک‌ها (Platelet aggregability)، افزایش حساسیت به انسولین و بهبود تحمل به گلوکز، تأثیر مفیدی بر عوامل خطرزای ابتلا به آترواسکلروز داشته باشد [۴]. با این وجود، اطلاعات اندکی درخصوص مکانیزم‌های مولکولی تعاملی بین سیستم‌های فیزیولوژیک، فعالیت بدنی و رابطه آن با آترواسکلروز وجود دارد. شواهد اخیر حاکی از نقش حیاتی آنژیوژنز در پیشرفت آتروژنز (Atherogenesis) دارد [۵].

فاکتورهای آنژیوژنیکی مجموعه‌ای از فاکتورهای رشدی هستند که طی فعالیت بدنی آزاد شده و زمینه عروقی شدن بافت را فراهم می‌سازند. از میان فاکتورهای آنژیوژنیک، فاکتور رشد اندوتلیال عروق (Vascular endothelial growth factor) (VEGF) بعنوان قوی‌ترین میتوژن اختصاصی سلول‌های اندوتلیال، شناخته شده است [۶]. کراس و همکاران (Kraus et al) (۲۰۰۴) عدم تفاوت در سطوح استراحتی پروتئین VEGF را بین مردان ورزیده استقامتی با گروه همسالان بی تحرک را گزارش نمودند. در حالی که بلافاصله و دو ساعت پس از یک جلسه فعالیت هوازی تا حد واماندگی افزایش در VEGF پلاسما در افراد ورزشکار مشاهده شد. اما تغییر معنی‌داری در گروه بی‌تحرک ایجاد نشد [۷]. وان کرانن بروک و همکاران (Van Craenenbroeck et al) (۲۰۰۸) افزایش غلظت VEGF سرم را پس از یک جلسه فعالیت استقامتی فزاینده گزارش نمودند [۸]. همچنین سوزکی و همکاران (Suzuki et al) (۲۰۰۵) نشان دادند در موش‌هایی که همراه با تمرین از ال آرژنین استفاده نموده‌اند میزان تولید VEGF بیشتری از موش‌هایی نسبت به موش‌های تمرین کرده داشتند. بنابراین بیان کردند که ال آرژنین از طریق افزایش میزان تولید NO موجب افزایش VEGF می‌شود [۹].

یکی دیگر از فاکتورهای آنژیوژنیک آنژیوپویتین می‌باشد [۱۰]. در پاسخ به فعالیت بدنی برای وقوع فرایند آنژیوژنز باید میزان Ang-2 بیشتر از Ang-1 باشد، چون که این فرایند منجر به تشکیل مویرگ جدید می‌شود [۱۰]. لایود و همکاران (Lloyd et al) (۲۰۰۳) مشاهده کردند دویدن روی تردمیل با سرعت ۲۰ تا ۲۵ متر در دقیقه ۴ بار در روز، پس از ۲۴ روز نسبت Ang-2/Ang-1 در عضلات کند و تند انقباض در رت را افزایش می‌دهد و این افزایش عمدتاً ناشی از افزایش Ang-2 می‌باشد. اگر چه در عضلات کند انقباض کاهش Ang-1 نیز در افزایش نسبت Ang-2/Ang-1 سهیم بود [۱۱].

از طرفی علاقه به داروهای گیاهی باعث افزایش رشد و مصرف آنها شده است. به خاطر عوارض جانبی داروهای معمول استفاده از فرآورده‌های گیاهی و طبیعی بعنوان درمان سنتی تعداد زیادی از بیماری‌ها در چند دهه اخیر بیشتر شده است. یکی از گیاهان دارویی که امروزه در درمان ضایعات قلبی و گردش خون استفاده می‌شود، گیاهی از تیره گل سیاه به نام سیاه ولیک (Crataegus elbursensis) است [۱۲،۱۳]. عصاره ولیک در اغلب داروهای گیاهی فرآوری شده وجود دارد و در تعدادی از کشورهای اروپایی برای درمان نارسایی احتقانی قلب استفاده می‌شود. نشان داده شده است که عصاره دارویی گیاه ولیک می‌تواند با مسیرهای فاکتور رشدی در تعامل باشد و اثرات مثبتی بر اندوتلیال دارد [۱۶]. همچنین، اثر بخشی و ایمنی داروی گیاهی ولیک توسط آزمایشات متعدد بالینی ثابت شده است [۱۴،۱۵]. عصاره شامل دو گروه از ترکیبات پلی‌فنلی (Polyphenolic) و مخلوطی از فلاونوئیدهای منومر (Monomeric flavonoids) و پروسیانیدین اولیگومریک (Oligomeric procyanidins) (OPCs) می‌باشد [۱۶]. مشخص شده عصاره دارویی گیاه ولیک باعث مهار فعالیت سلولی سنتز DNA مولکول PDGF شده درحالی‌که بر bFGF تأثیری نداشت [۱۶].

