

# بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر میزان فاکتور رشد اندوتلیال عروق و اندوستاتین سرم در موش‌های صحرایی

مریم نورشاهی<sup>۱\*</sup> (Ph.D)، مهدی هدایتی<sup>۲</sup> (Ph.D)، جواد نعمتی<sup>۱</sup> (M.Sc)، کمال رنجبر<sup>۳</sup> (M.Sc)، میثم غلامعلی<sup>۱</sup> (B.Sc)

۱- دانشگاه شهید بهشتی تهران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش

۲- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات پیش‌گیری و درمان چاقی

۳- دانشگاه بو علی سینا همدان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش

## چکیده

سابقه و هدف: تمرینات استقامتی موجب افزایش چگالی مویرگی عضله اسکلتی و عضله قلبی می‌شود، اما فرایند مولکولی افزایش چگالی مویرگی در پاسخ به فعالیت هنوز معلوم نیست. فاکتور رشد اندوتلیال عروق (Vascular endothelial growth factor, VEGF) و اندوستاتین مهم‌ترین فاکتورهای درگیر در فرایند آنژیوژنز می‌باشند. بنابراین در این مطالعه به بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر میزان تغییرات پروتئین VEGF و اندوستاتین سرم در موش‌های صحرایی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: بدین منظور ۲۰ موش صحرایی نر ویستار با دامنه سنی  $6 \pm 64$  روزه انتخاب شدند. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه تمرینی ( $n=10$ ) و کنترل ( $n=10$ ) تقسیم شدند. فعالیت تمرینی شامل ۸ هفته دویدن بر روی تردمیل بود. بعد از اتمام دوره تمرینی آزمودنی‌ها به وسیله گاز هالوتن بی‌هوش شده و از سرخرگ آئورت قلب به میزان ۲ ml خون‌گیری به عمل آمد. تغییرات VEGF و اندوستاتین سرم توسط کیت الایزا مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد که تمرینات استقامتی میزان VEGF را افزایش و میزان اندوستاتین سرم را به طور معناداری کاهش داد ( $P \leq 0.05$ ). همچنین نسبت VEGF به اندوستاتین در نتیجه سازگاری به دویدن بر روی تردمیل به طور معناداری افزایش یافت ( $P \leq 0.05$ ). از طرفی دیگر نتایج نشان داد که VEGF ارتباط معناداری با اندوستاتین سرم ندارد.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان داد که با سازگاری به تمرینات ورزشی، تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیوستاتیک به سمت فاکتورهای آنژیوژنیک تغییر جهت می‌یابد. این یافته‌ها ممکن است بینش نوینی را در راستای فرایند مولکولی افزایش چگالی مویرگی در پاسخ به فعالیت استقامتی به وجود آورد.

واژه‌های کلیدی: فاکتور رشد اندوتلیال عروق، اندوستاتین، آنژیوژنز، تمرین استقامتی، موش‌های ویستار

## مقدمه

رشد یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های بدن در پاسخ به تمرینات ورزشی افزایش چگالی مویرگی می‌باشد [۱]. مطالعات صورت گرفته در این زمینه نشان می‌دهد که چگالی

مویرگی عضلات اسکلتی هم در نمونه‌های حیوانی و هم در نمونه‌های انسانی در پاسخ به تمرینات ورزشی افزایش می‌یابد [۲]. با وجود مطالعات زیادی که در این زمینه صورت گرفته، اطلاعات کمی در زمینه مکانیسم مولکولی توسعه شبکه

مویرگی در پاسخ به تمرینات ورزشی وجود دارد [۴،۳]. توسعه شبکه مویرگی از طریق فرایند آنژیوژنز صورت می‌گیرد. آنژیوژنز (Angiogenesis) به معنی به وجود آمدن مویرگ جدید از مویرگ‌های قبلی است [۶،۵]. فرایند ساخت مویرگ توسط تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیکی (فاکتورهای رگ‌ساز) و آنژیوستاتیکی (فاکتورهای بازدارنده) کنترل می‌شود [۷]. فاکتورهای آنژیوژنیکی به فاکتورهایی گفته می‌شود که در ساخت مویرگ تازه به طور مستقیم یا غیرمستقیم درگیر بوده و به ساخت و تکامل رگ کمک می‌کنند، به گونه‌ای که فقدان هر یک از این فاکتورها مراحل ساخت و تکامل مویرگ را با اختلال مواجه می‌سازد.

