

مقاله اصلی

واکنش فاکتور مشتق از فیبروبلاست‌ها و اندوستاتین به بازتوانی حاد فعالیت بدنی به همراه تحرک الکتریکی در موش‌های صحرایی انفارکته

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۶

خلاصه

مقدمه: بیماری انفارکتوس قلبی از علل اصلی مرگ‌ومیر جوامع امروزی است. بازتوانی ورزشی سبب تغییر برخی از نشانگرهای رگ‌زا در این بیماری می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی واکنش فاکتور مشتق از فیبروبلاست‌ها و اندوستاتین به بازتوانی حاد فعالیت بدنی به همراه تحرک الکتریکی در موش‌های صحرایی انفارکته است.

روش کار: در این مطالعه تجربی کنترل‌شده با گروه شاهد ۵۰ سر موش صحرایی ویستار (۸ هفته‌ای با وزن 15 ± 220 گرم) با ایزوپروترونول (۱۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) به انفارکتوس القا شدند. سپس به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی سالم، انفارکتوس، بازتوانی ورزشی، تحرک الکتریکی و بازتوانی ورزشی با تحرک الکتریکی تقسیم شدند. گروه‌های مداخله برای یک جلسه تحت بازتوانی ورزشی فزاینده (با سرعت ۱۰ تا ۱۸ متر/دقیقه و مدت ۵۰ دقیقه) و تحرک الکتریکی (فوت شوک با شدت ۰/۵ میلی آمپر و مدت ۲۰ دقیقه) قرار گرفتند. پس از تمرین و بی‌هوشی، نمونه خون وریدی سطوح سرمی FGF-2 و Ens جمع‌آوری گردید و به روش الیزا مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در سطح معنی‌داری $P < 0/05$ و نرم‌افزار گراف‌پد استفاده شد.

نتایج: القا موش‌های صحرایی با ایزوپروترونول منجر به افزایش معنی‌دار سطوح سرمی FGF-2 و Ens در کلیه گروه‌ها شد ($P = 0/001$). آزمون آنووا نشان داد یک جلسه فعالیت ورزشی منجر به افزایش معنی‌دار ($P = 0/040$) سطوح سرمی FGF-2 و کاهش غیرمعنی‌دار ($P = 0/547$) Ens در کلیه گروه‌ها نسبت به انفارکتوس شد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد بازتوانی حاد فزاینده با ایجاد تغییرات مثبت آنژیوژنزی و آنژیواسطایی موش‌های صحرایی انفارکته می‌تواند در بهبود آسیب میوکاردی و جایگزینی مویرگ‌های بسته شده نقش مهمی داشته باشد.

کلمات کلیدی: بازتوانی ورزشی، انفارکتوس، فاکتور رشد فیبروبلاست‌های-۲، اندوستاتین

پی‌نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

محمد ملکی پویا^{*}

^{*}استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

Email: maleki.p@gmail.com

مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی (CVD) از علل اصلی و اول مرگ و میر در سطح جهان می‌باشد و از بین دلایل آن انفارکتوس میوکارد (MI) شیوع بالایی داشته و با افزایش سن چالش بزرگ بهداشتی را نشان می‌دهد (۱). در سه سال منتهی به ۲۰۲۰ نزدیک به ۱۲۹/۹ میلیون بزرگسال دچار بیماری‌های قلبی عروقی شده‌اند و بیلین‌ها دلار در دو سال هزینه به‌همراه داشته و منجر به مرگ ۹۳۰۰۰ نفر در سال آخر شده است (۲). در کشور ایران بیش از ۴۴٪ مرگ و میرها ناشی از عارضه‌های قلبی عروقی می‌باشد (۳). این عارضه منجر به تغییر ساختار مولکولی میوسیت‌ها و ماتریکس خارج سلولی شده و به‌عنوان مرگ سلول‌های قلبی که در نتیجه کاهش جریان خون طولانی مدت به‌وسیله پلاک، فرسایش، قطع جریان خون، افزایش نیاز به اکسیژن یا کاهش تأمین اکسیژن رخ می‌دهد تعریف شده است (۴). بیماری‌های ایسکمی قلبی گروهی از سندرم‌های مرتبط باهم هستند که به‌دلیل محرومیت از اکسیژن، ناشی از کاهش خون‌رسانی به میوکارد ایجاد می‌شود. رایج‌ترین علت آن ایسکمی، MI و آترواسکلروز انسدادی شریان کرونر است. تمرینات ورزشی منجر به تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مهمی در جهت برطرف کردن شرایط استرسی ناشی از بازتوانی و بهبود عملکرد می‌شود. از مهم‌ترین سازگاری‌های حاصله در میوسیت‌ها، افزایش چگالی مویرگی با فرآیندی به نام آنژیوژنز است تا به‌تواند پرفیوژن مناسبی ایجاد نماید (۵). آنژیوژنز ۴ (رگ‌زایی) به تکثیر سلول‌های اندوتلیال، تشکیل رگ‌های فعال، رشد و تکامل عروق خونی جدید از طریق جوانه زدن سلول‌های اندتلیوم عروق قلبی (آنژیوبلاست) گفته می‌شود. در افراد بزرگسال این فرایند یک امر ذاتی در واکنش به کسر اکسیژن میوکارد بوده و در غیاب هاپوکسی نیز صورت می‌پذیرد. هاپوکسی با فعال کردن VEGF، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها از مهم‌ترین علل آنژیوژنز می‌باشد (۶). افزایش