درباره اثرات سیاه ولیک بر عوامل آنژیوژنیک مطالعه‌ای به بررسی اثرات این گیاه بر عوامل آنژیوژنیک (مثل VEGF, AngI, II) نپرداخته است. فعالیت و تمرینات

Archive of SID
www.SID.ir

با شدت، نوع و مدت‌های مختلف موجب پاسخ و سازگاری قلبی عروقی از طریق سازوکارهای متفاوت می‌شود. به دلیل گستردگی موضوعی این حیطه و تنوع فعالیت‌های بدنی و نتایج گزارش شده در نمونه‌های انسانی و حیوانی تمایل به تخصصی شدن تأثیر فعالیت بدنی مورد توجه قرار گرفته است. با این حال تأثیر شدت‌های بالای فعالیت بدنی اندکی مورد مناقشه می‌باشد بویژه درباره تأثیر این نوع فعالیت بر عوامل تحریکی و مهار رشد عروقی بالاخص روند مویرگ‌زایی شک و تردید قوی‌تر است [۱۷،۱۸]. همچنین مطالعاتی که در زمینه تأثیر فعالیت بدنی بر فرایند آنژیوژنز در پلاسما صورت گرفته بسیار محدود است. از طرفی تحقیقی به تأثیر فعالیت‌های بدنی بر تغییرات آنژیوپویتین ۱ و ۲ پلاسما در نمونه انسانی و حیوانی نپرداخته است. از طرفی هنوز مدارک و شواهد کافی در خصوص همزمانی تأثیر مکمل گیاهی سیاه ولیک بر عوامل مؤثر در سلامت قلب و عروق به همراه فعالیت بدنی در نمونه‌های انسانی و حیوانی وجود ندارد. بنابراین، این پژوهش قصد دارد تا تأثیر همزمانی تمرین با شدت بالا به همراه عصاره سیاه ولیک (کراتاگوس) را بر سطوح VEGF، آنزیوپویتین I و II پلاسمایی در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها

در یک کارآزمایی تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر چهار تا شش هفته‌ای نژاد ویستار از مرکز انستیتو پاستور آمل تهیه شدند. پس از انتقال آزمودنی‌ها به محیط آزمایشگاه، به مدت یک هفته (هفته اول) جهت تطابق با محیط جدید، در قفسه‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲: ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طی دوره پژوهش نیز حیوانات از غذای ساخت شرکت بهپرور به صورت پلت مصرف نمودند و آب مورد نیاز حیوان نیز به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ویژه در دسترس قرار داده شد. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان به طور تصادفی به ۴ گروه سیاه ولیک کنترل (۸ سر)، سیاه ولیک تمرین (۸ سر)، سالین کنترل (۸ سر)، سالین تمرین (۸ سر) تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی

در شروع برای مدت ۵ روز مرحله آشنایی نمونه‌ها با برنامه تمرینی و تردمیل اجرا شد. برنامه تمرین شامل دو مرحله به شرح ذیل می‌باشد: مرحله اول (مرحله اضافه بار): در این مرحله که دو هفته به طول انجامید موش‌ها با رعایت اصل اضافه بار به صورت فزاینده بین ۲۰ تا ۶۰ دقیقه و با سرعت بین ۲۸ تا ۳۴ متر در دقیقه تمرین کردند. مرحله دوم (حفظ یا تثبیت بار): موش‌های گروه تمرین پس از رسیدن به سرعت ۳۴ متر در دقیقه (معادل ۸۵VO2max درصد) و مدت ۶۰ دقیقه، تا پایان هفته هشتم این حجم کار را حفظ نمودند [۲۰]. حیوانات ۷۲ ساعت بعد از اخرین جلسه تمرینی کشتار شدند. سه ساعت قبل از کشتار به موش‌ها هیچ غذایی غیر از آب داده نشد.