مهم‌ترین فاکتور آنژیوژنیکی فاکتور رشد اندوتلیال عروق (Vascular endothelial growth factor, VEGF) می‌باشد. فاکتور رشد اندوتلیال عروق یک گلیکوپروتئین همودایمیریک پایه‌ای متصل به هیپارین با وزن مولکولی ۴۵۰۰ دالتون است که برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و برای جوانه زدن مویرگ‌های جدید از عروق قبلی (آنژیوژنز) در طی رشد و توسعه شبکه مویرگی ضروری می‌باشد [۹،۸]. وقتی که VEGF به گیرنده‌های ویژه خود بر روی سلول اندوتلیال متصل می‌شود سیگنال‌هایی را فعال می‌سازد که موجب تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و افزایش نفوذپذیری عروق می‌شوند [۱۱،۱۰]. اگر چه مطالعات قبلی نشان می‌دهند که فعالیت ورزش حاد میزان بیان ژن VEGF را تغییر می‌دهد اما هنوز تغییرات VEGF در پاسخ به تمرینات منظم ورزشی مشخص نیست [۱۲].

از طرفی دیگر فاکتورهای آنژیوستاتیکی فاکتورهایی هستند که هر یک از آن‌ها در مرحله‌ای خاص از فرایند آنژیوژنز یا آرتریوژنز (افزایش قطر عروق) وارد عمل شده و مانع از روی دادن فرایند آنژیوژنز و آرتریوژنز می‌شوند. اندوستاتین (Endostatin) یکی از مهم‌ترین فاکتورهای آنژیوستاتیکی می‌باشد که قطعه جدا شده از کلاژن XVIII می‌باشد و دارای حجم مولکولی ۲۰ کیلو دالتون است [۱۴،۱۳]. این فاکتور بازدارنده توسط بافت‌های مختلفی در

بدن تولید می‌شود. مکانیسم بازدارندگی اندوستاتین بدین شکل است که این فاکتور به فاکتور آنژیوژنیکی VEGF متصل شده و مانع از عمل کردن آن می‌شود و بدین شکل مانع از تکثیر سلول‌های اندوتلیال می‌شود. هم‌چنین اندوستاتین مانع از تخریب غشای پایه مویرگ می‌شود که این امر در نهایت مانع از مهاجرت سلول‌های اندوتلیال می‌شود. در واقع اندوستاتین با ممانعت از تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال مانعی برای رشد شبکه مویرگی می‌باشد [۱۵].

مطالعات صورت گرفته در این زمینه نشان داده‌اند که میزان VEGF در مردان فعال افزایش می‌یابد. این در حالی است که این میزان در مردان سالم غیرفعال تغییر نمی‌کند [۱۶]. از طرفی دیگر رنجبر و هم‌کاران (۲۰۱۱) نشان دادند که میزان VEGF سرم در مردان و زنان فعال و غیرفعال متفاوت نمی‌باشد [۱۷]. اما مطالعات صورت گرفته در زمینه تاثیر فعالیت بدنی بر میزان اندوستاتین بسیار محدود می‌باشد و در این زمینه اطلاعات اندکی در دسترس است [۱۸].

در حالت نرمال بین فاکتورهای آنژیوژنیکی و آنژیوستاتیکی تعادل برقرار است. اما هم‌واره در موقعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیکی و آنژیوستاتیکی بر هم می‌خورد، که یکی از این موقعیت‌ها می‌تواند فعالیت ورزشی باشد.