HIF-1 α و پروتئین VEGF در حین ورزش و آنژیوژنز یک تأیید شده است. با توجه به این که ۷۰ درصد بیماران MI حاد به‌واسطه زخم‌های آترواسکلروسیز ملایم حادث می‌گردند توجه به انجام تمرینات ورزشی ضروری است (۷). در بدن عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک زیادی وجود دارد که در بافت‌ها در حالت طبیعی نشان‌گرهای آنتی آنژیوژنیک بیش‌تر می‌باشد. ایجاد تعادل بین این دو فرآیند از اهمیت خاصی برای توان بخشی بعد از ایسکمی برخوردار است. از این‌رو در این تحقیق از نشان‌گرهای مهمی مانند عامل رشد فیبروبلاست-۲ (FGF-2) و اندوستاتین ۶ (Ens) که در ارتباط با فرایند MI هست استفاده شده است (۸). FGF یک خانواده از ملکول‌های با ساختار پروتئینی و در رشد و تمایز سلول‌های متعددی دخیل می‌باشد. همچنین سایتوکاین‌های هستند که در آنژیوژنز، بهبود زخم و تکامل جنینی نقش مهمی ایفا می‌کند (۹). FGF-2 و VEGF از مهم‌ترین متغیرهای عروق‌زایی با اتصال به گیرندهای ویژه می‌باشند (۱۰). FGF-2 از اولین عوامل شناخته شده در تحریک آنژیوژنز بوده و محرک ساخت پروتئازهایی مانند کلاژناز و فعال‌کننده پلاسمینوژن نوع اورو کیناز و اینتگرین برای تشکیل مویرگ‌های جدید محسوب می‌شوند (۱۱). این نشان‌گر که یک عضو از خانواده رشد فیبروبلاست است در غشای پایه و در ماتریکس خارج سلولی زیر اندوتلیال رگ‌های خونی وجود دارد و تا زمانی که پپتید پیام‌رسانی وجود نداشته باشد، به‌صورت متصل به غشا باقی می‌ماند (۱۲). در مقابل، فاکتورهای آنژیواستاتیکی از ایجاد رگ‌زایی جلوگیری می‌کنند. Ens یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ضد رگ‌زایی و قطعه جدا شده از کلاژن XVIII با حجم مولکولی ۲۰ کیلودالتون می‌باشد. این نشان‌گر بازدارنده توسط بافت‌های مختلفی در بدن تولید می‌شود (۱۳). مکانیسم بازدارندگی Ens به این شکل است که این فاکتور به عامل رگ‌زایی فاکتور رشد اندوتلیالی

4. Angiogenesis

5. Fibroblast Growth Factor Type 2

6. Endostatin

1. Cardiovascular Disease

2. Myocardial Infarction

3. Myocyte

به میوکارد انفارکتوس، مورد توجه پژوهش گران قرار گرفته است تا واکنش FGF-2 و Ens به بازتوانی حاد فعالیت بدنی به همراه تحرک الکتریکی در موش های صحرایی انفارکته مورد بررسی قرار دهند.

روش کار

نمونه ها و محیط پژوهش: در این پژوهش پس آزمون با گروه کنترل از ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته ای با میانگین وزنی 15 ± 210 گرم که از انستیتو پاستور خریداری شده بود استفاده گردید. این حیوانات در قفس های پلی کربنات شفاف و در شرایط کنترل شده با دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش های صحرایی نگهداری شدند. پس از انتقال حیوانات به محیط پژوهش به مدت ۱ هفته، در شرایط جدید نگهداری شدند و بعد از سازگاری با محیط آزمایشگاه به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی سالم (H2)، انفارکتوس میوکارد (MI)، بازتوانی ورزشی- انفارکتوس میوکارد ($EX3.MI$)، تحریک الکتریکی- انفارکتوس میوکارد ($ES.MI$) و بازتوانی ورزشی- تحریک الکتریکی- انفارکتوس میوکارد ($EX.ES.MI$) تقسیم شدند.

القا انفارکتوس میوکارد: جهت القا انفارکتوس میوکارد از تزریق زیر جلدی ایزوپروترونول ۴ ISO ساخت شرکت سیگما آمریکا (با دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن استفاده شد (۲۱). ایزوپروترونول با محلول نرمال سالین (۰/۰۵ سی سی) رقیق شده و در دو روز متوالی با فاصله ۲۴ ساعت به موش های صحرایی تزریق شد. این ماده در مدل های حیوانی به ویژه موش های صحرایی یکی از روش های رایج القا انفارکتوس میوکارد است.

برنامه تحریک الکتریکی: برای ایجاد تحریک الکتریکی در این پژوهش از دستگاه استیمولیتور R12 ساخت شرکت پرتو دانش استفاده شد. میزان شدت جریان الکتریسیته در این برنامه

