Archive of SID

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۵ (۱)، ۱۲۴ – ۱۳۲
بهار ۱۳۹۰

بررسی سطوح سرمی فاکتورهای آنژیوژنیکی در پاسخ به یک جلسه فعالیت زیربیشینه طولانی مدت در مردان غیر فعال

کمال رنجبر[1*]، مریم نورشاهی[1]، مهدی هدایتی[2]، حسین طاهری چادرنشین[1]
۱. گروه فیزیولوژی ورزش دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۲. مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

دریافت: ۸ شهریور ۸۹ پذیرش: ۱۵ دی ۸۹

چکیده

مقدمه: تمرینات ورزشی باعث افزایش چگالی مویرگی عضله اسکلتی می شود. اما مکانیسم مولکولی این فرایند هنوز به طور کامل مشخص نیست، از این رو هدف از انجام این تحقیق بررسی تاثیر فعالیت حاد زیر بیشینه استقامتی بر فاکتورهای آنژیوژنیکی، فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF) به عنوان مهمترین میتوژن مخصوص سلول‌های اندوتلیال و ماتریکس متالوپروتئینازهای ۲ و ۹ (MMP-2 , MMP-9) به عنوان تجزیه کننده های غشای پایه مویرگ، در مردان سالم غیرفعال بود.

روش ها: ۱۲ مرد سالم غیرفعال با دامنه سنی ۲/۷۴± ۲۲/۹۱ ساله و ۲/۷۴ ± BMI–۲۳/۹۱ از بین داوطلبان بطور تصادفی انتخاب شدند. پس از تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی(VO_2 max) ،آزمودنی‌ها ۱ ساعت بر روی دوچرخه با ۷۰ % VO_2 max رکاب زدند. ۲ میلی‌لیتر خون قبل، بلافاصله و دو ساعت بعد از ورزش از سیاهرگ آنتی‌کوبیتال گرفته شد. سپس میزان VEGF ،MMP-2 و MMP-9 سرم به وسیله کیت الایزا مورد اندازه‌گیری قرارگرفت.

یافته ها: میزان VEGF و MMP-2 سرم بلافاصله بعد از فعالیت کاهش یافت. میزان VEGF در دو ساعت بعد از فعالیت نسبت به سطح پایه در سطح پایین‌تری باقی ماند. میزان MMP-2 سرم در دو ساعت بعد از فعالیت دوباره به سطح پایه برگشت. همچنین میزان MMP-9 سرم در پاسخ به ورزش، تغییر نکرد.

نتیجه گیری: از آنجایی که فعالیت زیر بیشینه حاد، اصلی‌ترین فاکتورهای آنژیوژنیکی درگیر در توسعه شبکه مویرگی را در مردان جوان سالم غیر فعال به طور موقت کاهش داد؛ احتمال دارد شدت متوسط تمرین نتوانسته عوامل اصلی محرک آنژیوژنز از جمله هایپوکسی و استرس تنشی را فراهم کند. بنابراین برای توسعه شبکه مویرگی و در نتیجه آن افزایش ظرفیت هوازی باید با شدت بیشتر از ۷۰ % VO_2 max تمرین کرد. همچنین احتمالا" مکانیسم توسعه شبکه مویرگی به دنبال تمرینات منظم ورزشی نسبت به تمرینات تک جلسه‌ای متفاوت است.

واژه‌های کلیدی: آنژیوژنز ، VEGF، ماتریکس متالوپروتئینازها، فعالیت استقامتی

مقدمه

عدم فعالیت بدنی، تمرین‌های ورزشی و در نهایت فعالیت‌های ورزشی شدید و تمرین حرفه‌ای هر کدام سازگاری متفاوتی را به دنبال دارند که می تواند منشأ مطالعه سازوکارهای فرایند مولکولی مرتبط با آن‌ها باشد. سازگاریهای متعددی متعاقب تمرین‌های ورزشی در بدن صورت می گیرد. از عمده ترین این سازگاریها، افزایش چگالی مویرگی تار عضلانی است که این تغییر وابسته به فرایند آنژیوژنز[1] می باشد [۱۸،۳۵].

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: kamal_ranjbar2010@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

1. Angiogenesis

www.SID.ir

Archive of SID

آنژیوژنز به معنی شکل‌گیری مویرگ جدید از مویرگ‌های قبلی است [۲۴]. مکانیسم مولکولی فرایند آنژیوژنز در پاسخ به فعالیت ورزشی هنوز معلوم نیست و نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه دارد. آنژیوژنز فرایند پیچیده‌ای است که مستلزم فراهم شدن فاکتورهای آنژیوژنیک مختلف است. فاکتورهای آنژیوژنیک پس از اتصال به گیرنده‌هایشان که روی سلول‌های اندوتلیال قرار دارد موجب فعال شدن این سلول ها می شوند. با شروع فعالیت سلول‌های اندوتلیال، انواع خاصی از متالوپروتئینازها از سلول‌های فوق ترشح می شوند و غشای پایه را در منطقه مذکور تجزیه می کنند. با هضم غشای پایه، سلول های اندوتلیال اقدام به مهاجرت و تکثیر می نماید. علاوه بر این، مولکول های اتصالی از قبیل اینتگرین ($\alpha_v\beta_3$ و $\alpha_v\beta_5$) نیز به فرایند کشیدن و جلو رفتن جوانه های رگ های خونی در حال رشد کمک می کنند. در مراحل بعدی فرایند آنژیوژنز، ماتریکس متالوپروتئینازها[1]جهت تجزیه ماتریکس خارج سلولی و آغاز بازسازی مجدد آن تولید می شوند. سپس با برهم کنش آنژیوپوئیتین-۲ و گیرنده Tie-۲ فرایند تشکیل لوله آغاز می شود. در مرحله بعد، سیستم EphB-ephrinB نیز تنظیم فرایند تشکیل لوله ها را بر عهده گرفته و در نهایت پری سایت ها و سلول های ماهیچه‌ای صاف برای پایداری رگ خونی تازه تشکیل شده، به این ساختار اضافه می شوند [۳۶].