شیوه تهیه عصاره و خوراندن

میوه‌های رسیده سیاه ولیک در اواسط پاییز از جنگل‌ها و مناطق کوهستانی شهر نکا جمع‌آوری و ابتدا به خوبی شسته شد. سپس، به وسیله یک دستگاه الکتریکی خشک کن در ۳۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ روز کاملاً خشک شد (قنبری و همکاران، ۱۳۹۲). پس از جدا کردن شاخه‌های نازک انتهایی از میوه‌های خشک شده، با استفاده از آسیاب خانگی (مولینکس) به خوبی خرد و کاملاً تا جایی که امکان دارد به پودر تبدیل شد. برای تهیه عصاره آبی ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۳ گرم پودر سیاه ولیک اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. محلول مورد نظر جهت حذف ذرات بزرگتر دکانته و ذرات کوچکتر با عبور از صافی غشائی حذف شدند عصاره حاصل در مجاورت هوا به سرعت خشک شد و پودر خشک حاصل پس از توزین در آب مقطر حل شده و به عنوان عصاره آبی مورد استفاده قرار گرفت. (سای و همکاران، ۲۰۰۴). مقدار یک میلی‌لیتر عصاره آبی سیاه ولیک به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن موش به صورت دهانی بلافاصله پس از تمرین، ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته از پایان هفته دوم به

Archive of SID
www.SID.ir

گروه‌های کنترل – سیاه ولیک و تمرین - سیاه ولیک خورانده شده و گروه‌های سالین (سرم فیزیولوژی) نیز همانند دو گره دیگر تیمار شدند.

جمع‌آوری پلاسما

۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی نمونه‌ها با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (Ketamine) (mg/kg ۵۰-۳۰) و زایلازین (Xylazine) (mg /kg ۵-۳) بی‌هوش شدند. نمونه‌های خون به صورت مستقیم از ورید اجوف تحتانی گرفته و پس از انتقال به لوله‌های آزمایشگاهی حاوی EDTA در ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما جمع‌آوری شد. پس از انجماد پلاسما به وسیله نیتروژن مایع تا زمان اندازه‌گیری VEGF، آنژیوپویتین ۱ و ۲ در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری غلظت پلاسمایی VEGF و آنژیوپویتین ۱ و ۲

غلظت VEGF و آنژیوپویتین ۱ و ۲ پلاسمایی به روش الایزا (Enzyme-linked immunosorbent assay) (دستگاه الایزا ریدر فومو (PHOMO) ساخت کشور چین) و با استفاده از کیت شرکت گلوری (Glory) ساخت کشور آمریکا، حساسیت کیت VEGF بیشتر از یک پیکوگرم در میلی‌لیتر، آنژیوپویتین ۱، ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر و آنژیوپویتین ۲ نیز ۱/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر، اندازه‌گیری شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرمالیتی توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف – اسمیرنف مورد سنجش قرار گرفت. سپس برابری واریانس‌ها با استفاده از آزمون لوین ارزیابی شد. با توجه به برقرار بودن پیش شرط‌های استفاده از آمار پارامتریک، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به منظور بررسی تفاوت‌های بین گروه‌ها استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین منشاء تفاوت استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمام موارد $P\leq$ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

