

The effect of 10 weeks of aerobic exercise on nitric oxide and vascular endothelial growth factor to aerobic exercise after transplantation of mesenchymal stem cells in myocardial infarction model rats.

Fatemeh Kolbadi Nejad, Seyed Abdollah Hashemvarzi*¹, Abdolreza Jafari

Department of Physical Education and Sport Science, Sar.C, Islamic Azad University, Sari, Iran

Received: 14 October 2024; Accepted: 08 February 2024, Published: 20 December 2025

Abstract

Introduction and Objective: Myocardial infarction, as the most common cause of heart failure, is one of the most common cardiovascular diseases. The aim of this study was to determine the response of nitric oxide and vascular endothelial growth factor to 10 weeks of aerobic exercise after transplantation of mesenchymal stem cells in myocardial infarction model mice. **Materials and Methods:** In this experimental study, 60 male Wistar rats with an age range of 7-8 weeks were used. The subjects were divided into 6 groups of 10. Healthy control group, patient control, sham, cell, exercise and cell + exercise. To induce myocardial infarction, the anterior descending artery was completely blocked using 6.0 silk thread. After extraction of stem cells, approximately 106 cells were injected into each mouse via the caudal vein. The exercise program included running on a treadmill for 50 minutes for 5 days a week. The Kolmogorov-Smirnov test was used to determine the normality of the data distribution, and the one-way analysis of variance test was used to determine significance, and the Tukey post hoc test was used to clarify the location of the difference.

Findings: The findings of this study showed that myocardial infarction induction caused a significant decrease in NO and VEGF levels in the patient group compared to the healthy control group ($p < 0.001$, $p < 0.001$, respectively). Also, stem cell injection caused a significant increase in VEGF and NO levels in the stem cell group compared to the patient control group ($p < 0.001$). Also, stem cells also caused an increasing trend in NO levels, but it did not reach a significant level ($p = 0.12$).

Conclusion: These findings indicate that VEGF and NO levels in the experimental group increased following 10 weeks of treatment with aerobic exercise and stem cells, through a paracrine mechanism. Also, increasing the levels of VEGF and NO by increasing angiogenesis improves heart function and prevents myocardial infarction. Increasing angiogenic factors increases blood supply and cardiac output in cardiovascular function and increases left ventricular functional indices.

Keywords: aerobic exercise, mesenchymal stem cell, nitric oxide, VEGF, myocardial infarction.

¹. **Corresponding author**

Seyed Abdollah Hashemvarzi

Address: Department of Physical Education and Sport Science, Sar.C, Islamic Azad University, Sari, Iran

Tel: 09111160278

Email: SA.Hashemvarzi@iau.ac.ir

اثر ۱۰ هفته تمرین هوازی بر مقادیر نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی در موش‌های مدل انفارکتوس قلبی

فاطمه کلبادی نژاد، سید عبدالله هاشم‌ورزی^{۱*}، عبدالرضا جعفری

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۹ تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۹/۳۰

چکیده

مقدمه و هدف: انفارکتوس قلبی به عنوان شایع‌ترین علت نارسایی قلب، یکی از رایج‌ترین بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد و هدف از اجرای این پژوهش تعیین پاسخ نیتریک اکساید و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی به مدت ۱۰ هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی در موش‌های مدل انفارکتوس قلبی بود.