در فرایند آنژیوژنز فاکتورهای رشد آنژیوژنیکی و پروتئازها نقش کلیدی را ایفا می کنند [۳۸،۴۲]. از میان فاکتورهای آنژیوژنیک، فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF)[2] به عنوان قوی‌ترین میتوژن مخصوص سلول‌های اندوتلیال، شناخته شده است [۲۰]. VEGF پروتئین ترشحی با حجم مولکولی۳۵ تا ۴۵ کیلو دالتونی است که عمدتاً توسط سلول‌های اندوتلیال، عضله صاف، تاندون، پلاکت‌ها، تیموس و عضله اسکلتی ترشح می‌شود. VEGF دارای پنج ایزوفرم A, B, C, D و PDGF[3] است [۲۰،۳۸]. ایزوفرم های A و B بیشتر برای ساخت عروق خونی و ایزوفرم های C وD برای ساخت عروق لنفاوی به کار می روند. فعال ترین و فراوانترین ایزوفرم، VEGF-A می باشد [۴۵]. (در این تحقیق منظور از VEGF، VEGF-A می باشد).

عوامل مختلفی بر میزان تولیدVEGF تاثیرگذار هستند; که از مهمترین آن ها می‌توان هایپوکسی، فشارهای برشی[4]، انقباض و کشش عضله، کاهش غلظت گلوکز خون، انواع سایتوکین ها و HIF-1[5] را نام برد [۱۶،۴۰]. بیان ژنVEGF در انسان‌ها توسط کروموزم۶P۲۱،۳ صورت می گیرد [۴۵]. VEGF از طریق گیرنده های تیروزین کینازی (VEGFR-1 VEGFR-3, VEGFR-2) باعث رشد، تکثیر، زنده ماندن و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و افزایش نفوذپذیری عروق می شود [۲۵،۲۹].

از طرفی دومین مرحله آنژیوژنز به ترشح آنزیم‌های پروتئولتیک (ماتریکس متالوپروتئینازها) وابسته است. ماتریکس متالوپروتئینازها اندوپپتیدازهایی هستند که اولین بار در سال ۱۹۶۲ با شناخته شدن نقش آن‌ها در تکامل نوزاد قورباغه توسط گراس و لاپیر مطرح شدند[۵]. MMPs زیر مجموعه ای از پروتئازها هستند که بر اساس تشابه ساختاری و ویژگی سوبسترای اختصاصی به ۵ زیر گروه تقسیم می شود: ۱]کلاژنازها ۲] ژلاتینازها ۳] استرومیلیزین ها ۴] متالوپروتئینازهای غشایی ۵] و دیگر انواع MMPs [۴۲]. MMPs حدود ۲۴ آنزیم پروتئولیک هستند، که باعث تخریب غشای پایه مویرگ‌ها می شوند. این آنزیم‌ها از درون بر زنجیره پلی پپتید عمل می کنند و یک یا چند اسید آمینه را از بخش درونی ساختمان پروتئین کلاژن قطع می کنند. و زمینه لازم را برای مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال فراهم می کنند [۲،۱۴،۲۶]. این فرایند موجب جوانه زدن سلول های اندوتلیال از رگ قبلی می شود. مدارکی در دسترس است که به نقش MMPs در جدا کردن سلول‌های عضله صاف از ماتریکس برون سلولی اشاره دارد و این عامل اجازه مهاجرت را به سلول‌ها می دهد. فعالیت MMPs موقت و گذرا بوده و برای فرایندهای آنژیوژنز و ترمیم زخم ضروری می باشد [۲۲]. همچنین MMPs نقش مهمی را در رشد و تکامل آکسون در سیستم عصبی مرکزی ایفا می کند [۸]. نتایج بررسی ها نشان می دهد در فرایندهای پاتولوژیکی، کنترلی که روی تولید

1. Matrix Metalloproteinase; MMP
2. Vascular Endothelial Growth Factor
3. Placental Derive Growth Factor

4. Shear Stress
5. Hypoxia Inducible Factor - 1

www.SID.ir

Archive of SID

VEGF و MMPs است، برداشته شده و میزان تولید آن ها افزایش می یابد که نتیجه آن تشدید التهاب و بروز بیماری های مختلف مانند سرطان می باشد [۱۳]. در ابتدا، MMPs به شکل غیرفعال آن ترشح می شوند که بعداً توسط پلاسمین و دیگر آنزیم‌های خانواده MMPs فعال می شوند [۱۵،۳۳]. از خانواده MMPs دو آنزیم ژلاتیناز A یا MMP-2 (۷۲KDa) و ژلاتیناز B یا MMP-9 (۹۲KDa) نقش مهمی را در تخریب کلاژن ها و پروتئین های موجود در ماتریکس سلول را دارد [۳]. MMP-2 و MMP-9 بیشترین انتشار و فعالیت را در بین خانواده MMPs دارند. MMP-2 در فیبروبلاست‌ها، کندروسیت‌ها، سلول های اندوتلیال و مونوسیت‌ها و MMP-9 توسط نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، استئوکلاست‌ها، لنفوسیت‌های T و سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های سرطانی تولید می شود. ژلاتیناز های A و B می توانند به تعدادی از پیوندهای پپتیدی کلاژن حمله کرده و آن ها را بشکنند. سایرسوبستراهایی که ژلاتینازها می توانند برآن ها اثر کنند شامل کلاژن نوع ۴، ۵، ۷،۱۰، ۱۱، ژلاتین، فیبرونکتین و الاستین می باشد [۴۱،۴۴]. MMP-2 و MMP-9 هر دو پروتئین های یکسانی را تجزیه می کنند، ولی از نظر الگوی فعال شدن و نحوه بیان ژنی کاملاً با هم متفاوت هستند [۴۲].