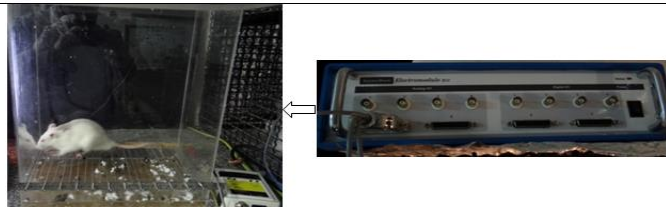
عروقی-۳ متصل شده و مانع از عملکرد آن می گردد و بدین ترتیب با با ممانعت از تکثیر و مهاجرت سلول های اندوتلیال، مانع رشد شبکه مویرگی اندوتلیال می شود. همچنین اندوستاتین مانع از تخریب غشای مویرگ می گردد که این امر در نهایت مانع از مهاجرت سلول های اندوتلیال می شود (۱۴). علاوه بر درمان های پزشکی رایج این بیماران در مواجهه با عارضه های قلبی عروقی انجام تمرینات ورزشی از اولین توصیه های مهم، موثر و ایمن برای پیش گیری و بازتوانی آنها می باشد (۱۵). نظر به اینکه فعالیت ورزشی یک عامل مهم و محافظت کننده پس از بیماری های قلبی عروقی است، ارتباط بین فعالیت ورزشی و تغییرات سطوح FGF-2 و Ens در بیماران مبتلا به انفارکتوس قلبی و افراد سالم هنوز ناشناخته است و اطلاعات اندکی در دست می باشد. لی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند تمرینات ورزشی درمانده ساز کوتاه و بلند مدت موجب افزایش معنی دار مقادیر FGF بافت چربی موش های صحرایی می شود (۱۶) اما نتایج بیرجندی و همکاران (۲۰۱۶) در تمرینات تناوبی شدید همسو با نتایج فوق نبود (۱۷). در پژوهش ملکی پویا و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند تمرینات هوازی تاثیر معنی داری بر کاهش اندوستاتین موش های صحرایی انفارکته به همراه نداشت در صورتی که در تحقیقی دیگر نشان داده شد فعالیت استقامتی، میزان Ens را به طور معنی داری کاهش داد (۱۸). تحریک الکتریکی ۱ (ES) همچنین به عنوان یک مدالیت جدید و مؤثر در درمان ایسکمی به کار می رود (۱۹). با توجه به مطالعات انجام شده انتظار می رود که ES یک روش توانبخشی برای افرادی که در تمرینات ورزشی مشارکت دارند باشد (۲۰). تحقیقاتی که FGF-2 و Ens را متعاقب فعالیت های بدنی و همچنین تحریک الکتریکی در نمونه های انفارکته بررسی کرده اند پیدا نشد. مطالعه واسطه های التهابی و واکنش های آن به فعالیت های ورزشی به همراه تحریک الکتریکی، کاملاً جدید و سازوکارهای التهابی آنها به خوبی معین نشده است. از طرفی با توجه به اثرات مثبت این دو مدالیت بر سلامت قلب بیماران مبتلا

استراحت و برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهای دستگاه خودداری کنند.

برنامه تمرینی: تمرین ابتدا به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر/دقیقه و با شیب صفر درجه شروع شد. سپس برای رسیدن به سرعت مورد نظر به ازای هر دقیقه، ۲ متر/دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده شد، تا اینکه سرعت به ۱۸ متر/دقیقه رسید. سپس آزمودنی‌ها به مدت ۵۰ دقیقه با همین سرعت و با شیب صفر درجه به فعالیت ادامه دادند. برای سرد کردن بدن در پایان جلسه تمرینی در مدت ۵ دقیقه، سرعت نوارگردان به طور معکوس کاهش یافت تا به سرعت اولیه رسید (۲۴) که در طرح شماتیک-۱ نشان داده شده است.

۰/۵ میلی آمپر و برای مدت ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد که از طریق خروجی‌های استیمولیتور با تنظیمات Trial Number:1 Recording, Period:1200000 Time:1200000 به دستگاه فوت شوک ارسال شد که در شکل ۱ آمده است (۲۲، ۲۳).

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

ردیف	مرحله	مدت (هفته)	روز	دقیقه	سرعت (متر/دقیقه)	شدت (میلی/آمپر)
۱	آشناسازی	۱	۵	۱۰	۱۰	-
۲	برنامه تمرینی	-	۱	۵ تا ۵۰	۱۰ تا ۱۸	-
۳	تحریک الکتریکی	-	۱	۲۰	-	۰/۵
۴	فوت شوک					

شکل ۱. طرح شماتیک طرح تحقیق

جسمی و روش‌های غیر ضروری اجتناب شود. عمل خون‌گیری بعد از بی‌هوشی، مستقیم از دهلیز سمت راست قلب موش‌های صحرایی با سرنگ‌های تیوب‌دار ۱۰ سی‌سی صورت گرفت. خون گرفته شده در لوله‌های ژل‌دار کلاته ساده ریخته شد و پس از قرار گرفتن به مدت ۱۰ دقیقه در شرایط دمای محیط و لخته زدن، در سانتریفوژ برای ۵ دقیقه و با ۵۰۰۰ دور در دقیقه گذاشته شد. سپس نمونه‌های سرمی برای آنالیز بیوشیمیایی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. جهت تعیین مقادیر سرمی FGF-2 و Ens و cT-nI از

خون‌گیری و ادریابی بیوشیمیایی: بعد از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین تزریق از هر گروه چند موش صحرایی به صورت تصادفی انتخاب و تحت شرایط آزمایش جهت اطمینان از القا انفارکتوس قرار گرفت. در این مطالعه انفارکتوس قلبی بر اساس تغییرات الکتروکاردیوگرافی (بالا رفتن قطعه ST) همراه با افزایش آنزیم قلبی cTnI (۳۴۴/۰۱ پیکوگرم/میلی‌لیتر) تأیید گردید (۲۵). گروه‌ها بلافاصله پس از پایان پروتکل یک جلسه تمرین هوازی با ترکیبی از کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و کشته شدند. در مراحل مختلف ضمن رعایت مسائل اخلاقی سعی شد از هر گونه آزار

اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک به تصویب رسیده است.

نتایج

آمار توصیفی سطوح سرمی FGF-2 با توجه به مداخله فعالیت ورزشی و تحریک الکتریکی در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین شکل ۲ غلظت سرمی FGF-2 در گروه‌های مورد مطالعه پس از انجام مداخله را نشان می‌دهد. نتایج بیان کرد القا ایزوپروترونول منجر به افزایش معنی‌دار سطوح FGF-2 بین گروه سالم و دیگر گروه‌ها شد ($F=37/2$ و $P=0/001$). همچنین آزمون توکی افزایش معنی‌دار مقادیر سطوح سرمی FGF-2 در گروه بازتوانی ورزشی نسبت به انفارکتوس را نشان داد ($F=4/2$ و $P=0/040$). اما با توجه به افزایش مقادیر این متغیر در دیگر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نبود.