مواد و روش: در این مطالعه تجربی از ۶۰ سر موش نر ویستار با دامنه سنی ۷-۸ هفته‌ای استفاده شد. آزمودنی‌ها به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شد. گروه کنترل سالم، کنترل بیمار، شم، سلول، تمرین و سلول + تمرین. برای ایجاد انفارکتوس قلبی با استفاده از نخ سیلک ۰/۶ شریان پایین رونده قدامی را به طور کامل مسدود شد. سلول‌های بنیادی پس از استخراج، حدود ۱۰^۶ سلول برای هر موش از طریق سیاهرگ دمی تزریق شد. برنامه تمرینی شامل دویدن بر روی تردمیل به مدت ۵۰ دقیقه برای ۵ روز در هفته در نظر گرفته شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف و از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای معناداری و به منظور روشن نمودن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: یافته‌های این پژوهش نشان داد که القای انفارکتوس میوکارد موجب کاهش معنادار در سطوح NO و VEGF در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم شد (به ترتیب $p < 0.001$ ، $p < 0.001$). همچنین با تزریق سلول‌های بنیادی، موجب افزایش معنادار سطوح VEGF و NO در گروه سلول بنیادی در مقایسه با گروه کنترل بیمار شد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهد که سطوح VEGF و NO در گروه تجربی متعاقب ۱۰ هفته درمان با تمرینات هوازی و سلول‌های بنیادی، از طریق مکانیسم پاراکرین، افزایش یافت. همچنین افزایش مقادیر VEGF و NO با افزایش رگ‌زایی باعث بهبود عملکرد قلب و پیشگیری از انفارکتوس قلبی می‌شود. افزایش عوامل رگ‌زایی باعث افزایش خون‌رسانی و افزایش برون ده قلبی در عملکرد قلب و عروق و افزایش شاخص‌های عملکردی بطن چپ نیز می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، سلول بنیادی مزانشیمی، نیتریک اکساید، VEGF، انفارکتوس قلبی