اگر چه فعالیت های ورزشی توانایی تنظیم سطوح سرمی فاکتورهای آنژیوژنیکی را دارند تا بدین شکل از به وجود آمدن شرایط پاتولوژیکی مانند: آرتریواسکلروزیز و آرتریت روماتوئید جلوگیری کند، اما هنوز مکانیسم مولکولی شروع فرایند توسعه شبکه مویرگی در پاسخ به تمرینات ورزشی به خوبی شناخته نشده است [۳۰]. از طرفی، تاثیر ورزش روی VEGF سرم دارای نتایج متناقض است چنانکه امیلین و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که به دنبال فعالیت ورزشی حاد میزان VEGF سرم افزایش می یابد [۱۱] در حالی که فرانک و همکاران (۲۰۰۷) به دنبال فعالیت ورزشی حاد عدم تغییر VEGF سرم را گزارش کردند [۳۹]. از طرفی دیگر جیان وهمکاران (۲۰۰۴) کاهش غلظت VEGF سرم را گزارش کردند [۲۱]. تاکنون مطالعات کمی در مورد نقش MMPs در آنژیوژنز ناشی از ورزش صورت گرفته به همین دلیل پاسخ این آنزیم ها به فعالیت ورزشی به خوبی شناخته نشده اند. بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی تاثیر ورزش زیر بیشینه طولانی مدت بر فاکتورهای آنژیوژنیکیMMP-2 MMP-9 و VEGF سرم در مردان غیر فعال سالم می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه ۱۲ مرد غیر فعال سالم با میانگین سنی ۲/۳۰ ± ۲۲/۳۷ و ۲/۷۴ ± ۲۳/۹۱ = BMI[1] شرکت کردند. ابتدا آزمودنی ها پرسشنامه اطلاعات عمومی و سلامتی را کامل کرده و رضایت نامه کتبی را مبنی بر حضور داوطلبانه در این تحقیق امضا کردند. آزمودنی ها سابقه بیماری قلبی – عروقی و مصرف سیگار و یا هر نوع دارویی را نداشتند. نحوه انتخاب آزمودنی ها به صورت تصادفی ساده از میان داوطلبانی بودند که به صورت فراخوان ثبت نام کرده بودند. منظور از افراد غیر فعال کسانی بودند که در یک سال اخیر در هیچ گونه برنامه ورزشی منظم شرکت نکرده بودند. مشخصات آزمودنی ها در جدول شماره – ۱ خلاصه شده است.

از آزمودنی ها خواسته شد که در روز مشخص برای اندازه گیری شاخص توده بدنی(BMI) و تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی(VO_2 max) به آزمایشگاه مراجعه کنند. میزان VO_2 max از طریق دوچرخه کار سنج (Monark– آلمان) و دستگاه گاز آنالیزور (Cortex – آلمان) اندازه گیری شد. نحوه کار بدین صورت بود که آزمودنی ها به مدت ۵ دقیقه بدون مقاومت شروع به گرم کردن می کردند. بعد از گرم کردن، میزان بار کار به میزان ۵۰ وات افزایش می یافت. بعد از آن به ازای هر دو دقیقه، ۲۵ وات به میزان مقاومت دوچرخه افزوده می شد، تا آزمودنی به حالت واماندگی می رسید. آزمودنی ها برای رسیدن

جدول ۱- مشخصات توصیفی و فیزیولوژیکی آزمودنی ها

متغیرها	Mean ± SD
سن	۲۲/۳۷ ±۲/۳۰
BMI	۲۳/۹۱ ± ۲/۷۴
درصد چربی بدن	۱۳/۷۹ ± ۳/۵۱
VO_2 max	۳۷/۹۹ ± ۳/۸۲

BMI = body mass index

1. Body Mass Index

www.SID.ir

Archive of SID

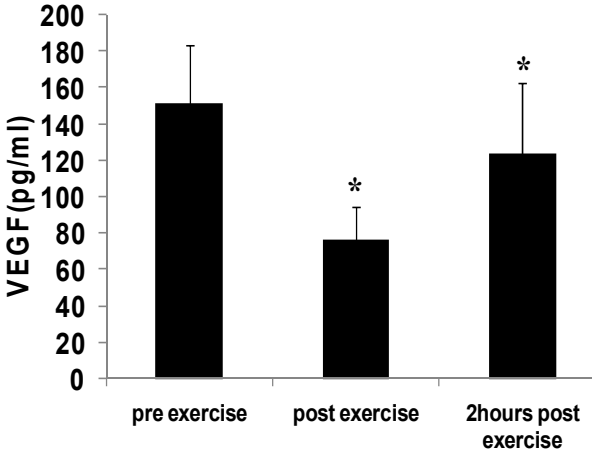
به حداکثر تلاش اجرایی به صورت کلامی تشویق می شدند. از سه معیار زیر برای تشخیص VO2 max استفاده کردیم. ۱ : وقتی که ضربان قلب به بیش از ۹۰ درصد ظربان بیشینه (سن –۲۲۰) برسد. ۲: نسبت تبادل تنفسی به بیش از ۱/۱ برسد. ۳ : میزان اکسیژن مصرفی علی رغم افزایش شدت تمرین به فلات برسد. رسیدن به ۲ معیار از ۳ معیار بالا برای متوقف کردن پروتکل کافی بود [۳۱].