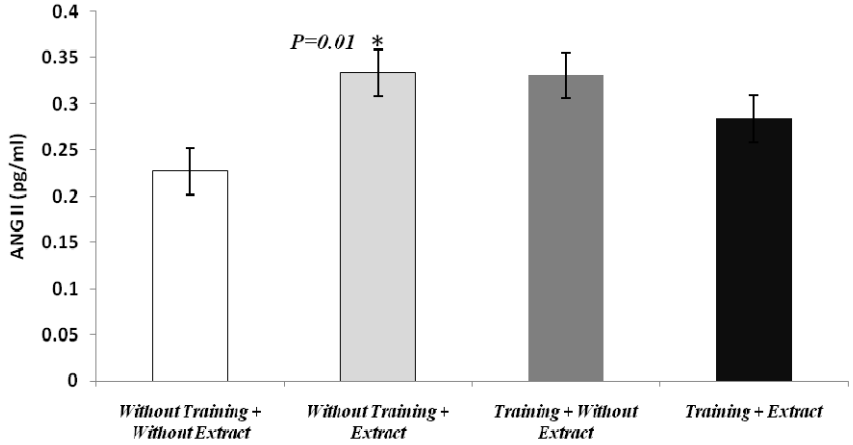
نتایج

غلظت VEGF پلاسما در گروه‌های تمرین، سیاه ولیک و سیاه ولیک- تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش غیر معنی‌دار داشت که این کاهش در گروه سیاه ولیک نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود. (جدول شماره ۱) همچنین بین گروه‌های دیگر با هم هیچ ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. غلظت آنژیوپویتین ۱ نیز در گروه‌های تمرین، سیاه ولیک و سیاه ولیک- تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش غیرمعنی‌دار داشت (جدول شماره ۱). تغییرات آنژیوپویتین ۲ پلاسما در گروه سیاه ولیک (P= ۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد، در گروه‌های تمرین و تمرین – سیاه ولیک نیز نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی‌داری مشاهده شد (شکل شماره ۱). همچنین، نسبت ANG2/1 پلاسما در گروه سیاه ولیک (P=۰/۰۲۸) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت و از طرفی این تغییرات در گروه‌های تمرین و تمرین – سیاه ولیک نسبت به گروه کنترل افزایش غیرمعنی‌داری داشت. (شکل شماره ۲).

جدول شماره ۱- تغییرات متغیرهای پژوهشی، نتایج به صورت میانگین± انحراف استاندارد.

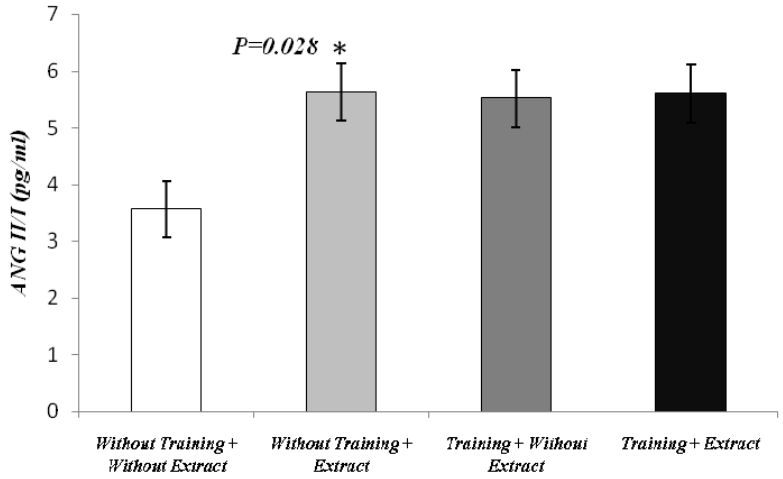
گروه‌ها / شاخص‌ها	کنترل (سالین)	تمرین	سیاه ولیک	سیاه ولیک تمرین
VEGF پلاسما ng/ml	۱۳/۷۳۵ ± ۸/۵۹۴	۱۲/۳۱۳ ± ۴/۷۷۹	۹/۱۳۲ ± ۲/۶۶۷	۱۲/۰۹۷ ± ۴/۶۷۶
ANGI پلاسما pg/ml	۰/۰۷۱ ± ۰/۰۶۳	۰/۰۷ ± ۰/۰۱۲	۰/۰۶۷ ± ۰/۰۰۶	۰/۰۵۹ ± ۰/۰۰۶

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۱- تغییرات آنژیوپویتین۲ پلاسما