بنابراین در این مطالعه به این موضوع پرداخته خواهد شد که آیا تمرین استقامتی به منظور افزایش چگالی مویرگی، میزان VEGF را افزایش و میزان و اندوستاتین سرم را کاهش می‌دهد؟

## مواد و روش‌ها

حیوانات. در این پژوهش از ۲۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار که از موسسه تحقیقات واکسن‌سازی رازی تهیه شده بودند، استفاده شد. آزمودنی‌ها در محدوده سنی  $6 \pm 64$  روز و محدوده وزنی  $15 \pm 183$  گرم قرار داشتند. این حیوانات در شرایط استاندارد از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) حرارت ( $2 \pm 20$  درجه سانتی‌گراد) و رطوبت

سنجش مقدار اندوستاتین سرم از کیت (Rat endostatin, ELISA, Cusabio Biothech, Wuhan, China, CV=7.3% sensitivity=1.56 ng/ml) استفاده شد. روش آماری. داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS با  $Ver=16$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نرمال بودن داده‌ها به وسیله کولموگروف-اسمیرنوف مشخص شد. سپس برای بررسی اختلاف معنادار بین سطوح VEGF و اندوستاتین در دو گروه تمرینی و کنترل از آزمون t مستقل استفاده شد. هم‌چنین از ضریب هم‌بستگی پیرسون برای نشان دادن رابطه بین VEGF و اندوستاتین استفاده شد. سطح معناداری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. لازم به یادآوری است که یافته‌ها به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار نشان داده شده‌اند.

جدول ۱. شیوه اجرای تمرین در طول ۸ هفته فعالیت

سرعت (m/min)	مدت (دقیقه)	هفته
۱۰	۳۰	اول
۲۰	۴۰	دوم
۲۰	۴۵	سوم
۲۵	۵۰	چهارم
۲۵	۵۵	پنجم
۳۰	۶۰	ششم
۳۰	۶۰	هفتم
۳۰	۶۰	هشتم

## نتایج

میزان VEGF سرم در گروه کنترل  $16/30 \pm 1/39$  pg/ml و در گروه تمرین کرده  $19/8 \pm 2/61$  pg/ml بود. نتایج آماری نشان داد که میزان VEGF در پاسخ به ۸ هفته فعالیت استقامتی به طور معناداری افزایش پیدا کرد ( $P=0/0001$ ). در همین راستا میزان اندوستاتین در گروه کنترل  $187/40 \pm 19/01$  ng/ml و در گروه تمرین کرده  $135/50 \pm 18/44$  ng/ml بود. نتایج آماری نشان می‌دهد که میزان اندوستاتین در پاسخ به فعالیت به طور معناداری کاهش یافت ( $t_{(18)} = -6/67, P=0/0001$ ) (شکل ۲). هم‌چنین نسبت

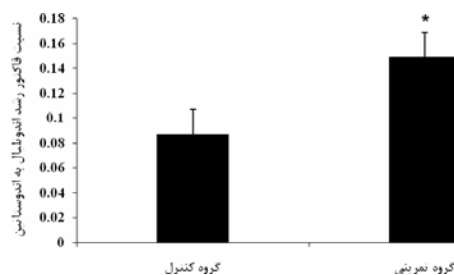
( $\pm 5\%$  درصد) در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند و دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور آشناسازی آزمودنی‌ها با نحوه دویدن بر روی نوارگردان ویژه جوندگان، به مدت یک هفته هر روز ۱۰ دقیقه با سرعت ۵ m/min و شیب صفر درجه شروع به دویدن کردند. این پروتکل موجب به وجود آمدن سازگاری در آزمودنی‌ها نمی‌شود [۱۹، ۱۲]. تمرین بر روی تردمیل جوندگان (طراحی داخل دانشگاه تربیت مدرس) صورت پذیرفت. گروه‌های آزمایشی. به منظور بررسی تاثیر تمرینات ورزشی بر پروتئین‌های VEGF و اندوستاتین سرم آزمودنی‌ها به طور تصادفی به دو گروه تمرینی (تعداد=۱۰) و کنترل (تعداد=۱۰) تقسیم شدند.