۷۲ ساعت پس از تعیین VO_2 max، از آزمودنی ها درخواست شد مجدداً به آزمایشگاه مراجعه کنند. برای این افراد توصیه شده بود که ۴۸ ساعت قبل از این روز از فعالیت شدید خودداری کنند [۳۱]. سپس پروتکل اصلی که شامل یک ساعت رکاب زدن دوچرخه با شدت ۷۰٪ VO_2 max بود را انجام دادند. قبل، بلافاصله و دو ساعت بعد، از آزمودنی ها به میزان ۲ میلی لیتر خون از سیاهرگ زند اسفلی در حالت نشسته گرفته شد. در حین اجرا دستگاه گاز آنالیزور به آزمودنی ها وصل بود. نمونه خونی قبل از آزمون بعد از ۳۰ دقیقه استراحت گرفته شد. آزمودنی ها می توانستند در حین فعالیت آب بنوشند.

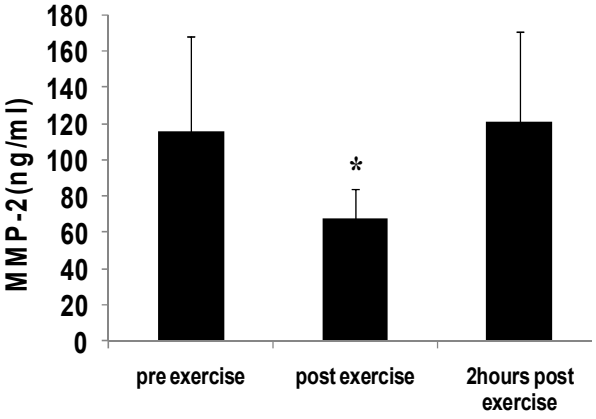
سرم نمونه های اخذ شده توسط روش سانتری فیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه ۱۰ به مدت دقیقه) جدا سازی شد و تا زمان اندازه گیری ها در دمای ۸۰ °C– نگهداری شد. برای آنالیز داده های مربوط به VEGF از کیت الایزا (VEGF-A, ELISA, USCN LIFE Science Inc Wuhan, P. R. China (Intraassay CV%: 7.1 & Sensitivity: 19.8 pg/ml)، برای MMP-2 از کیت الایزا (MMP-2, ELISA , USCN LIFE Science Inc, Wuhan , P R. china C.V = 7.2% sensitivity = 0.039 ng/ml) و برای MMP-9 از کیت الایزا (MMP-9, ELISA , USCN LIFE Science Inc, Wuhan , P .R. china C.V = 5.9% , sensitivity = 0.043 ng/ml) استفاده شد. کار آماری تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS با Ver=16 انجام شد. نرمال بودن داده ها توسط کولموگروف– اسمیرنوف مشخص شد. از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر و همچنین از آزمون تعقیبی بونفرونی برای بررسی تفاوت معناداری بین وهله های مختلف زمانی استفاده شد. داده ها به صورت mean ± SD نشان داده شده اند و سطح معناداری $P \leq 0.05$ مشخص شد.

یافته ها

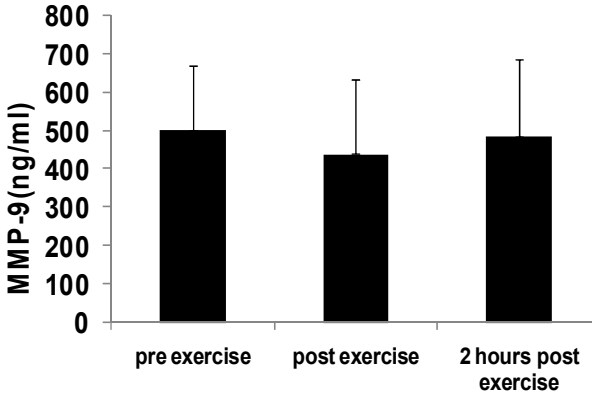
نتایج تحقیق نشان داد که یک جلسه فعالیت حاد میزان



شکل ۱- تغییرات VEGF در پاسخ به یک جلسه فعالیت حاد، * نشانه اختلاف معنادار نسبت به سطح قبل از فعالیت. سطح معناداری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد



شکل۲- تغییرات MMP-2 در پاسخ به یک جلسه فعالیت حاد، * نشانه اختلاف معنادار نسبت به سطح قبل از فعالیت، سطح معناداری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد



شکل۳- تغییرات MMP-۹ در پاسخ به یک جلسه فعالیت حاد، سطح معناداری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تغییرات VEGF ، MMP-2 و MMP-9 در پاسخ به فعالیت زیربیشینه استقامتی حاد

متغیر	قبل	بلافاصله	دو ساعت بعد
VEGF-A	۱۵۲/۱۷ ± ۳۱/۱۵	۷۷/۵۰ ±۱۸/۷۲ *	۱۲۴/۸۱±۳۹/۲۹ *
MMP-2	۱۱۶/۰۸ ±۵۲/۱۳	۶۸/۶۶ ±۱۶/۴۸ *	۱۲۱/۴۸ ± ۵۰/۶۲
MMP-9	۵۰۶/۳۱ ± ۱۶۸/۴۳	۴۴۰/۰۹ ±۱۹۴/۶۸	۴۸۵/۵۱ ±۲۰۱/۳۹

اعداد به صورت Mean ± SD نشان داده شده اند. * نشانه اختلاف معنادار نسبت به قبل از فعالیت. سطح معناداری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

VEGF سرم را تغییر داد ($F_{[2 , 22]} = ۳۰/۹۲$ ، $P = ۰/۰۰۰۱$). میزان VEGF سرم استراحتی بلافاصله بعد از فعالیت به میزان ۴۹٪ درصد کاهش یافت ($P = ۰/۰۰۰۱$) و در دو ساعت بعد از فعالیت نسبت به قبل تمرین در سطح پایین تری قرار داشت ($P = ۰/۰۱۵$). (نمودار-۱)

میزان MMP-2 سرم نیز تحت تاثیر فعالیت حاد قرار گرفت ($F_{[2 , 22]} = ۱۳/۵$, $P = ۰/۰۲۸$). میزان MMP-2 سرم بلافاصله بعد از فعالیت، ۴۱٪ کاهش یافت ($P = ۰/۰۳۰$). اما میزان MMP-2 در دو ساعت بعد از فعالیت مجدداً به سطح اولیه برگشت ($P = ۰/۲۱$). (نمودار – ۲)

همچنین نتایج تحقیق نشان داد که میزان MMP-9 تحت تاثیر یک جلسه فعالیت حاد قرار نگرفت; و میزان این آنزیم بلافاصله و در دو ساعت بعد از فعالیت به طور معناداری تغییر نکرد. ($F_{[2,22]} = ۰/۳۷$, $P = ۰/۶۹$) (نمودار -۳). مقادیر VEGF، MMP-2 و MMP-9 در قبل، بلافاصله و دو ساعت بعد در جدول – ۲ نشان داده شده است.