*افزایش معنادار گروه سیاه ولیک نسبت به گروه کنترل



شکل شماره ۲- تغییرات نسبت ANGII/I پلاسما

*افزایش معنادار گروه سیاه ولیک نسبت به گروه کنترل

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که فعالیت ورزشی استقامتی شدید VEGF پلاسمایی را در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد. در این راستا، جیان و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که کاهش VEGF به دنبال ورزش به این معنی نیست که فعالیت ورزشی میزان تولید VEGF را کاهش می‌دهد، اما امکان دارد که این کاهش موقتی VEGF در پاسخ به ورزش، ناشی از اتصال VEGF به گیرنده‌های موجود بر روی سلول‌های اندوتلیال باشد که این اتصال، محرکی برای رخ دادن فرایند آنژیوژنز در عضله قلبی و اسکلتی [۱۹،۲۰] و همچنین اتصال به سلول‌های مغز استخوان برای افزایش فراخوانی EPC (Endothelial progenitor cell) و اتصال به آلفا ماکروگلوبین می‌باشد [۱۹،۲۱]. مشخص شده VEGF نقش مهمی در فراخوانی EPC از مغز قرمز استخوان دارد. لازم به ذکر است که میزان EPC متعاقب فعالیت بدنی افزایش می‌یابد [۲۶]. همچنین تحقیقات نشان داده‌اند که ناتریوتیک پپتیدهای ANP (Atrial natriuretic peptide) و BNP (Brain natriuretic peptide) نقش عمده‌ای را در تنظیم VEGF سرم و پلاسما ایفا می‌کنند [۲۲]. پپتیدهای ANP و BNP عمدتاً در قلب و مغز تولید می‌شوند. عمل

www.SID.ir

اصلی این دو پپتید کاهش فشار خون و ایجاد تعادل در نمک و آب بدن می‌باشد [۲۲،۲۳]. تحقیقات نشان داده‌اند که پپتیدهای ناتریوتیک مانع از تکثیر سلول‌های اندوتلیال می‌شوند [۲۲،۲۳]. در همین راستا نشان داده شده ANP مانع از تولید VEGF در سلول‌های اندوتلیال می‌شود. از طرفی نشان داده شده میزان پپتیدهای ناتریوتیک در پاسخ به فعالیت حاد افزایش می‌یابد [۲۲،۲۳]. بنابراین این احتمال وجود دارد که یکی از دلایل کاهش VEGF در پاسخ به فعالیت ناشی از افزایش بازدارنده‌های تولید VEGF یعنی ANP باشد. با این وجود، در این مطالعه میزان تغییرات ANP اندازه‌گیری نشد، البته در این زمینه به مطالعات بیشتری نیاز است. همچنین یکی دیگر از دلایل کاهش VEGF در پاسخ به فعالیت بدنی را می‌توان از دیدگاه سوماتوستاتین توضیح داد. سوماتوستاتین هورمونی است که مانع از رشد سلول و فرایند آنژیوژنز می‌شود [۱۹،۲۲]. یکی از این گیرنده‌ها sst2-R است که روی سلول‌های اندوتلیال نیز قرار دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که اتصال سوماتوستاتین به گیرنده sst2-R مانع از تولید VEGF در سلول‌های اندوتلیال می‌شود. از طرفی در پاسخ به فعالیت حاد میزان ترشح سوماتوستاتین افزایش می‌یابد [۲۲]. پس این امکان نیز وجود دارد که افزایش سوماتوستاتین در پاسخ به فعالیت، عامل کاهش و عدم ترشح VEGF باشد. از طرفی گاوین و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند عضلات اسکلتی توانایی مصرف VEGF سرم و پلاسما را در حین فعالیت دارند [۲۴]. اگر چه این موضوع توسط هافنر و همکاران (۲۰۰۳) تایید شده است. هافنر عقیده دارد مسیر VEGF، از عضله به سمت گردش خون است [۲۰]. البته به نظر محققین این تناقضات درباره برداشت یا عدم برداشت VEGF توسط عضلات اسکلتی به نوع تارهای عضله اسکلتی (کند انقباض، تند انقباض) بستگی دارد [۲۴] که در این زمینه به مطالعات بیشتری نیاز است.

همچنین مطالعات صورت گرفته در این زمینه نشان داده‌اند مهم‌ترین عامل تنظیم میزان VEGF سرم دو ساعت بعد از فعالیت، میزان نسخه‌برداری VEGF در عضله اسکلتی می‌باشد. در همین راستا رولمن و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند دو ساعت بعد از فعالیت میزان mRNA و پروتئین VEGF در عضله اسکلتی به ترتیب ۶ و ۱/۶ برابر افزایش می‌یابد [۲۵]. در راستای این تحقیق کراس و همکاران (Kraus et al) (۲۰۰۴) در مقایسه VEGF سرم و پلاسما نشان دادند، افرادی که VEGF پلاسمایی بالایی داشتند، میزان پروتئین VEGF سرم آنها نیز بالا بود [۷]. این امکان وجود دارد که شدت تمرین، مدت تمرین و زمان خونگیری از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر میزان ترشح VEGF پلاسما باشند.