روش الایزا و بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت‌های شرکت ایست بیوفارم (با ضریب تغییرات برون آزمونی ۸/۴ و ۹ درصد و حساسیت روش اندازه‌گیری ۳/۶۸ و ۲۰۰ و ۷/۸ پیکوگرم/میلی‌لیتر) استفاده شد.

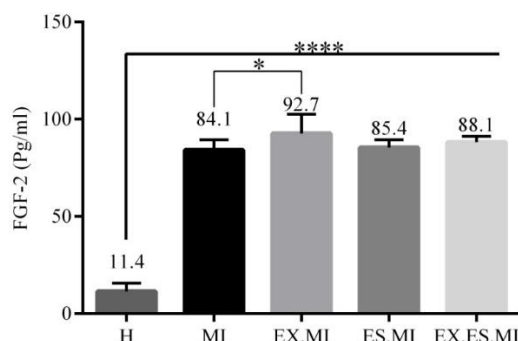
تحلیل آماری: پس از تایید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها، از آنالیز واریانس (آنوآ) دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری گراف‌پد (نسخه ۶) در سطح معنی‌داری ($P<0/05$) و سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.ARAK.REC.1398.011 توسط کمیته

جدول ۱. آمار توصیفی تحلیل واریانس دوطرفه متغیر FGF-2 با بازتوانی ورزشی و تحریک الکتریکی

ردیف	گروه‌ها	میانگین	مقدار SE	مقدار DF	مقدار F	مقدار P	اندازه اثر
۱	سالم با سکنه قلبی	۴۲/۳	۲/۸۹	۲۸	۳۵/۵	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۳
۲	سالم با فعالیت ورزشی	۴۶/۳	۲/۸۹	۲۸	۳۹/۷	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۱
۳	سالم با تحریک	۴۳	۲/۸۹	۲۸	۳۶/۲	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۲
۴	سالم با فعالیت ورزشی-تحریک	۴۳/۹	۲/۸۹	۲۸	۳۷/۵	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۱
۵	سکنه قلبی با فعالیت ورزشی	۷۸/۵	۲/۸۹	۲۸	۴/۲	۰/۰۴۰*	۰/۴۵
۶	سکنه قلبی با تحریک	۷۵/۲	۲/۸۹	۲۸	۰/۶	۰/۹۹۱	۰/۱۸
۷	سکنه قلبی با فعالیت ورزشی-تحریک	۷۶/۱	۲/۸۹	۲۸	۱/۹	۰/۶۴۶	۰/۱۵
۸	فعالیت ورزشی با تحریک	۷۹/۲	۲/۸۹	۲۸	۳/۷	۰/۱۰۸	۰/۱۳
۹	فعالیت ورزشی با فعالیت ورزشی-تحریک	۸۰/۱	۲/۸۹	۲۸	۲/۲	۰/۵۱۶	۰/۱۵
۱۰	تحریک با فعالیت ورزشی-تحریک	۷۸/۸	۲/۸۹	۲۸	۱/۳	۰/۸۷۹	۰/۱۸

* نشان‌گر معنی‌داری در بین گروه‌ها



شکل ۲. تغییرات غلظت سرمی FGF-2 در گروه‌های سالم (H)؛ انفارکتوس میوکارد (MI)؛ بازتوانی ورزشی (EX.MI)؛ تحریک الکتریکی (ES.MI) و بازتوانی ورزشی-تحریک الکتریکی (EX.ES.MI) با اختلاف معنی‌داری $P<0/001$ و $P<0/05$ را نشان می‌دهد.

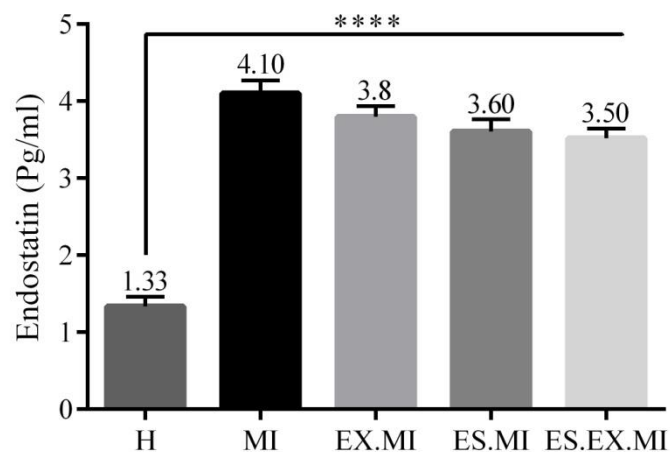
آمار توصیفی سطوح سرمی Ens با توجه به مداخله فعالیت ورزشی و تحریک الکتریکی در جدول ۲ ارائه شده است. همچنین شکل ۳ غلظت سرمی Ens در گروه‌های مورد مطالعه پس از انجام مداخله را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد القا ایزوپروترونول منجر به افزایش

معنی‌دار غلظت Ens بین گروه سالم و دیگر گروه‌ها شد ($F=16/7$ و $P=0/0001$). نتایج آزمون آنوا دوطرفه کاهش غیر معنی‌داری بین گروه سگته قلبی با فعالیت ورزشی، تحریک الکتریکی و تلفیقی از آن را گزارش کرد.