^۱ نویسنده مسؤول

سید عبدالله هاشم‌ورزی

نشانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۱۶۰۲۷۸

ایمیل: SA.Hashemvarzi@iau.ac.ir

مقدمه

پیری جمعیت، سبک زندگی مدرن سریع، عادات غذایی ضعیف و سایر عوامل اجتماعی-روانی، منجر به افزایش دائمی و سریع خطر ابتلا به بیماری های قلبی و عروقی در جمعیت جوان با توان مالی پایین می شود. انفارکتوس میوکارد (MI)^۱ از جمله عوامل اصلی نارسایی قلبی در افراد بزرگسال و یکی از مهم ترین علل مرگ و میر در جهان است (۱). انسداد کرونر با قطع جریان خون عروق کرونری بعد از محل نارسایی همراه است و قسمتی از عضله میوکارد فاقد جریان خون می ماند که در این شرایط عضله میوکارد نمی تواند به فعالیت خود ادامه دهد و در نتیجه دچار ایسکمی می شود. در حال حاضر درمان کاملاً موثری برای حفاظت قلبی در برابر آسیب های ناشی از ایسکمی و جریان مجدد میوکارد به دنبال انفارکتوس وجود ندارد (۳ و ۲). در طول انفارکتوس میوکارد، ایسکمی و بهبود بافت قلب، زنجیره ای از واکنش های سیگنالینگ شامل افزایش گونه های اکسیژن فعال (ROS) و سطوح Ca^{2+} داخل سلولی، اختلال در تنظیم نیتریک اکساید (NO)، سنتاز اندوتلیال (eNOS) و فعال شدن فاکتور $\alpha 1$ ناشی از هیپوکسی مورد نیاز برای خون را آغاز می کنند. فرایند تشکیل عروق که توسط سلول های اندوتلیال (ECs) به نام رگ زایی انجام می شود (۴). ایسکمی حاد قلبی موجب افزایش گونه های فعال اکسیژن و فعال کردن مسیرهای سیگنالی مضر می شود که بیان سایتوکاین های التهابی را تحریک کرده و نفوذ عوامل التهابی را به ناحیه ایسکمی افزایش می دهد. گزارش های بسیاری نشان می دهد که اکثر جمعیت های سلولی قلب، از جمله کاردیومیوسیت ها، ماکروفاژها، فیبروبلاست ها و مونوسیت ها مقدار بالایی از فاکتور رشد اندوتلیال عروقی را بیان می کنند (۵). تشکیل مویرگی جدید تحت انفارکتوس میوکارد از ناحیه مرزی شروع می شود و تا ناحیه نکرور انفارکتوس ادامه می یابد، که یک فرآیند ترمیمی در نظر گرفته می شود. در واقع، تشکیل ساختارهای عروقی جدید در نواحی که قبلاً فاقد رگ بوده اند، (نئو واسکولاریزاسیون) می تواند اندازه انفارکتوس را کاهش دهد و خطر بازسازی نامطلوب قلب را محدود کند، و همچنین بقای قلب و عملکرد قلب را بهبود بخشد (۷ و ۶). رشد عروق و مویرگ های جدید پس از انفارکتوس میوکارد رویدادی حیاتی در فرآیند هایپرتروفی جبرانی در بخش میوکارد فعال باقی مانده می باشد (۸). آنژیوژنز فرآیند تشکیل عروق خونی جدید است که توسط عواملی از جمله VEGF و eNOS انجام می شود. VEGF فاکتوری حیاتی برای روند رگ زایی میوکارد و بازسازی آن بعد از انفارکتوس میوکارد است (۹). از طرفی NO نیز در بسیاری از فرآیندهای سلولی مانند تنظیم تون عروقی، تکثیر سلولی و آنژیوژنز نقش دارد و برای هموستاز قلبی عروقی لازم است. eNOS تولید نیتریک اکساید را از آل آرژنین کاتالیز می کند. حذف ژنتیکی eNOS منجر به افزایش فشار خون، آنژیوژنز ناقص، باز شکل گیری غیرطبیعی عروق و افزایش احتمال آترواسکلروز می شود (۹). در سال های اخیر، پیشرفت های قابل توجهی در درمان های MI به لطف استراتژی های موفق و سریع عروق مجدد حاصل شده است که منجر به بهبود نتایج و بقای بیماران شده است. با این حال، پیامدهای نامطلوب ناشی از کمبود اکسیژن به دلیل تأثیر ایسکمی، از دست دادن کاردیومیوسیت ها، و هیپرتروفی و فیبروز ناشی از آن، به ناچار پیشرفت بیماری MI را به سمت نارسایی قلبی تحریک می کند (۱۰). از این رو، جستجو برای درمان های جدید که قادر به برقراری مجدد پرفیوژن و تأمین اکسیژن و مواد مغذی برای کاهش آسیب های ایسکمیک باشند، ضروری است. بیشتر متخصصان موافق هستند که امیدوارکننده ترین رویکرد برای رگ زایی درمانی با استفاده از سلول های بنیادی است؛ زیرا شامل فعال سازی همزمان مکانیسم های متعددی در مراحل مختلف شکل گیری و بلوغ عروق خونی است (۱۱). سلول های بنیادی مزانشیمی دارای خواص بیولوژیکی متمایزی از جمله اینکه با تعداد بیشتری تکثیر می شوند و با ژن های فعال رونویسی مرتبط با رشد و عملکرد کبد یا سیستم قلبی عروقی غنی شده اند. سلول های بنیادی مزانشیمی همچنین به ترشح فاکتورهای رشدی معروف است که به ترویج رگ زایی و کمک به مکانیسم های بهبود بافت از طریق سیگنال دهی پاراکرین کمک می کند (۱۲). از طرف دیگر عواملی همچون فعالیت بدنی و انقباض عضلانی بر آنژیوژنز اثر می گذارند. تمرین ورزشی