همچنین می‌توان اظهار داشت که مقادیر VEGF سرمی متعاقب فعالیت ورزشی از مقادیر VEGF پلاسمایی بیشتر است. فعالیت ورزشی در موش‌ها موجب بیان معنی‌دار VEGF در مغز، ریه و عضله اسکلتی می‌شود [۲۷]. از طرفی پلاکت‌ها [۲۸]، سلول‌های T و مونوسیت‌ها [۷] طی فعالیت ورزشی فعال می‌شوند. مقادیر عمده‌ای VEGF به داخل خون ترشح می‌کنند. بنابراین، اجزای مختلفی در افزایش سطوح سرمی VEGF مشارکت می‌کنند که ممکن است صرفاً ناشی از خود عضله نباشند.

از طرف دیگر غلظت آنژیوپویتین ۱ نیز در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش غیر معنی‌داری داشت. تغییرات آنژیوپویتین ۲ و نسبت ANG2/1 پلاسما نیز تنها در گروه عصاره سیاه ولیک نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. در این راستا، پاملا و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند ۲۴ روز فعالیت نسبت Ang-2/Ang-1 را در عضلات کند و تند انقباض رت‌ها افزایش می‌دهد [۲۹]، این افزایش عمدتاً ناشی از افزایش Ang-2 می‌باشد. اگر چه در عضلات کند انقباض کاهش Ang-1 نیز در افزایش نسبت Ang-2/Ang-1 سهیم بود. نتایج یان هونگ و همکاران (۲۰۰۴) پس از ۶ هفته تمرین در موش‌های صحرایی نشان داد که میزان آنژیوپویتین ۲ و VEGF افزایش می‌یابد [۳۰]. افزایشی ترشح آنژیوپویتین-۲ موجب تخریب اولیه پیوند بین سلول‌های آندوتلیال و سلول‌های عضله صاف می‌شود و PDGF-ββ نیز موجب ثبات بین سلول‌های عضله صاف و سلول‌های آندوتلیال جوانه می‌شود و از این طریق موجب مهاجرت سلول آندوتلیال و تشکیل جوانه می‌شوند [۳۱]. در

Archive of SID
www.SID.ir

پاسخ به فعالیت بدنی برای آغاز فرایند آنژیوژنز باید میزان Ang-2 بیشتر از Ang-1 باشد، زیرا این فرایند منجر به تشکیل مویرگ تازه می‌شود. نتایج تحقیقات صورت گرفته در این زمینه نشان می‌دهد تغییرات به وجود آمده درآنژیوپویتین علاوه بر مدت و شدت تمرینات، به نوع انقباض نیز بستگی دارد. در همین رابطه ناکامورا و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند پس از تمرینات درونگرا میزان Ang-2/Ang-1 نسبت به تمرینات برونگرا بیشتر است [۳۳].

عصاره سیاه ولیک دارای ترکیباتی از قبیل فلاونویید و پروسیانیدین‌ها می‌باشد [۳۵] و پروسیانیدین‌ها نیز باعث کاهش اندوتلین-۱ و افزایش نیتریک اکساید می‌شوند [۳۷-۳۶] همچنین یکی از فعالیت‌های بیولوژیکی نیتریک اکساید مهار تکثیر و مهاجرت VSMCs می‌باشد [۳۸]. رابرت و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی نشان دادند که عصاره دارویی گیاه ولیک می‌تواند با مسیرهای فاکتور رشدی در تعامل باشد. عصاره دارویی گیاه ولیک باعث سرکوب فعالیت سلولی سنتز DNA مولکول PDGF گردید. جالب اینکه عصاره گیاه ولیک باعث مهار PDGF شد، درحالی که بر bFGF تأثیری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که ولیک به طور انتخابی از مسیر سیگنالی PDGF عمل می‌کند. یافته‌ها همچنین نشان می‌دهد که عصاره گیاه ولیک باعث کاهش اتوفسفوریلاسیون PDGFR (Autophosphorylation) در فیبروبلاست می‌شود. مهم‌تر از آن کراتاگوس (۱ تا ۱۰۰ گرم در لیتر) به وضوح باعث مهار فعالیت اتوفسفوریلاسیون PDGFR در VSMCs می‌شود. علاوه بر این عصاره گیاه ولیک به شدت باعث تضعیف فعالیت (فسفوریلاسیون) MAP کیناز ERK می‌شود، که کیناز مؤثر پایین دست PDGF و عامل مؤثر تکثیر و مهاجرت VSMC است [۳۴]. مهاجرت و گسترش VSMCs منجر به ضخیم شدن انتیما و از عوامل مهم در پاتوژنز (Pathogenesis) تنگی مجدد عروق کرونر است [۳۴].