جدول ۲- آمار توصیفی تحلیل واریانس دوطرفه متغیر Ens با فعالیت ورزشی و تحریک الکتریکی

ردیف	گروه‌ها	میانگین	مقدار SE	مقدار DF	مقدار F	مقدار P	اندازه اثر
۱	سالم با سگته قلبی	۲/۴۱	۰/۲۰	۲۸	۱۹/۲	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۳
۲	سالم با فعالیت ورزشی	۲/۲۸	۰/۲۰	۲۸	۱۷	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۲
۳	سالم با تحریک	۲/۱۹	۰/۲۰	۲۸	۱۵/۷	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۱
۴	سالم با فعالیت ورزشی-تحریک	۲/۱۵	۰/۲۰	۲۸	۱۵	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۱
۵	سگته قلبی با فعالیت ورزشی	۳/۵۱	۰/۲۰	۲۸	۱/۲	۰/۵۶۸	۰/۲۰
۶	سگته قلبی با تحریک	۳/۴۲	۰/۲۰	۲۸	۳/۴	۰/۱۲۹	۰/۱۶
۷	سگته قلبی با فعالیت ورزشی-تحریک	۳/۳۸	۰/۲۰	۲۸	۴	۰/۰۵۲	۰/۳۷
۸	فعالیت ورزشی با تحریک	۳/۲۸	۰/۲۰	۲۸	۱/۳	۰/۸۸۱	۰/۱۸
۹	فعالیت ورزشی با فعالیت ورزشی-تحریک	۳/۲۵	۰/۲۰	۲۸	۱/۹	۰/۶۶۱	۰/۲۱
۱۰	تحریک با فعالیت ورزشی-تحریک	۳/۱۶	۰/۲۰	۲۸	۰/۵۹	۰/۹۹۳	۰/۱۸

* نشان‌گر معنی‌داری در بین گروه‌ها



شکل ۳. تغییرات غلظت سرمی Ens در گروه‌های سالم (H)؛ انفارکتوس میوکارد (MI)؛ بازتوانی ورزشی (EX.MI)؛ تحریک الکتریکی (ES.MI) و بازتوانی ورزشی-تحریک الکتریکی (EX.ES.MI) با اختلاف معنی‌داری $P < 0.001$ را نشان می‌دهد.

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی واکنش FGF-2 و Ens به بازتوانی حاد فعالیت بدنی به همراه تحریک الکتریکی در موش‌های صحرایی انفارکته بوده. از یافته‌های مهم این پژوهش افزایش معنی‌دار سطوح سرمی FGF-2 و Ens در کلیه گروه‌ها نسبت به گروه سالم بود. از دیگر نتایج این مطالعه افزایش معنی‌دار غلظت FGF-2 و کاهش غیر معنی‌دار سطوح سرمی Ens در گروه بازتوانی هوازی نسبت به انفارکتوس می‌باشد. سرعت جریان خون در رگ به دنبال افزایش تنش برشی عروق افزایش می‌یابد. این افزایش تنش یک محرک اصلی جهت بزرگ شدن عروق مجاری و مویرگی توسط رگ‌زایی می‌باشد. بازتوانی و تمرین ورزشی از مهم‌ترین روش‌ها برای افزایش این تنش می‌باشد که با اثرگذاری بر نشان‌گرهای مهمی مانند VEGF و FGF-2 منجر به القا آنژیوژن ناشی از ورزش می‌شود (۲۶). FGF-2 یک ژن از خانواده ۲۴ عضوی FGFs و به عنوان یک میتوژن قدرتمند در تنظیم فرآیندهای متفاوت فیزیولوژیکی مانند رشد، آنژیوژن، میوژن، ترمیم زخم، چربی‌زایی و نوروژن در بافت‌های مختلف به‌ویژه قلب نقش دارد (۲۷). این ژن‌ها از طریق تغییر در پیرایش RNA خود یا رمزهای آغازین، قادر به تولید صدها ایزوform پروتئینی در بافت‌های مختلف می‌باشند. همچنین تکثیر میوبلاست‌های پرورش یافته را تحریک می‌کنند و نقش مهمی در ایسکمی قلبی دارد. لی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند تمرینات ورزشی درمانده‌ساز کوتاه و بلند مدت موجب افزایش معنی‌دار مقادیر FGF بافت چربی موش‌های صحرایی می‌شود (۱۶). همچنین در تحقیق میرزایی امیرآبادی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش FGF بافت چربی زیرپوستی به دنبال تمرین استقامتی و HIIT گزارش شد (۲۸). ساریخانی و همکاران (۲۰۲۲) نیز نشان دادند تمرینات HIIT و MIT منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن FGF-2 بافت چربی موش‌های صحرایی می‌شود (۲۹) که همسو با افزایش معنی‌داری مقادیر FGF-2 بعد فعالیت بدنی در سرم خونی بود (۳۰). اما در

مطالعه‌ای مشابه که به بررسی اثر تمرین استقامتی بر روند رگ‌زایی کف پای عضله موش‌های صحرایی مبتلا به MI بود، تغییری در بیان ژن FGF-2 گزارش نشد (۳۱). در تحقیق دیگری از بیرجندی و همکارانش (۲۰۱۶)، تمرینات HIIT تغییرات معنی‌داری در سطوح سرمی FGF بافت چربی نمونه‌های آزمودنی ایجاد نکرد (۳۲). عدم معنی‌داری این پژوهش می‌تواند به دلیل نمونه‌های تحقیقی، مدت و مصرف مکمل ال-آرژنین باشد. همچنین در پژوهش فرح نامی و همکاران نیز یک دوره تمرین مقاومتی و استقامتی مقادیر FGF را معنی‌دار گزارش نکرد که می‌تواند به دلیل مصرف مکمل سیترولین مالات، نمونه‌های تمرینی و مدت تمرین باشد (۳۳). از دلایل این افزایش در بازتوانی حاد ورزشی پیشنهاد شده است که FGF-2 از طریق مسیر پروتئینی JAK/STAT/VEGF/RAS فرآیندهای مانند تکثیر سلولی، تمایز، چسبندگی، و مهاجرت در طول رگ‌زایی را تحریک می‌کند (۳۴). تحقیقات بسیار کمی در خصوص تمرینات استقامتی و هوازی بر تغییرات سطوح Ens بیماران MI انجام شده است. اسپاندر و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند عدم فعالیت ورزشی منجر به افزایش اندوستاتین در بیماران عروق کرونری می‌شود. همچنین گزارش کردند در بیماران عروق کرونر فعال کاهش بیش‌تر از ۳۰ درصد سطوح Ens در مقایسه با گروه غیرفعال در موش‌های صحرایی مشاهده شد که این فرایند باعث بهبود در تأمین اکسیژن و متابولیت‌های میوکارد قلبی می‌شود (۳۵). در همین راستا ملکی پویا و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند یک دوره برنامه تمرینی هوازی فزاینده منجر به کاهش مقادیر Ens موش‌های صحرایی نر مبتلا به انفارکتوس شد (۱۸). همچنین جیو و همکاران نشان دادند، سه هفته تمرین استقامتی باعث افزایش ۲۶٪ چگالی مویرگی، ۱/۷ برابر شدن پروتئین VEGF و کاهش ۲/۷ برابری Ens نسبت به گروه غیرفعال در موش‌های صحرایی شده است (۳۶). سوهر و همکاران نیز نشان دادند که ۶ ماه فعالیت استقامتی، میزان Ens مردان دوند را به‌طور معنی‌داری کاهش