¹ . Myocardial Infarction

عملکرد اندوتلیالی را با گشاد کردن عروق (وازدیلیشن) و بهبود عملکرد وازوموتوری ارتقاء می‌دهد. ورزش با افزایش رشد عروق و بازشکل گیری در شرایط فیزیولوژیک می‌تواند خون رسانی عروق کرونری را افزایش دهد. ورزش اثرات مفیدی بر عروق کرونر مانند تقاضای اکسیژن میوکاردی، عملکرد اندوتلیالی، تون خودکار، مارکرهای التهابی و رشد عروق جانبی کرونری دارد (۱۳). تمرین ورزشی در مدل موش سلولهای پیش ساز اندوتلیال را افزایش داد و آنژیوژنز را بهبود بخشید. تمرین ورزشی بعد از MI ناحیه انفارکته را کاهش می‌دهد و تراکم مویرگی را افزایش می‌دهد (۱۴). در همین راستا شین و همکاران نشان دادند که تمرینات استقامتی بیان ژن فاکتورهای آنژیوژنیک را در عضله نعلی موش های چاق کاهش می‌دهد (۱۵). از طرفی لی و همکاران نشان دادند که فاکتورهای آنژیوژنیک به دنبال ۸ هفته تمرینات استقامتی در عضلات اسکلتی موش افزایش می‌یابد (۱۶). همچنین مطالعه های انسانی و حیوانی متعددی گزارش کرده اند پس از ابتلا به انفارکتوس میوکارد، اجرای منظم فعالیت ورزشی به بهتر شدن عملکرد قلبی-عروقی کمک می‌کند و موجب کاهش اختلال های بطن چپ می‌شود (۱۷). فعالیت ورزشی، قدرت بدنی بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد را تا ۲۰ - ۱۵ درصد بهبود می‌بخشد. ورزش استقامتی با کاهش تعداد ضربان قلب و اکسیژن مصرفی عضله قلب فعالیت روزانه را تسهیل می‌کند و خطر سکته مجدد را کاهش می‌دهد. ورزش نسبتاً شدید قدرت بدنی و عملکرد قلبی بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد را افزایش می‌دهد. در این بیماران حتی در صورت وجود عوارض، انجام فعالیت ورزشی مفید است (۱۸). رویدادهای درون سلولی که در طول ایسکمی میوکارد در مایوسیت ها رخ می‌دهد منجر به کاهش ذخیره مخازن آدنوزین نوکلئوتید، کاهش سطوح گلیکوژن، افزایش یون های هیدروژن، افزایش سطوح لاکتات کاهش تولید نیتریک اکساید (NO)، اضافه بار کلسیم، تولید گونه های واکنشی اکسیژن ROS باز شدن منافذ نفوذپذیری میتوکندریایی mPTP می‌شود و در نهایت این عوامل با افزایش آسیب میتوکندریایی، مرگ سلول را به دنبال دارند (۱۹). مکانیسم بازسازی عروقی به طور کامل مشخص نشده است؛ احتمال دارد بخشی به الگوی بکار گیری عضله و نوع تمرین بکار گرفته باشد. محقق به تحقیقی که همزمان به بررسی تاثیر سلول های بنیادی و تمرینات هوازی بر فاکتورهای آنژیوژنیک در نمونه های حیوانی پس از انفارکتوس میوکارد پرداخته باشد، دست نیافته است. لذا با توجه به تناقضات موجود در تاثیر تمرین هوازی و اهمیت روند آنژیوژنز در بیماران قلبی، پژوهش حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که تمرینات هوازی همراه با سلول های بنیادی چه تاثیری بر VEGF و NO در موش های مدل انفارکتوس میوکارد دارد؟

روش پژوهش

اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق تحت نظارت کمیته اخلاق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد مصوب IR.IAU.SARI. REC.1401.219 رعایت شد. پژوهش از نوع بنیادی و روش انجام تحقیق تجربی بود. ۶۰ سر موش صحرایی نر ویستار با دامنه سنی ۷-۸ هفته ای به عنوان نمونه در آزمایشگاه استاندارد ویژه جوندگان در شرایط دمایی بین ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۵۵٪ تا ۶۰٪ درصد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل شدند. تمام حیوانات به منظور سازگاری با تمرین به مدت دو هفته و هفته ای ۳ جلسه بر روی تردمیل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه دویدند. پس از آشنایی موش ها با شرایط آزمایشگاهی و انجام تمرینات سازگاری در هفته دوم، موش ها به صورت تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل سالم، کنترل بیمار، شم، سلول بنیادی، تمرین و سلول بنیادی + تمرین بود.