بحث

اولین یافته این تحقیق کاهش VEGF سرم بلافاصله بعد از ورزش بود که با یافته های دانزینگ و همکاران (۲۰۰۹) و املین و همکاران (۲۰۰۸) مخالف و با یافته های جیان و همکاران (۲۰۰۴) موافق بود. با توجه به اطلاعات موجود از بین محدود تحقیقات صورت گرفته که تاثیر فعالیت حاد را بر غلظت MMPs سرم مورد مطالعه قرار داده بودند این تحقیق اولین مطالعه ای است که کاهش MMP-2 سرم را متعاقب تمرین حاد گزارش کرده اند. دانزینگ و همکاران (۲۰۱۰) و املین و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که میزان VEGF بلافاصله و دو ساعت بعد از فعالیت تغییر نمی کند. همچنین دانزینگ و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که میزان MMP-2 در پاسخ به ورزش تغییری نمی کند این در حالی است که دانزینگ افزایش MMP-9 را بلافاصله بعد از فعالیت گزارش کرده بود [۴۳].

علت اختلاف نتایج این تحقیق با مطاله دانزینگ و املین می تواند مربوط به شدت و مدت فعالیت باشد. هر دوی این تحقیقات از پروتکل‌های وامانده ساز فزاینده کوتاه مدت (کمتر از ۲۰ دقیقه) استفاده کرده بودند و افزایش و عدم تغییر VEGF را گزارش کردند. در حالی که شدت تمرین در تحقیق حاضر ثابت (VO_2 max ۷۰٪) و مدت فعالیت طولانی تر (یک ساعت) بود، که این شدت تمرین منتج به کاهش VEGF سرم گردید. مطالعات قبلی نشان داده اند که افزایش شدت تمرین موجب افزایش میزان جریان خون و همچنین سرعت جریان خون می شود که هر دوی این عوامل به افزایش فشارهای برشی منجر می شود. فشارهای برشی با فعال کردن کانال‌های پتاسیمی موجب هایپرپلاریزاسیون و متعاقباً با آزادسازی کلسیم، مسیرهای پیام‌دهی درون سلولی را تحریک می‌کند که این امر موجب افزایش تولید نیتریک اکساید (NO) و افزایش میزان ترشح VEGF از سلول های اندوتلیال می شود [۳۹]. از طرفی، نتیجه تحقیق حاضر مخالف با تحقیق کوسکینن[1] و همکاران (۲۰۰۱) است که عدم تغییر MMP-2 سرم را متعاقب فعالیت حاد گزارش کرده بود [۲۳].

دلیل آن ممکن است نوع تمرینی باشد که در آن تحقیق از دویدن در سرازیری که یک تمرین برونگرا بود استفاده شده بود. تمرینات برونگرا باعث افزایش آسیب دیدگی تارهای عضلانی و ایجاد التهاب می شوند. فاکتورهای التهابی مانند اینترلوکین-۱ و تومور نکروز فاکتور الفا[2] فرایند نسخه برداری و ترجمه متالوپروتئینازها را تغییر می دهند. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد میزانMMP-9 در پاسخ به فعالیت تغییری

1. Koskinen
2. Tumour Necrosis Factor - α

www.SID.ir

Archive of SID

نکرده است. این نتیجه مخالف یافته های رولمن و همکاران (۲۰۰۷) است که افزایش MMP-9 را متعاقب ۶۵ دقیقه فعالیت گزارش کرده بودند. در توجیه این اختلاف می توان به این مسأله اشاره نمود که رولمن در پروتکل خود از فعالیت فزاینده با شدت بالاتر استفاده کرده و همچنین میزان MMP-9 mRNA را اندازه گیری کرده بود [۳۴]. شدت تمرین [۱۰] و نوع تمرین [۱] از عوامل اصلی تاثیرگذار بر غلظت MMPs سرم می باشند. مطالعات صورت گرفته در این زمینه نشان داده است که تمرینات با شدت بالاتر باعث فراخوانی بیشتر ماکروفاژها که از تولید کننده های MMP-9 می باشند، می شود [۳۴].

مکانیسم کاهش VEGF در پاسخ به تمرین حاد به خوبی مشخص نشده است. جیان و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که کاهش VEGF سرم به دنبال فعالیت حاد به این معنی نیست که فعالیت ورزشی میزان تولید VEGF را کاهش می دهد. اما امکان دارد که این کاهش موقتی VEGF در پاسخ به ورزش، ناشی از اتصال VEGF به گیرندهای موجود بر روی سلول های اندوتلیال می باشد که این اتصال محرکی برای رخ دادن فرایند آنژیوژنز در عضله قلبی و عضله اسکلتی است. همچنین کاهش VEGF می تواند ناشی از اتصال به سایر پروتئین ها از جمله سولفات هپارین[1] [۳۹] و EPC[2] [۳۴] باشد. سوهر و همکاران [۲۰۰۷] نشان دادند کهVEGF نقش مهمی را در فراخوانی EPC از مغز قرمز استخوان دارد [۳۹]. لازم به ذکر است که میزان EPC متعاقب فعالیت حاد افزایش می یابد. از طرفی دیگر اندوستاتین به عنوان فاکتور آنژیوستاتیکی که مانع از فعال شدن VEGF می شود [۲۷]، متعاقب ورزش حاد افزایش می یابد [۹]. بنابراین این احتمال وجود دارد که کاهشVEGF ناشی از افزایش اندوستاتین باشد. از طرفی دیگر VEGF با MMP-2 رابطه مستقیمی دارد. MMP-2 باعث جدا شدن VEGF از پروتئوگلیکان ها می شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان MMP-2 بلافاصله بعد از فعالیت کاهش یافت، پس این احتمال نیز وجود دارد که یکی از عوامل کاهش ۴۹ درصدی VEGF، کاهش ۴۱ درصدی MMP-2 سرم باشد. دو ساعت بعد از فعالیت میزان MMP-2 با افزایش ۴۴ درصدی به سطح اولیه برگشت در حالی که VEGF با ۳۹ درصد افزایش نسبت به بعد از ورزش به طور معناداری افزایش یافت (P = ۰/۰۰۳).