می‌دهد (۳۷). اکثر تحقیقات انجام شده کاهش مقادیر Ens را نشان می‌دهد، که با نتایج این تحقیق در کاهش همسو می‌باشد. در تناقض با نتایج تحقیق فوق مطهری‌راد و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند یک جلسه فعالیت بدنی منجر به افزایش معنی‌دار مقادیر Ens می‌شود (۳۸) که همسو با نتایج تحقیق دیگری در افزایش می‌باشد (۳۹) علت این تضاد مصرف مکمل ال-آرژنین و پرتکل وامانده‌ساز و افراد سالم فعال در تحقیق بود. همچنین تحقیق نورشاهی و همکاران نیز افزایش معنی‌داری میزان سطوح Ens سرم موش‌های صحرایی در یک فعالیت ورزشی را نشان داد (۴۰). این تغییر می‌تواند به دلیل پرتکل وامانده‌ساز و نمونه‌های سالم تحقیق ایشان باشد. مکانیسم کاهش Ens در پاسخ به تمرینات ورزشی هنوز واضح و معلوم نیست؛ اما این احتمال داده می‌شود که تمرینات ورزشی میزان دگرگونی در ماتریکس برون سلولی را کاهش می‌دهند و این امر ممکن است مانع از جدا شدن اندوستاتین از کلاژن شود (۴۱). همچنین Ens با فعال‌سازی مسیر Akt، ERK و مهار فارماکولوژیکی این مسیر سیگنالینگ منجر به سرکوب القا Ens از تکثیر و مهاجرت سلولی می‌شود (۴۲). از دیگر نتایج این تحقیق افزایش غیرمعنی‌دار در غلظت سرمی FGF-2 و کاهش غیر معنی‌دار مقادیر Ens در گروه ES و بازتوانی ورزشی-تحریک الکتریکی بود. ES می‌تواند مسیرهای ضدالتهابی کولینرژیک را با آزاد کردن واسطه‌های التهابی مهار کند، در نتیجه شروع و پیشرفت بیماری‌های مختلف مرتبط با التهاب را کندتر می‌کند و این روند در ایجاد رگ جدید

می‌تواند موثر باشد (۴۳). همچنین مسیر فوق می‌تواند آزادسازی سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1b، TNF-a، IL-6 و IL-17 را مهار کند (۴۴). به دلیل جدید بودن موضوع و تحقیقات مربوط به بازتوانی ورزشی به همراه تحریک الکتریکی بررسی اثرات متقابل آن با تحریک‌ها و شدت‌های متفاوت و به‌ویژه در غالب بیان ژن نیاز به تحقیقات بیش‌تری خواهد داشت و پیشنهادی در این خصوص مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق، نشان می‌دهد بازتوانی حاد فزاینده با افزایش آنژیوژنز و کاهش عوامل آنتی‌آنژیوژنز در موش‌های صحرایی انفارکته قلبی می‌تواند توسعه و رشد عروق مویرگی جدید را به همراه داشته باشد. این فرایند باعث افزایش خون‌رسانی به مناطق آسیب‌دیده در این وضعیت پاتولوژیک شده و شرایط کلی بیمار را به سمت بهبودی سوق می‌دهد.

حامی مالی

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

تضاد منافع

نویسنده اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافع در پژوهش وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از همه افرادی که در این تحقیق مشارکت داشتند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

1. Virani SSA AA, H.J.; Benjamin, E.J.; Bittencourt, M.S.; Callaway, C.W.; Carson, A.P.; Chamberlain, A.M.; Cheng, S.; Delling, F.N.; et al. . Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation Journal. 2021;143:e254-e743.
2. Tsao CW AA, Almarzooq ZI, Anderson CAM, Arora P, Avery CL, Baker-Smith CM, Beaton AZ, Boehme AK, Buxton AE, Commodore Mensah Y, Elkind MSV, Evenson KR, Eze-Nliam C, Fugar S, Generoso G, Heard DG, Hiremath S, Ho JE, Kalani R, Kazi DS, Ko D, Levine DA, Liu J, Ma J, Magnani JW, Michos ED, Mussolino ME, Navaneethan SD, Parikh NI, Poudel R, Rezk-Hanna M, Roth GA, Shah NS, St-Onge M-P, Thacker EL, Virani SS, Voeks JH, Wang N-Y, Wong ND, Wong SS, Yaffe K, Martin SS; . on behalf of the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2023 update: a report from the American Heart Association Circulation. 2023.
3. Estruch R RE S-SJ, Covas M-I, Corella D, Arós F, et al. . Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. New England Journal of Medicine. 2013;368(14):1279-90. .
4. Vahanian A FR. Universal definition of myocardial infarction. In: European Society of Cardiology, editor. ESC guidelines desk reference 2010: Compendium of abridged esc guidelines 2010. London: . Springer Healthcare Ltd; . 2010.