ورزش. موش‌های گروه تمرینی به مدت ۸ هفته (هر هفته ۵ جلسه) فعالیت منظم هوازی فزاینده را تجربه کردند. در هفته اول آزمودنی‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰ m/min شروع به تمرین کردند. با ادامه تمرینات مدت زمان و سرعت فعالیت افزایش پیدا کرد تا این‌که در هفته هشتم آزمودنی‌ها به مدت یک ساعت و با سرعت ۳۰ m/min به فعالیت می‌پرداختند. در کل برنامه تمرینی شیب تردمیل ثابت بود (صفر درجه). برنامه تمرینی موش‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. آزمودنی‌های گروه کنترل در هیچ تمرینی شرکت نکردند. ۴۸ ساعت بعد از اتمام پروتکل تمرینی، به منظور اندازه‌گیری VEGF و اندوستاتین سرم، آزمودنی‌ها توسط هالوتن (Halothane) بی‌هوش شده و سپس ۲ میلی‌لیتر خون از سرخرگ آئورت گرفته شد.

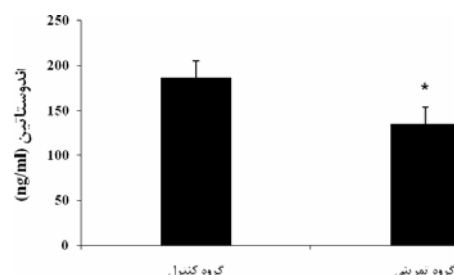
اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی. به منظور جداسازی سرم، نمونه‌های خونی گرفته شده در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و تا زمان اندازه‌گیری VEGF و اندوستاتین در دمای  $-80^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند. برای آنالیز داده‌های مربوط به VEGF از کیت الایزا (Rat VEGF, ELISA, R & D, Minneapolis, USA, Intraassay CV%: 6.9 & Sensitivity: 8.4 pg/ml) و برای

را سرم را به طور معناداری افزایش داد، که این یافته با نتایج گاوین و همکاران (۲۰۰۱) و هوساین و همکاران (۲۰۰۴) همسو است. گاوین و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که تمرینات ورزشی کوتاه مدت میزان mRNA VEGF را به طور معناداری افزایش می دهد [۳]. هم چنین هوساین و همکاران نشان دادند که تمرینات شنا به مدت ۸ هفته میزان mRNA و پروتئین VEGF را در عضله قلبی موش های صحرایی به طور معناداری افزایش می دهد [۲۰]. اما یافته های این مطالعه با نتایج بریکسیوس و همکاران (۲۰۰۸) مخالف است. بریکسیوس و همکاران نشان دادند که میزان VEGF سرم در مردان چاق ۵۰ تا ۶۰ ساله به دنبال ۶ ماه تمرینات منظم هوازی تغییر نمی کند [۲۱]. علت این اختلاف می تواند ناشی از نوع آزمودنی ها و مدت زمان فعالیت باشد. بریکسیوس در مطالعه خود از افراد چاق مسن استفاده کرده بود و هم چنین مدت زمان پروتکل تمرینی آن ها طولانی تر بود. در حالی که در این مطالعه، از موش های صحرایی استفاده شده و مدت زمان پروتکل تمرینی به نسبت مطالعه بریکسیوس کم تر است. مطالعات انجام شده حیوانی [۲۲، ۲۳] و انسانی [۲۴] تغییر در بیان ژن فاکتورهای آزیوژنیک عامل رشد فیبروبلاست (Fibroblast growth factor) و VEGF را به دنبال تمرینات ورزشی نشان داده اند. رولمن و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که تغییر در میزان VEGF سرم ناشی از تغییر در میزان بیان ژن آن در بافت های مختلف از جمله عضله اسکلتی فعال می باشد [۲۵]. ایمیتسو و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که تمرینات ورزشی از طریق فعال سازی مسیر کینازی Akt (Serine-threonine Kinase, Akt) و افزایش سطح eNOS (Endothelial nitric oxide synthase, eNOS) میزان بیان ژن VEGF را در عضله قلبی افزایش می دهد [۲۶]. هم چنین فریزی و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که ۱۰ هفته تمرینات استقامتی از طریق افزایش نیتریک اکساید (Nitric oxide, NO) میزان چگالی مویرگی عضلات فعال را افزایش می دهد [۲۷]. فریزی و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که افزایش NO تولید شده در پاسخ به تمرینات ورزشی، میزان VEGF