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد عصاره سیاه ولیک در مقایسه با تمرین هوازی و حتی ترکیب عصاره و تمرین هوازی بر شاخص‌های آنتی آنژیوژینزیز اثرگذاری بیشتری دارد. به دلیل پیچیده بودن پدیده آنژیوژینزیزو تعدد عوامل اثرگذار بر آن، توصیه می‌شود جهت درک بهتر اثر ترکیب عصاره سیاه ولیک و تمرین هوازی مطالعات تکمیلی بیشتری با دستکاری دوز عصاره و ویژگی‌های تمرین هوازی انجام پذیرد. لذا با توجه به اطلاعات کمی که درباره تأثیرات فعالیت ورزشی منظم و عصاره سیاه ولیک بر فاکتورهای آنژیوژنیک وجود دارد، و تأثیرات احتمالی آنها در جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان‌ها، جهش ژنتیک، ایجاد تومور و ...، در واقع می‌توان با اندازه‌گیری فاکتورهای آنژیوستاتیکی به همراه شاخص‌های آتروژنیک در پاسخ به مصرف این عصاره به نتایج مطلوب‌تری رسید.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی انجام شد. بدینوسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی و آزمودنی‌های این تحقیق اعلام می‌دارند.

منابع

1. Booth FW, Gordon SE, Carlson CJ and Hamilton MT. Waging war on modern chronic diseases: primary prevention through exercise biology. *J. Applied Physiol*. 2000; 88 (2): 774 - 87.

2. Manson JAE, Hu FB, Rich-Edwards JW, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. A prospective study of walking as compared with vigorous exercise in the prevention of coronary heart disease in women. *New England Journal of Medicine* 1999; 341 (9): 650 - 8.

3. Berlin JA and Colditz GA. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *American Journal of Epidemiol*. 1990; 132 (4): 612 - 28.

4. Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JD, Feinberg WM and et al. Risk

Archive of SID
www.SID.ir

factors. *Stroke* 1997; 28 (7): 1507 - 17.

5. O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, Stewart DK, Hinohara T, Simpson JB and et al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *The American J. Pathol*. 1994; 145 (4): 883.

6. Asano M, Asano M, Kaneoka K, Nomura T, Asano K and Sone H. Tsurumaru KFind all citations by this author (default). Or filter your current search, et al. Increase in serum vascular endothelial growth factor levels during altitude training. *Acta Physiologica Scandinavica* 1998; 162 (4): PP: 455-460.

7. Kraus RM, Stallings HW, Yeager RC and Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J. Appl. Physiol*. 2004; 96: 1445 - 50.

8. Van Craenenbroeck EM, Vrints CJ, Haine SE, Vermeulen K, Goovaerts I, Van Tendeloo VF, Hoymans VY and 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: 1006 - 13.

9. Suzuki J. Microvascular angioadaptation after endurance training with l-arginine supplementation in rat heart and hindleg muscles. *Experimental Physiol*. 2005; 90 (5): 763 - 71.

10. Gustafsson T, Rundqvist H, Norrbom J, Rullman E, Jansson E and Sundberg CJ. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. *J. Applied Physiol*. 2007; 103 (3): 1012 - 20.

11. Lloyd PG, Prior BM, Yang HT and Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiol*. 2003; 284 (5): H1668 - H78.

12. K. Zatterstrom U, Felbor U, Fukai N and R. Olsen B. Collagen XVIII/endostatin structure and functional role in angiogenesis. *Cell Structure and Function* 2000; 25 (2): 97 - 101.

13. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS and et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; 88 (2): 277 - 85.

14. Boehm T, Folkman J, Browder T and O'Reilly MS. Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature* 1997; 390 (6658): 404 - 7.

15. Richardson R, Wagner H, Mudaliar S, Saucedo E, Henry R and Wagner P. Exercise adaptation attenuates VEGF gene expression in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiol*. 2000; 279 (2): H772 - H8.