5. Gavin T DJ, Kubik C, Pofahl W, Hickner R. . Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. *Acta physiol.* 2007;191(2):139-46.
6. B. T. Angiogenesis in lung development, injury and repair: implications for chronic lung disease of prematurity. *Neonatology.* 2007;91(4):291-7. .
7. Falk E SP, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation research.* 1995;92(3):657-71.
8. Okada M OY, Yamawaki H. . Endostatin stimulates proliferation and migration of adult rat cardiac fibroblasts through PI3K/Akt pathway. . *European journal of pharmacology.* 2015;750:20-6.
9. Cao R BE, Wahlestedt C, Thyberg J, Cao Y. . Leptin induces vascular permeability and synergistically stimulates angiogenesis. ۵-۶۳۹۰: (۱۱) ۹۸ ۲۰۰۱
10. Mirzaei Amirabad G AMR RM. The Effect of Exercise with Different Intensity and Volume on fibroblast growth factor (FGF-2) Gene Expression in Subcutaneous and Visceral Adipose tissue in Male Rats. *J Of Sport and Exercise Physiology* 2018;11(2):103-16.
11. Christiaens V LH. Angiogenesis and development of adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;318(1):2-9.
12. Turner M CA, Stanley J, Watson H. . The fibroblast growth factor family: Neuro modulation of affective behavior. *Neuron* 2012;76(1):160-74.
13. Li H. LS, Shao J., Lin X., Cao Y., Jiang W., . Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of intratumoral injection of an adenovirus encoding endostatin in patients with advanced tumors. . *Gene Therapy* 2008;15((4):247-56.
14. Sponder M C, Ioana-Alexandra, Emich, Michael, Fritzer-Szekeres, Monika, Litschauer, Brigitte, Bergler-Klein, Jutta, Graf, Senta, Strametz-Juranek, Jeanette . (). . Endurance training significantly increases serum endocan but not osteoprotegerin levels: a prospective observational study. . *BMC Cardio Disorders.* 2017;17(3.(
15. Khalafi M, Malandish, A., Rosenkranz, S.K., Ravasi, A.A., . Effect of resistance training with and without caloric restriction on visceral fat: a systemic review and meta-analysis. . *Obes Rev.* 2021;22(9):e13275.
16. Li D-J FH, Zhao T, Ni M, Shen F-M. . . Exercise-stimulated FGF23 promotes exercise performance via controlling the excess reactive oxygen species production and enhancing mitochondrial function in skeletal muscle. *Metabolism: clinical and experimental* 2016;65(5):747-56.
17. Cheragh Birjandi S SM, Hedayati M. Effect of high intensity interval training and L-Arginine supplementation on serum levels of fibroblast growth factor 21 and atrial natriuretic peptide in overweight and obese young men. . . *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 2016;23(3):211-21. (Persian.(
18. MalekiPoya M AB, Palizvan MR, Saremi A. . Effect of an incremental aerobic training program on improving angiogenesis and balance in vascular endothelial growth factor and endostatinic in male rats with myocardial infarction. *Feyz* 2019;23(4):407-14.
19. Patterson CaR, M. S. Therapeutic angiogenesis: the new electrophysiology? *Circulation.* 1999;99(20):2614-6.
20. Dobsk P NM, Siegelov J, et al. Low-frequency electrical stimulation increases muscle strength and improves blood supply in patients with chronic heart failure. . *Circ J.* 2006;70(1):75-82.
21. Bertinchant J RE, Polge A, Marty-Double C, Fabbro-Peray P, Poirey S, et al. . Comparison of the diagnostic value of cardiac troponin I and T determinations for detecting early myocardial damage and the relationship with histological findings after isoprenaline-induced cardiac injury in rats. *Clin Chim Acta.* 2000;298((1-2).):13-28.
22. Malekipooya M KM, Palizvan MR, Saremi A, Abedi B. Changes in Serum Troponin-I and. Changes in Serum Troponin-I and Corticosterone Levels after a Period of Endurance Training and Electrical Stimulation in Infarcted Rats. . *Razi J Med Sci.* 2021;28(12):271-80 [Persian.]
23. MalekiPooya M KM, Moradi M, Sayyah M. Acute response of exercise rehabilitation with electrical stimulation on serum levels antigen, carbohydrate 125 (CA-125) and cystatin (Cys-C) in myocardial infarction rats. . *Feyz* 2022;26(2):147-55 [Persian.]
24. Schefer V TM. Oxygen consumption in adult and AGED C57BL/6J mice during acute treadmill exercise of different intensity .*Exp Gerontol.* 1996;31(3):387-92.
25. Maleki Poya M. AB, Palizvan MR., et al. . The Effect of Eight Weeks of Incremental Endurance Training on The Levels of Matrix Metalloproteinase-1 (MMP1) and Thrombospondine-1 (TSP1) in the Rats, Induced by Myocardial Infarction by Isoproterenol. *J Arak Uni Med Sci.* 2019;22(3):118-28. [Persian.]
26. Shen M YM, Qiu C, Zhang G, Li J, Fang W, et al. . Myocardial angiogenesis induced by exercise training involves a regulatory mechanism mediated by kinin receptors. . *Clin Exp Hypertens.* 2021;43(5):408-15. .
27. Raju R PSM, Sandhya V.K, Sahu A, Alipoor A, Balakrishnan L, at all. . A network map of FGF-1/FGFR signaling system. *J Signal Transduct.* 2014:962962.
28. Mirzaei Amirabad G AMR, Rahimi M. . The Effect of Exercise with Different Intensity and Volume on fibroblast growth factor (FGF-2) Gene Expression in Subcutaneous and Visceral Adipose tissue in Male Rats. *J Of Sport and Exercise Physiology.* 2018;11(2):103-16.
29. Sarikhani N QM, Malekipooya M. . The effect of exercise activity with different intensity and volume on the expression of PDGF-B and FGF-2 genes in subcutaneous fat tissue of Wistar rats. *Journal of Faculty of Medicine, , ; . Mashhad University of Medical Sciences.* 2022;65(3):1259-67.