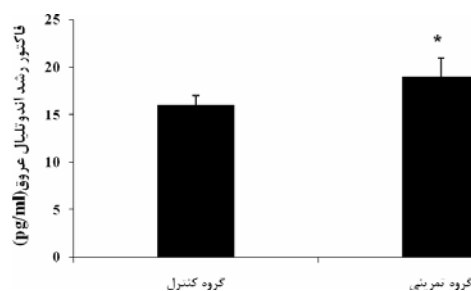
VEGF به اندوستاتین در گروه کنترل  $0.087 \pm 0.004$  و در گروه تمرین کرده  $0.149 \pm 0.008$  بود. تمرینات استقامتی نسبت VEGF به اندوستاتین را به طور معناداری افزایش داد ( $t_{(18)} = -6.67, P = 0.0001$ ) (شکل ۳). از طرفی دیگر میزان VEGF ارتباط معناداری با میزان اندوستاتین سرم نداشت ( $r = -0.41, P = 0.069$ ).



شکل ۱. افزایش فاکتور رشد اندوتلیال عروق در پاسخ به تمرینات استقامتی، \* اختلاف معنادار بین دو گروه، سطح معناداری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.



شکل ۲. کاهش اندوستاتین سرم در پاسخ به تمرینات استقامتی، \* اختلاف معنادار بین دو گروه، سطح معناداری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.



شکل ۳. افزایش نسبت فاکتور رشد اندوتلیال عروق به اندوستاتین در پاسخ به تمرینات استقامتی، \* اختلاف معنادار بین دو گروه، سطح معناداری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## بحث و نتیجه گیری

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر تمرینات ورزشی بر میزان VEGF و اندوستاتین سرم در موش های صحرایی نژاد ویستار بود. نتایج نشان داد که تمرینات ورزشی میزان VEGF

سلولی کاهش می‌دهد و این امر ممکن است مانع از جدا شدن اندوستاتین از کلاژن شود [۲۹].

نتایج این مطالعه نشان داد که نسبت VEGF به اندوستاتین در پاسخ به تمرین ورزشی به طور معناداری افزایش می‌یابد. این یافته در راستای نتایج مطالعاتی است که بیان کرده‌اند که تمرینات ورزشی می‌توانند فرایند آنژیوژنز و چگالی مویرگی را از طریق افزایش VEGF و کاهش اندوستاتین توسعه دهند. تحقیقات مشخص کرده‌اند که فرایند آنژیوژنز ناشی از عدم تعادل طولانی‌مدت بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیوستاتیک رخ می‌دهد [۲۴].

نقش اصلی اندوستاتین فعال‌سازی سیگنال‌های درون سلولی است که عمدتاً مخالف سیگنال‌های VEGF برای تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال می‌باشند. به هر حال اطلاعات محدودی در زمینه نقش فاکتورهای آنژیوستاتیک از جمله اندوستاتین در تنظیم فرایند آنژیوژنز وجود دارد و ارتباط آن با VEGF هنوز ناشناخته است. در این مطالعه نیز نشان داده شد که میزان VEGF سرم ارتباط معناداری با میزان اندوستاتین سرم ندارد. در هر صورت واضح است که مشاهده تغییرات کلیه فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیوستاتیک نسبت به بررسی تغییرات فقط دو فاکتور VEGF و اندوستاتین به درک بهتری از فرایند آنژیوژنز منجر می‌شود.