جهت ایجاد مدل انفارکتوس میوکارد ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم (۵۰ mg/kg ip) بیهوش شدند. سپس حیوان را به حالت خوابیده به پشت بر روی تخت مخصوص جراحی رت فیکس و دستها و پاها ی حیوان بسته شد. ناحیه قفسه سینه آن کاملاً تراشیده شده و بر روی تخت جراحی قرار داده شد و ۲۰۰ U/kg هپارین تزریق گردید. سپس با استفاده از

اتوسکوپ شماره ۳ و آنژیوکت سبز حیوان اینتوبه شد و بعد از انتوبه کردن، به دستگاه ونتیلاتور متصل گردید. قفسه سینه در فضای بین دندهای سوم و چهارم را با استفاده از قیچی به طول ۱۰ میلیمتر برش داده شد. لازم به ذکر است که در این مرحله باید با دقت برش اعمال می گردید تا به ریه چپ و یا قلب آسیبی نرسد. سپس پریکارد را به آرامی پاره کرده و نخ سیلک ۰/۶ با دقت از زیر شریان کرونری قدامی نزول چپ عبور داده شد. کشیدن و بستن نخ موجب ایسکمی دائمی شد. جهت اطمینان از انفارکته شدن موش از ثبت لید II الکتروکاردیوگرام دستگاه پاورلب استفاده شد (HARVARD - USA). (۲۰) سپس قفسه سینه، لایه های عضلانی و پوست با استفاده از نخ بخیه پرولن ۰/۵ در سه لایه دوخته شد و سپس پوست حیوان با نخ بخیه پرولن ۰/۳ بخیه زده شد. دمای بدن حیوان در حین عمل جراحی به وسیله پد حرارتی در دامنه 37 ± 1 درجه سانتیگراد حفظ شد. زمانی که رت ها به هوش آمدند آنها از دستگاه ونتیلاتور جدا شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت رت ها مجدداً بیهوش شدند و با دستگاه اکو مدل پروب S۱۰ (مگاهرتز) جهت تعیین انفارکتوس میوکارد انجام شد. در ضمن سفازولین و ترامادول به عنوان آنتی بیوتیک و مسکن روزی دو بار یک روز قبل از شروع جراحی و به مدت ۳ روز بعد از جراحی تزریق شد (۲۱).

به منظور جداسازی سلول های بنیادی مغز استخوان، از ۵ سر موش صحرایی نر ۶ هفته ای نژاد ویستار استفاده شد. بدین منظور، تحت بیهوشی کامل، استخوان ران و درشتنی موش ها خارج شد. سپس مغز استخوان استخراج و در دور ۱۲۰۰ (rpm) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سلول های جدا شده در محیط کشت α -MEM (PAA, Pasching, Austria) حاوی FBS ده درصد و آنتی بیوتیک پنسیلین + استرپتومایسین یک درصد کشت داده شد. پس از ۳ پاساژ مکرر، سلول های بنیادی مزانشیمی چسبیده به کف فلاسک با تریپسین جدا و با دور ۱۲۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سا نتریفیوژ گردید. سپس سلول های بنیادی مزانشیمال با تکنیک ایمونوسیتوکمیستری با آنتی بادی CD71 و CD90 مورد تایید قرار گرفت. سپس بعد از شستشو سلول ها با PBS و پیپتاژ کردن در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار، حدود 10^6 سلول در ۱ میکرولیتر محیط (PBS) برای هر موش از طریق سیاهرگ دمی بلافاصله بعد از القاء انفارکتوس قلبی تزریق شد (۲۲).