30. Khadivi Borujeny A MM, Haghjooy Javanmard Sh, Rajabi H, Khadivi Burojeny Z, Khorshidi Behzadi Mahd. . Effect of Eight Weeks of Resistance Training on Some Signaling Factors Affecting on the Satellite Cells in Wistar Rats. *Journal of Isfahan Medical School* .(۲۰۷)۳۰;۲۰۱۲
31. Ardakanizade M RK, Nazem F. . The effect of ten factors of endurance activity on the gene expression of factors involved in the process of skeletal muscle angiogenesis after myocardial infarction in rats. *Koomesh*. 2017;19(1):84-92.
32. Cheragh Birjandi S SM, Hedayati M. Effect of high intensity interval training and L-Arginine supplementation on serum levels of fibroblast growth factor 21 and atrial natriuretic peptide in overweight and obese young men. . *Journal of Birjand University of Medical Sciences ; ()*: [Persian]. 2016;23(3):211-21.
33. Nameni F NMMS. The effect of endurance resistance exercise combined with Lcitrulline malate supplement on FGF, VEGF, and fatigue among young bodybuilders. . *Ebnesina J*. 2020;21(4.)
34. Karnoub AE WR. Ras oncogenes :split personalities. *Nat Rev Mol Cell Biol*. . 2008; 9(7):517-31.
35. Sponder M, Campean IA, Emich M, Fritzer-Szekeres M, Litschauer B, Graf S, et al. Long-term physical activity leads to a significant increase in serum sRAGE levels: a sign of decreased AGE-mediated inflammation due to physical activity? *Heart and vessels*. 2018;33(8):893-900.
36. Gu J-W, Shparago M, Tan W, Bailey AP. Tissue endostatin correlates inversely with capillary network in rat heart and skeletal muscles. *Angiogenesis*. 2006;9(2):9.۳-۹
37. 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. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2010;20(3):441-8.
38. Motahari Rad M AHSRRoVEGFaEtaSAbaaaPoL-ASiAM. *Arak Medical University Journal (AMUJ) Original Article* 2017;20(119):78-88.
39. J S. L-Arginine and L-Ornithine Supplementation Facilitates Angiogenesis and Causes Additional Effects on Exercise induced Angiogenesis in Hind-leg Muscles. *Advances in exercise and sports physiology*. 2009;15(3):101-8.
40. Nourshahi M, Farahmand F, Bigdeli MR. Effect of cinnamon-extract supplementation on VEGF and Endostatin level in hind leg muscle of aged rats after one session of exhaustive exercise. *Iranian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2017;1(3):184-76.
41. Noris M, Morigi M, Donadelli R, Aiello S, Foppolo M, Todeschini M, et al. Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions .*Circulation research*. 1995;76(4):536-43.
42. Okada M, Oba Y, Yamawaki H. Endostatin stimulates proliferation and migration of adult rat cardiac fibroblasts through PI3K/Akt pathway. *European journal of pharmacology*. 2015;750:20-6.
43. Song XM WX, Li JG ,Le LL, Liang H, Xu Y, et al. . The effect of electroacupuncture at ST36 on severe thermal injury-induced remote acute lung injury in rats. *Burns*. 2015;41:1449-58. .
44. Sun X LM, Shen D, Hu L, Cai RL, Wu ZJ, et al. . Effects of Acupuncture Neiguan (PC 6 (and Xinshu (BL 15)on the expression of MMP-9 with coronary heart disease rats. *J Tradit Chin Med*. 2013;036:5-9.

Original Article

The response of fibroblast-derived factor and endostatin to acute rehabilitation of physical activity along with electrical stimulation in infarcted rats

Received: 21/10/2023 - Accepted: 15/05/2024

Mohammad Malekipooya^{1*}

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

Email: maleki.p@gmail.com

Abstract

Background: Myocardial infarction is one of the main causes of death in today's society. Rehabilitation changes some markers in this disease. The aim of this research is to investigate the reaction of factor derived from fibroblasts and endostatin to the acute rehabilitation of physical activity along with electrical stimulation in infarcted rats.

Materials and Methods: In this controlled experimental study with a control group, 50 Wistar rats (8weeks old, $220\pm15g$) were induced with isoproterenol (150mg/kg) to infarction. Then they were randomly divided into 5 groups of 10 healthy, infarct, rehabilitation, electrical stimulation and rehabilitation with electrical stimulation. The intervention groups underwent increasing rehabilitation (with a speed of 10 to 18m/min and duration of 50m) and electrical stimulation (a foot shock with an intensity of 0.5 M/A and duration of 20m) for one session. After exercise and anesthesia, venous blood samples were collected for FGF-2 and Ens serum levels and evaluated by ELISA method. ANOVA was used for data analysis at a significance level of $P<0.05$.

Results: Induction of rats with isoproterenol led to a significant increase in the serum levels of FGF-2 and Ens in all groups ($P=0.0001$). ANOVA showed that a session of rehabilitation led to a significant increase ($P=0.040$) of serum FGF-2 levels and a non-significant decrease ($P=0.547$) of Ens in all groups compared to infarction.

Conclusion: It seems that increasing acute rehabilitation by creating positive angiogenic changes in infarcted rats can play an important role in improving myocardial damage and replacing closed capillaries.

Keywords: Exercise Rehabilitation, Infarction, Fibroblast Growth Factor-2, Endostatin

Acknowledgement: There is no conflict of interest