به طور خلاصه این اولین مطالعه‌ای است که به بررسی تغییرات VEGF و اندوستاتین سرم در موش‌های صحرائی پرداخته است. نتایج پژوهش نشان داد که میزان VEGF در نتیجه سازگاری با فعالیت ورزشی افزایش و میزان اندوستاتین در نتیجه سازگاری با فعالیت ورزشی کاهش می‌یابد. هم‌چنین فعالیت ورزشی نسبت VEGF به اندوستاتین را به طور معناداری افزایش داد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی به منظور توسعه شبکه مویرگی تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیوستاتیک را به سمت فاکتورهای آنژیوژنیک تغییر می‌دهد. یافته‌های این پژوهش می‌توانند منجر به درک بهتر فرایند افزایش چگالی مویرگی در نتیجه سازگاری با تمرینات استقامتی گردند.

ترش‌چی از سلول‌های اندوتلیوم را افزایش داده و این امر در نهایت منجر به افزایش چگالی مویرگی می‌شود. از طرفی دیگر افزایش فشار برشی در طی تمرینات ورزشی می‌تواند یکی از علل افزایش فاکتورهای آنژیوژنیک باشد. مطالعات نشان داده‌اند که فشار برشی از طریق افزایش NO و متعاقباً فعال‌سازی HIF-1 (Hypoxia inducible factor-1)، نقشی کلیدی در افزایش VEGF سرم دارد [۲۹، ۲۸، ۱۲]. لازم به ذکر است که HIF-1 مهم‌ترین فاکتور تنظیم‌کننده فرایند نسخه‌برداری VEGF می‌باشد.

اندک مطالعات صورت گرفته در زمینه اندوستاتین نشان می‌دهد که میزان اندوستاتین سرم در پاسخ به فعالیت تک‌جلسه‌ای به طور معناداری در افراد سالم افزایش می‌یابد [۲۴]. اما یافته‌های به دست آمده از این مطالعه و سایر تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی بر خلاف فعالیت حاد، داری تأثیری متفاوت می‌باشند. در این پژوهش نتایج نشان داد که ۸ هفته دویدن بر روی تردمیل میزان اندوستاتین سرم را به طور معناداری کاهش داد. که این یافته با نتایج بریکسیوس و هم‌کاران (۲۰۰۸) موافق است. بریکسیوس نشان داد که میزان اندوستاتین در پاسخ به فعالیت هوازی طولانی‌مدت در مردان چاق کاهش می‌یابد [۲۱]. به علاوه سوهر و هم‌کاران (۲۰۱۰) نشان دادند که ۶ ماه فعالیت استقامتی میزان اندوستاتین را در مردان دوندۀ به طور معناداری کاهش می‌دهد [۳۰]. اما سیدا و هم‌کاران (۲۰۰۳) نشان دادند که تمرینات ورزشی میزان اندوستاتین را در مردان غیرفعال تغییر نمی‌دهد [۳۱]. این نتایج نشان می‌دهد که پاسخ اندوستاتین به تمرینات ورزشی به ویژگی‌های آنتروپومتریک و سطح آمادگی آزمودنی‌ها وابسته است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که میزان اندوستاتین با چگالی مویرگی و ویژگی‌های متابولیکی بافت، رابطه‌ای معکوس دارد [۲۱، ۱۸].

مکانیسم کاهش اندوستاتین در پاسخ به تمرینات ورزشی هنوز واضح و معلوم نیست [۱۸]. اما این احتمال داده می‌شود که تمرینات ورزشی میزان دگرگونی را در ماتریکس برون