برنامه تمرینی اصلی، ۴ هفته پس از ایجاد سکته قلبی شروع شد. موش های گروه تمرینی به مدت ۱۰ هفته تمرین هوازی را با شدت ۱۷ متر بر دقیقه که معادل ۵۵ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود انجام دادند. برنامه تمرینی شامل دویدن بر روی تردمیل به مدت ۵۰ دقیقه برای ۵ روز در هفته در نظر گرفته شد. شیب تردمیل از هفته اول تا دهم به تدریج از صفر تا ۱۰ درصد افزایش یافت (۱۹). موش ها با تزریق دوز بیشتر داروی بیهوشی تیوپنتال سدیم به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند. سپس پس از بیهوشی کامل حیوان و ارزیابی میزان بی هوشی توسط فشردن انگشتان پا، ناحیه قفسه سینه باز و به میزان ۳ میلی لیتر خون با استفاده از سرنگ ۵ سی سی، مستقیماً از قلب آزمودنی ها گرفته شد. خون به وسیله سرنگ با فشار یکنواخت در جدار داخلی لوله فاقد EDTA (ماده ضد انعقاد) آزمایش تخلیه و نمونه ها تا زمان انتقال به آزمایشگاه در کنار یخ نگهداری شدند تا نمونه ها منعقد گردند. سپس بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ کردن، سطوح VEGF و NO با استفاده از کیت های آزمایشگاهی انجام شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری از آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای بررسی تغییرات VEGF و NO در بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنی داری بین گروه ها، به منظور روشن نمودن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $p < 0.05$ استفاده گردید. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام شد.

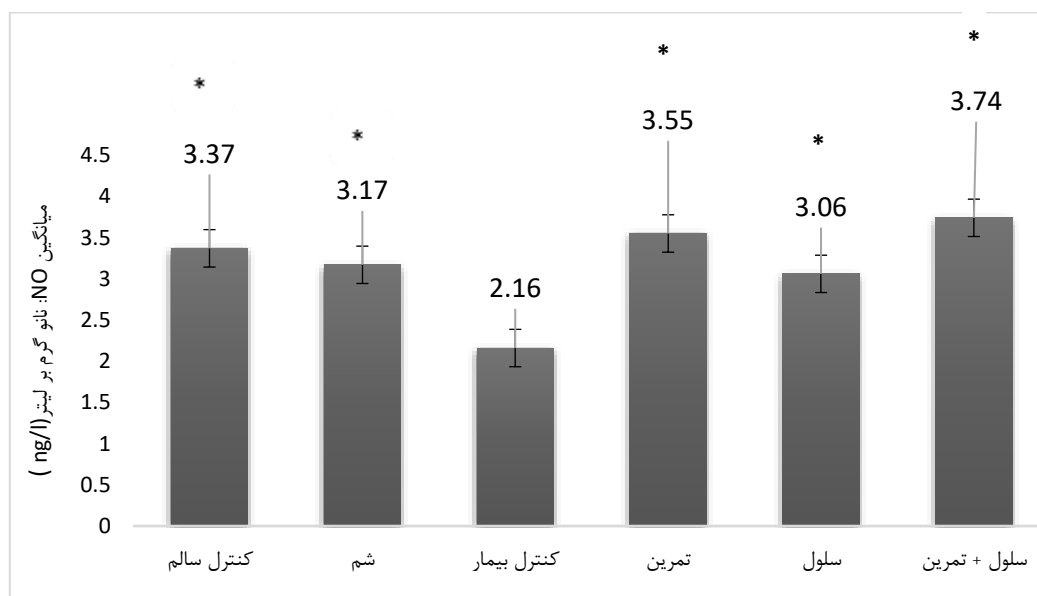
یافته ها

تغییرات توصیفی (میانگین $\pm$ انحراف معیار) مربوط به متغیرهای تحقیق (NO و VEGF) در گروه های مختلف در جدول ۱

آورده شده است. تجزیه و تحلیل با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که تغییرات معناداری در سطوح NO و VEGF در گروه های مورد مطالعه وجود دارد ($p < 0.001$). تداخلات محیطی بر گروه سالم، می خواهیم میزان تغییرات گروه های تجربی با گروه سالم را هم مورد بررسی قرار دهیم. نتایج نشان داد که القاء انفارکتوس میوکارد موجب کاهش معنادار در سطوح NO و VEGF در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم شد (به ترتیب $p < 0.001$, $p < 0.001$). همچنین نتایج نشان داد سلول های بنیادی افزایش معنادار سطوح VEGF در گروه سلول بنیادی در مقایسه با گروه کنترل بیمار شد ($p < 0.001$); شایان ذکر است که سلول های بنیادی روند افزایشی در سطوح NO را نیز موجب شد ولی به سطح معناداری نرسید ($p = 0.12$). تمرین هوازی نیز موجب روند افزایشی در سطوح NO و VEGF در گروه های تجربی در مقایسه با گروه بیمار شد (به ترتیب $p < 0.001$, $p < 0.001$). اثر تعاملی سلول های بنیادی و تمرین هوازی موجب افزایش بیشتر در سطوح NO و VEGF در گروه ترکیبی در مقایسه با سایر گروه ها شد. نتایج نشان می دهد که سلول های بنیادی و تمرین هوازی دارای اثر هم افزایی در افزایش NO و VEGF در موش های مبتلا به انفارکتوس میوکارد می باشند (به ترتیب $p < 0.001$, $p < 0.001$).