تحقیقات نشان داده است که مهمترین عامل تنظیم میزان VEGF سرم دو ساعت بعد از فعالیت، میزان نسخه برداری VEGF در عضله اسکلتی است [۳۱]. رولمن و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند دو ساعت بعد از فعالیت میزان mRNA و پروتئین VEGF در عضله اسکلتی به ترتیب شش و ۱/۶ برابر افزایش یافت [۳۴]. از طرفی هافنر و همکاران(۲۰۰۳) نشان دادند که میزانVEGF بین بافتی بعد از ورزش افزایش یافت. بنابراین می توان نتیجه گرفت که افزایش VEGF سرم در دو ساعت بعد از فعالیت ناشی از انتقالVEGF از عضله اسکلتی به داخل جریان خون است [۱۹]. رولمن عکس این موضوع را که افزایش VEGF عضله اسکلتی به علت انتقال VEGF از سرم به داخل عضله اسکلتی است را رد کرد و نشان داد که کاهش VEGF سرم بعد از فعالیت به علت مصرف این پروتئین توسط سایر بافت ها غیر از عضلات اسکلتی در گیر است. همچنین در نتایج تحقیق نشان داده شد که میزان MMP-2 بلافاصله بعد از فعالیت کاهش یافت و در دو ساعت بعد از فعالیت به میزان اولیه بر گشت.

تغییرات به وجود آمده در میزان سرم MMPs ناشی از تغییرات به وجود آمده MMPs در بافت ها است [۳۴]. TIMPs و α_2 ماکروگلوبولین و TSP-1[3] مهمترین بازدارنده های MMPs هستند [۲۶]. رولمن و همکاران (۲۰۰۷) اشاره کردند که در شرایط نرمال بین فاکتورهای آنژیوژنیکی و آنژیوستاتیکی تعادل برقرار است ولی در حین تمرینات ورزشی این تعادل به سمت فاکتورهای آنژیوستاتیکی تغییر می یابد. این محققیق نشان دادند که بعد از یک جلسه فعالیت حاد میزان TIMPs mRNA بلافاصله بعد از ورزش ۱/۵ برابر و ۲ ساعت بعد، ۲/۶ برابر افزایش یافت. ممکن است این فاکتورها باعث کاهش MMP-2 سرم در پاسخ به ورزش باشند [۳۴].

در همین راستا کوسکینن و همکاران نشان دادند که میزان

1. Heparin sulfate
2. Endothelial progenitor cell
3. Thrombospondin-1

www.SID.ir

Archive of SID

کمپلکس MMP-2/TIMP-2 سرم متعاقب فعالیت حاد افزایش می یابد [۲۳]. α_2 ماکروگلوبولین، بزرگترین آنتی پروتئاز سرمی است که توسط ماکروفاژها و فیبروبلاستهای کبدی ساخته شده و تقریباً روی تمام پروتئینازها، بدون توجه به طبقه آن ها، تأثیر می گذارد. α_2 ماکروگلوبولین فقط به MMPs فعال متصل می شود [۶]. فرگوسن و همکاران (۱۹۸۷) افزایش در سطوح α_2 ماکروگلوبین را متعاقب یک وهله فعالیت ورزشی مشاهده کردند [۱۲]. همچنین TSP-1، از طریق اتصال به زیموژن های MMP-2 و MMP-9 مانع از فعال شدن MMP-2 و MMP-9 می شود. بنابراین TSP-1 باعث کاهش سطح فعالیت MMP-2 و MMP-9 می شود [۳۲، ۴]. تحقیقات نشان داده اند که میزان TSP-1 در پاسخ به فعالیت حاد افزایش می یابد [۲۸]. از طرفی دیگر گیرنده‌های گلیکوپروتئینی بنام اینتگرین، عامل اتصال لیگاندهای ماتریکس خارج سلولی و ساختار های ستیواسکلتال[1] هستند. تحقیقات نشان داده است MMPs توانایی اتصال به این نوع گیرنده ها را دارد؛ در نتیجه اتصال MMP-2 به گیرنده های اینتگرینی نیز می تواند یکی از عوامل کاهش MMP-2 سرم باشد [۷،۳۷].

میزان MMP-2 دو ساعت بعد از ورزش به سطح اولیه بر گشت این تغییرات نشان داد که کاهش MMP-2 متعاقب تمرین حاد، موقتی و زودگذر است و این تغییر می تواند به دلیل انتقال و ترشح MMP-2 از داخل عضله اسکلتی و ویزیکول های غشاء پلاسمایی سلول های اندوتلیال به داخل جریان خون باشد [۳۴، ۱۷].