- [11] Olfert IM, Howlett RA, Wagner PD, Breen EC. Myocyte vascular endothelial growth factor is required for exercise-induced skeletal muscle angiogenesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 299: 1059-1067.
- [12] Lloyd PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284: 1668-1678.
- [13] Ma L, Del Soldato P, Wallace JL. Divergent effects of new cyclooxygenase inhibitors on gastric ulcer healing: Shifting the angiogenic balance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13243-13247.
- [14] Li HL, Li S, Shao JY, Lin XB, Cao Y, Jiang WQ, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of intratumoral injection of an adenovirus encoding endostatin in patients with advanced tumors. *Gene Ther* 2008; 15: 247-256.
- [15] Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. *Pflugers Arch* 2009; 457: 963-977.
- [16] Kraus RM, Stallings HW, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1445-1450.
- [17] Ranjbar K, Nourshahi M, Hedayati M, Taheri H. Effect of gender and physical activity on serum vascular endothelial growth factor at rest and response of submaximal exercise. *Iran J Endocrinol Metab* 2011; 3: 294-300. [Persian].
- [18] Gu JW, Shparago M, Tan W, Bailey AP. Tissue endostatin correlates inversely with capillary network in rat heart and skeletal muscles. *Angiogenesis* 2006; 9: 93-99.
- [19] Yang HT, Feng Y, Allen LA, Protter A, Terjung RL. Efficacy and specificity of bFGF increased collateral flow in experimental peripheral arterial insufficiency. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278: 1966-1973.
- [20] Husain K. Physical conditioning modulates rat cardiac vascular endothelial growth factor gene expression in nitric oxide-deficient hypertension. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320: 1169-1174.
- [21] Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years. *Br J Sports Med* 2008; 42: 126-129.
- [22] Hang J, Kong L, Gu JW, Adair TH. VEGF gene expression is upregulated in electrically stimulated rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 1995; 269: 1827-1831.
- [23] Breen EC, Johnson EC, Wagner H, Tseng HM, Sung LA, Wagner PD. Angiogenic growth factor mRNA responses in muscle to a single bout of exercise. *J Appl Physiol* 1996; 81: 355-361.
- [24] Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol* 2004; 4: 2.
- [25] Rullman E, Rundqvist H, Wågsäter D, Fischer H, Eriksson P, Sundberg CJ, et al. A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007; 102: 2346-2351.
- [26] Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyachi T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: 1290-1298.
- [27] 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: 2483-2492.
- [28] Kimura H, Weisz A, Kurashima Y, Hashimoto K, Ogura T, D'Acquisto F, et al. Hypoxia response element of the human vascular endothelial growth factor gene mediates transcriptional regulation by nitric oxide: control of hypoxia-inducible factor-1 activity by nitric oxide. *Blood* 2000; 95: 189-197.
- [29] 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. *Circ Res* 1995; 76: 536-543.
- [30] Suhr F, Rosenwick C, Vassiliadis A, Bloch W, Brixius K. Regulation of extracellular matrix compounds involved in angiogenic processes in short- and long-track elite runners. *Scand J Med Sci Sports* 2010; 20: 441-448.
- [31] Seida A, Wada J, Kunitomi M, Tsuchiyama Y, Miyatake N, Fujii M, et al. Serum bFGF levels are reduced in Japanese overweight men and restored by a 6-month exercise education. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 1325-1331.

اگر چه هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر مهم ترین فاکتورهای درگیر در فرایند آنژیوژنز (VEGF و اندوستاتین) در موش های نر ویستار بود، اما از محدودیت های این تحقیق می توان به اندازه گیری فقط دو فاکتور اصلی در فرایند آنژیوژنز اشاره کرد. پیشنهاد می شود برای تحقیقات آینده دیگر فاکتورهای درگیر در فرایند آنژیوژنز، مانند فاکتورهای آنژیوژنیک FGF و TGF و فاکتور آنژیو استاتینیکی آنژیو استاتین نیز اندازه گیری شوند.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از زحمات، تلاش ها و همکاری صمیمانه مسئولین و اساتید محترم دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تربیت مدرس در استفاده از امکانات آزمایشگاه حیوانات آن دانشکده، تشکر و قدردانی نمایند.