16. Wang J, Xingjiang X and Bo F. Effect of Crataegus Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2013, ID 149363, PP: 1 - 12.

17. Celletti FL, Hilfiker PR, Ghafouri P and Dake MD. Effect of human recombinant vascular endothelial growth factor165 on progression of atherosclerotic plaque. *Journal of the American College of Cardiol*. 2001; 37 (8): 26 - 30.

18. Gustafsson T and Kraus WE. Exercise-induced angiogenesis-related growth and transcription factors in skeletal muscle, and their modification in muscle pathology. *Front Biosci*. 2001; 6: 75 - 89.

19. GU JW, Gadonski G, Wang J, Makey I and Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol*. 2004;4: 1 - 6.

20. Hoffnerb L, Nielsen JJ, Langberg H and Hellsten Y. Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in human skeletal muscle interstitium. *J. Physiol*. 2003; 550: 217 - 25.

21. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M and et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic

Archive of SID
www.SID.ir

endostatin signalling in overweight men aged 50–60 years, *Br. J. Sports Med*. 2008; 42: 126 - 9.

22. Jian GU, Giovani G, Julie W and Ian M. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol*. 2004; 4: 1 - 6.

23. Ferrara N and Smith T.D. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Rev*. 1997; (18) 1: 426 - 33.

24. Gavin TP, Robinson CB, Yeager RC, England JA, Nifong LW and Hickner RC. Angiogenic growth factor response to acute systemic exercise in human skeletal. muscle. *J. Appl. Physiol*. 2004; 96: 19 - 24.

25. Rullman E, Rundqvist H, Wagsater D, Fischer H, Eriksson P, Sundberg CJ, Jansson E and Gustafsson T. A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol*. 2007; 102: 2346 - 51.

26. Suhr F, Brixius K, de Marées M, Bölck B, Kleinöder H, Achtzehn S and et al. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. *J. Applied Physiol*. 2007; 103 (2):474 - 83.

27. Tang K, Xia FC, Wagner PD and Breen EC. Exercise-induced VEGF transcriptional activation in brain, lung and skeletal muscle. *Respiratory Physiology & Neurobiol*. 2010; 170 (1): 16 - 22.

28. Shen M, Gao J, Li J and Su J. Effect of ischaemic exercise training of a normal limb on angiogenesis of a pathological ischaemic limb in rabbits. *Clinical Science* 2009; 117: 201 - 8.

29. Lloyd PG, Prior BM, Yang HT and Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiol*. 2003; 284 (5): H1668 - H78.

30. Ding YH, Luan XD, Li J, Rafols JA, Guthinkonda M, Diaz FG and et al. Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. *Current Neurovascular Res*. 2004; 1 (5): 411 - 20.

31. Nourshahi M, Hedayati M and Ranjbar K. The correlation between resting serum leptin and serum angiogenic indices at rest and after submaximal exercise. *Regulatory Peptides* 2012; 173 (1): 6 - 12.

32. Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: review. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2007; 38 (3): 258 - 68.

33. Nakamura K, Kitaoka K and Tomita K. Effect of eccentric exercise on the healing process of injured patellar tendon in rats. *Journal of Orthopaedic Science* 2008; 13 (4): 371 - 8.

34. Fürst R, Zirrgiebel U, Totzke F, Zahler S, Angelika M and Koch E. The Crataegus extract WS® 1442 inhibits balloon catheter-induced intimal hyperplasia in the rat carotid artery by directly influencing PDGFR- B. *Atherosclerosis* 2010; 211: 409 - 17.

35. Busse WR, Juretzek W and Koch E. Hawthorn (Crataegus). In: Coates P, Blackman MR, Cragg G (eds) Encyclopedia of dietary supplements. Marcel Dekker, New York, 2005; 337 - 47.

36. Schmitt CA and Dirsch VM. Modulation of endothelial nitric oxide by plant-derived products. *Nitric Oxide* 2009; 21: 77 - 91.

37. Garcia-Conesa MT, Tribolo S, Guyot S, Tomas-Barberan FA and Kroon PA. Oligomeric procyanidins inhibit cell migration and modulate the expression of migration and proliferation associated genes in human umbilical vascular endothelial cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009; 53: 266 - 76.

38. Walford G and Loscalzo J. Nitric oxide in vascular biology. *J. Thromb Haemost* 2003; 1: 2112 - 8.

Archive of SID
www.SID.ir