همچنین میزان MMP-9 بلافاصله و در دو ساعت بعد از فعالیت به طور معناداری تغییر نکرد. اگر چه در بعضی از تحقیقات افزایش MMP-9 را متعاقب ورزش حاد گزارش کردند; این اختلاف میتواند به دلیل پاسخ های التهابی و فراخوانی ماکروفاژها و آسیب تارهای عضلانی باشد، چون هر یک از عوامل ذکر شده توانایی تنظیم میزان نسخه برداری MMP-9 را د ارند [۱]. در این مطالعه چون شدت تمرین نسبت به مطالعاتی که افزایش MMP-9 را گزارش کرده بودند پایین‌تر بود، در نتیجه کمتر بودن پاسخ های التهابی، فراخوانی ماکروفاژها و میزان پارگی تار عضلانی طبیعی به نظر می رسد.

همچنین مطالعات نشان می دهد که پلاسمین و MMP-2 از اصلی ترین فعال کننده های MMP-9 می باشند. در این مطالعه میزان پلاسمین اندازه گیری نشد ولی میزان MMP-2 به طور معناداری کاهش یافته بود. بنابراین این احتمال وجود دارد که کاهش MMP-2 مانع از افزایش MMP-9 شده باشد [۳۴].

میزان فاکتورهای آنژیوژنیک دو ساعت بعد از فعالیت نسبت به بلافاصله بعد از فعالیت به طور معناداری افزایش پیدا کرد. این تغییرات نشان داد که کاهشی که بلافاصله بعد از فعالیت مشاهده شد موقت و زودگذر است. بنابراین به منظور مشاهده تغییرات واقعی فاکتورهای آنژیوژنیک بعد از فعالیت برای تحقیقات آینده پیشنهاد می شود که مدت زمان بیشتر از دو ساعت را برای اندازه گیری فاکتورهای VEGF و MMP-2 در نظر بگیرند.

به طور کلی این تحقیق نشان داد که میزان فاکتورهای آنژیوژنیکی VEGF و MMP-2 که نقش حیاتی را در توسعه شبکه مویرگی ایفا می کنند به دنبال یک جلسه فعالیت حاد زیربیشینه در مردان جوان غیر فعال به ترتیب ۴۹ و ۴۱ درصد کاهش یافت. این کاهش، موقتی و زود گذر بود. از آنجایی که شدت متوسط ورزش در مطالعه حاضر نتوانسته بود شرایط فشار تنشی یا هایپوکسی را که از عوامل محرک آنژیوژنز هستند را ایجاد کند، بنابراین توصیه می شود برای تمریناتی که به منظور توسعه چگالی مویرگی و در نتیجه آن، توسعه ظرفیت هوازی صورت می گیرد، از شدت های بالاتر یا فعالیت فزاینده وامانده ساز استفاده شود. این که تمرینات منظم ورزشی چگونه باعث توسعه شبکه مویرگی می شوند ممکن است دارای مکانیسمی متفاوت نسبت به تمرین تک جلسه ای باشند، بنابراین در زمینه مولکولی فرایند آنژیوژنز نیازمند تحقیقات بیشتری در آینده می باشد.

سپاسگزاری

از زحمات خانم آزاده موحدی و خانم حسنا رشیدی که در امر خونگیری همکاری نمودند تشکر می شود.

1. Cytoskeleton

www.SID.ir

Archive of SID

References

[1] Abigail LM, Alan ED, Alan S, Fiona M, The effects of impact and non-impact exercise on circulating markers of collagen remodeling in humans. ***J Sports Sci*** 24 (2006) 843-848.

[2] Alex JC, Andrew CN, Regulation of Matrix Metalloproteinase. ***J Vasc Res*** 40 (2003)329-343.

[3] Anitha J, Alicia RF, Teresa S, Elena L, Luis M, Ana A, George T, The Role of Matrix Metalloproteinases in Tumor Angiogenesis and Tumor Metastasis. ***Pathology oncology research*** 7 (2001) 11-21.

[4] Bein K, Simons M, Thrombospondin type 1 repeats interact with matrix metalloproteinase 2. Regulation of metalloproteinase activity. ***J. Biol. Chem*** 275 (2000) 32167-32173.

[5] Bendeck MP, Irvin C, Reidy MA, Inhibition of matrix metalloproteinase activity inhibits smooth muscle cell migration but not neointimal thickening after arterial injury. ***Circ Res*** 78 (1996) 38-43.

[6] Borth. W, Alpha 2-macroglobulin, a multifunctional binding protein with targeting characteristics. ***FASEB J*** 6 (1992) 3345-3353.

[7] Brian P. Eliceiri A, David A, The role of integrins during angiogenesis: insights into potential mechanisms of actionand clinical development. ***The*** **J Clinical Investigation** 9 (2003) 1227-1230.

[8] Bristol L, Carlos B, Lucia J, Ana A, Olivia GS, Aurora A, Martina K, Metalloproteinase MT5-MMP is an essential modulator of neuro-immune interactions in thermal pain stimulation. ***PNAS*** 106 (2009) 16451-16456.

[9] Bruserud M, Grovan F, Lind R, Blymke CM, Sterhus K, Serum levels of angioregulatory mediators in healthy individuals depend on age and physical activity. ***J Clinical and Laboratory investigation*** 65 (2005) 505-512.

[10] Eli Carmeli, Miri M, Shannon L, Scott KP, High intensity exercise increases expression of matrix metalloproteinases in fast skeletal muscle fibres. ***Exp Physiol*** 90 (2005) 613-619.

[11] Emelien M, Van C, Christiaan JV, Steven EH, Katrien V, Inge G, Viggo F, Van Tendeloo, Vicky YH, Viviane C, A maximal exercise bout increases the number of circulating CD34/KDR_endothelial progenitor cells in healthy subjects. Relation with ipid profile. ***J Appl Physiol*** 104 (2008) 1006-1013.

[12] Fergusen EW, Bernier LI, Banta GR, Effect of exercise and conditioning on clotting and fibrinolytic activity in men. ***j Appl physiol*** 62 (1987)1416-1421.

[13] Folkman J, Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. ***Nat MED*** 1 (1995)27-31.