## منابع

- [1] Bloor CM. Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 2005; 8: 263-271.
- [2] Richardson RS, Wagner H, Mudaliar SR, Saucedo E, Henry R, Wagner PD. Exercise adaptation attenuates VEGF gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: 772-778.
- [3] Gavin TP, Wagner PD. Effect of short-term exercise training on angiogenic growth factor gene responses in rats. *J Appl Physiol* 2001; 90: 1219-1226.
- [4] Gavin TP, Ruster RS, Carrithers JA, Zwestloot KA, Kraus RM, Evans CA, et al. No difference in the skeletal muscle angiogenic response to aerobic exercise training between young and aged men. *J Physiol* 2007; 585: 231-39.
- [5] Wood RE, Sanderson BE, Askew CD, Walker PJ, Green S, Stewart IB. Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. *Clin Sci (Lond)* 2006; 111: 401-409.
- [6] Huber-Abel FA, Gerber M, Hoppeler H, Baum O. Exercise-induced angiogenesis correlates with the up-regulated expression of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) in human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2012; 112: 155-162.
- [7] McCarty MF, Block KI. Multifocal angiostatic therapy: an update. *Integr Cancer Ther* 2005; 4: 301-314.
- [8] Iversen N, Krstrup P, Rasmussen HN, Rasmussen UF, Saltin B, Pilegaard H. Mitochondrial biogenesis and angiogenesis in skeletal muscle of the elderly. *Exp Gerontol* 2011; 46: 670-678.
- [9] Schlager O, Giurgea A, Schuhfried O, Seidinger D, Hammer A, Groger M, et al. Exercise training increases endothelial progenitor cells and decreases asymmetric dimethylarginine in peripheral arterial disease: A randomized controlled trial. *Atherosclerosis* 2011; 217: 240-248.
- [10] Wahl P, Zinner C, Achtzehn S, Behringer M, Bloch W, Mester J. Effects of acid-base balance and high or low intensity exercise on VEGF and bFGF. *Eur J Appl Physiol* 2010; 111: 1405-1413.

## Effect of 8 weeks endurance training on serum vascular endothelial growth factor and endostatin in Wistar rats

Maryam Nourshahi (Ph.D)<sup>\*1</sup>, Mehdi Hedayati (Ph.D)<sup>2</sup>, Javad Nemati (M.Sc)<sup>1</sup>, Kamal Ranjbar (M.Sc)<sup>3</sup>, Meysam Gholamali (B.Sc)<sup>1</sup>

1 – Dept. of sports science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2 – Dept. of medical sciences, Endocrine Research Center, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

3 – Dept. of sports science, Boali University, Hamadan, Iran

(Received: 29 Aug 2011 Accepted: 4 Mar 2012)

**Introduction:** Endurance training increases capillary density in skeletal and heart muscles. But the molecular mechanism of these processes is not yet clear. Substantial evidence indicates that the vascular endothelial growth factor (VEGF, angiogenic factor) and endostatin (antiangiogenic factor) might play key role in this process. Therefore, we investigated the effect of endurance training on serum levels of VEGF and endostatin in wistar rat.

**Materials and Methods:** The study was performed in 20 male wistar rats, which were aged between  $64 \pm 6$  days. All rats were subdivided into two groups randomly: endurance training group (n = 10) and sedentary group (n = 10). Therefore, the training group received 8 weeks of treadmill endurance training. At the end of endurance training program, the rats were anesthetized with halothane, and then blood sample was drawn from the descending aorta for measurement of serum levels of VEGF and endostatin. Serum levels of VEGF and endostatin was measured by ELISA method.

**Results:** Results of the study showed that endurance training increased serum levels of VEGF and decreased endostatin significantly. Furthermore, with adaptation to endurance training VEGF/endostatin ratio increased significantly. Also, VEGF has not significant correlation with endostatin.

**Conclusion:** These finding suggested that with adaptation to endurance training the balance between angiogenic and angiostatic factor switched to angiogenic factor. These finding may provide new insight into the mechanisms relating to capillary density increment in response of endurance training.

**Keywords:** VEGF, Endostatin, Angiogenesis, Endurance training, Wistar rats

---

\* Corresponding author: Fax: +98 21 22431953; Tel +98 9126306358  
m-nourshahi@sbu.ac.ir