[14] Galis ZS, Johnson C, Godin D, Magid R, Shipley JM, Senior RM, Ivan E, Targeted, disruption of the matrix metalloproteinase-9 gene impairs smooth muscle cell migration and geometrical arterial remodeling. ***Circ Res*** 91 (2002) 852-859.

[15] Gavin TP, Drew JL, Kubik CJ, Hickner C, Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. ***Acta Physiol*** 191 (2007) 139-146.

[16] Georg K, Rainer H, Molecular mechanisms of vascular adaptations to physical activity as an effective antioxidant therapy. ***Cardiovascular Research*** 67 (2005) 187-197.

[17] Giulia T, Sandra D, Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle- associated components by endothelial cells. ***American Journal of Pathology*** 160 (2002) 673-681.

[18] Gustafsson T, Knutsson A, Puntschart A, Kaijser L, Sandberg AN, Sundberg CJ, Jansson E, Increased expression of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle in response to short-term one-legged exercise training. ***Eur J Physiol***, 444 (2002)752-759.

[19] Hoffner L, Jens JN, Henning L, Ylva H, Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in human skeletal muscle interstitium. ***J Physiol*** 5 (2003) 217-225.

[20] Islami D, Bischof P, Chardonnens D, Modulation of placental vascular endothelial growth factor by leptin and HCG. ***Molecular Human Reproduction*** 9 (2003) 395-398.

[21] Jian-Wei Gu, Giovani G, Julie W, Ian M, Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. ***J Physiology*** 4 (2004) 1-6.

[22] Jung YH, Robert M, Staci G, Zena W, Jung L, Alpa T, Matrix Metalloproteinase-2 Facilitates Wound Healing

www.SID.ir

Archive of SID

Events That Promote Functional Recovery after Spinal Cord Injury. ***J Appl physiol***. 21 (2006) 16-25.

[23] Kos keen SA, Hoity M, Huainan T, Martikkala V, Marine T, Oaks J, Oberg M, Sumer H, Serum concentrations of collagen degrading enzymes and their inhibitors after downhill running**.** ***Scand J Med Sci Sports***, 11 (2001) 9-15.

[24] Laughlin M.H. and B. Roseguini, Mechanism for exercise trining indused increases in skeletal muscle bloof flow capacity. ***J Physiol Pharmacol*** 59 (2008) 71-88.

[25] Luisa M. Iruela A, The Cell Biology of Angiogenesis. Iruela-Arispe 36 (2005) 1-30.

[26] Marsha A. Moses, The Regulation of Revascularization by Matrix Metalloproteinase and Their Inhibitors. ***Stem Cells*** 15 (1997) 180-189.

[27] O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, Flynn E, Birkhead JR, Olsen BR, and Folkman, Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. ***Cell J*** (1997) 277-285.

[28] Olfert IM, Breen EC, Gavin TP, Temporal mRNA thrombospondin-1 response in skeletal muscle exposed to acute and chronic exercise. ***Growth Factors*** 24 (2006) 253-259.

[29] Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI, Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors. ***Eur J Physiol*** 38 (2007) 258-268.

[30] Prior BM, Yang HT, and Terjung RL, What makes vessels grow with exercise training? ***J Appl Physiol*** 97 (2004) 1119-1128.

[31] Raymond MK, Howard WS, Robert CY, Timothy PG, Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. ***J Appl Physiol***. 96 (2004) 1445–1450.

[32] Rodriguez-M, Lane T, Ortega M.A, Hynes R.O, Lawler J, Iruela-Arispe ML, Thrombospondin-1 suppresses spontaneous tumor growth and inhibits activation of matrix metalloproteinase-9 and mobilization of vascular endothelial growth factor. ***Proc. Natl. Acad. Sci*** 98 (2001) 12485-12490.

[33] Roger L, Angiogenesis and obesity. ***Cardiovascular Research*** 10 (2007) 1-8.

[34] Rullman EH, 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*** 102 (2007) 2346-2351.

[35] Siafakas MN, Jordan M, Wagner H, Breen EC, Benoit H, Wagner PD, Diaphragmatic angiogenic growth factor mRNA responses to increased ventilation caused by hypoxia and hypercapnia. ***Eur Respir*** J 17 (2001) 681-687.

[36] Stehbens WE, Structural and architectural changes during arterial development and the role of hemodynamics. ***Acta Anas***. [Basel] 157 (1996) 261-274.

[37] Steve S, Kessler T, Joel G, Dale LB, David AC, Disruption of matrix metalloproteinase 2 binding to integrin αvβ3 by an organic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo. ***PNAS*** 98 (2001) 119-124.

[38] Stuart Egginton, Invited review: activity-induced angiogenesis. ***Eur J Physiol***, 457 (2009)963-977.

[39] Suhr F, Klara B, Markus M, Birgit B, Silvia A, Wilhelm B, Joachim M, Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. ***J Appl Physiol***. 103 (2007) 474-483.

[40] 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. ***J Appl Physiol***. 26(2009) 1222-1223.

[41] Veronique M, Laura R, Carine M, Ben W, Contribution of host MMP-2 and MMP-9 to promote tumor vascularization and invasion of malignant keratinocytes. ***The Journal express article*** 10 (2004) 1096- 1106.

[42] Victor WM, Hinsbergh V, Pieter K, Endothelial sprouting and angiogenesis. ***Cardiovascular Research*** 78 (2008) 203-212.

[43] Danzig V, Blanka M, Petr K, Levels of circulating biomarkers at Rest and after exercise in coronary artery disease patients. ***Physiologival research***, 102 (2010) 1374-1379.

[44] Vincent L, Ben W, Carine M, Catherine G, Maud J, MMP-2 and MMP-9 synergize in promoting choroidal neovascularization. ***The Journal express article*** 10 (2003) 1096- 1116.

[45] Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G, Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to the human chromosome6p21.3. ***Circulation*** 93 (1996) 1493–1495.

www.SID.ir