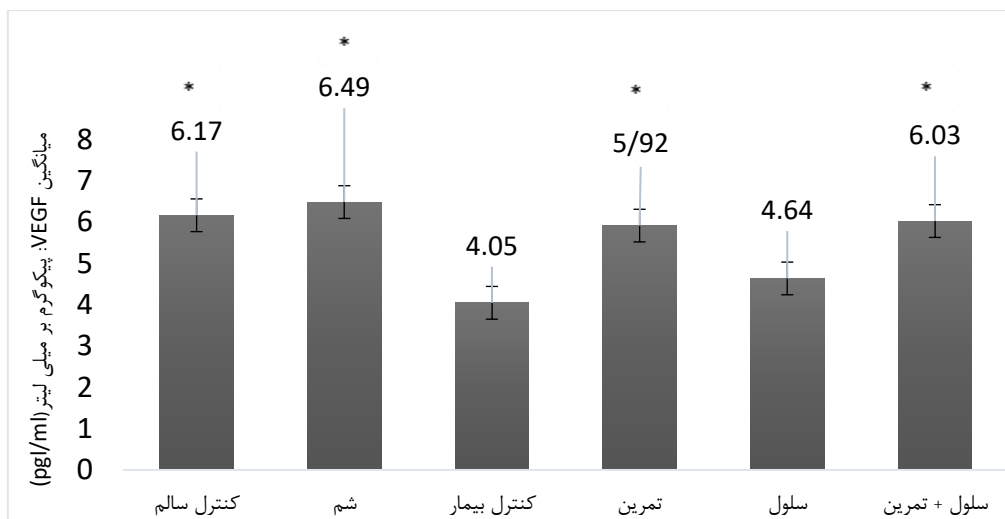
جدول ۱. تغییرات (میانگین $\pm$ انحراف معیار) مربوط به NO و VEGF در گروه های مختلف تحقیق

متغیر	کنترل سالم	کنترل بیمار	شم	سلول بنیادی	تمرین	سلول بنیادی + تمرین
NO (ng/l)	3/37 $\pm$ 0/39	2/16 $\pm$ 0/28	3/17 $\pm$ 0/42	3/55 $\pm$ 0/36	3/06 $\pm$ 0/36	3/74 $\pm$ 0/27
VEGF (pgl/ml)	6/17 $\pm$ 0/34	4/05 $\pm$ 0/42	6/49 $\pm$ 0/53	5/95 $\pm$ 0/70	4/64 $\pm$ 0/78	6/03 $\pm$ 0/46



نمودار ۱: مقایسه میانگین مقادیر سرمی NO در گروه های مورد مطالعه

* تفاوت معنادار با گروه بیمار ($P < 0.05$)



نمودار ۲: مقایسه میانگین مقادیر سرمی VEGF در گروه های مطالعه

* تفاوت معنادار با گروه بیمار ($P < 0.05$)

بحث

هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرینات هوازی همراه با سلول های بنیادی بر VEGF و NO در موش های مدل انفارکتوس میوکارد بود. با توجه به نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، القاء انفارکتوس میوکارد موجب کاهش معنادار سطوح VEGF و NO در موش های مدل انفارکتوس میوکارد شد. مطالعات قبلی نشان داده اند که سطوح VEGF پلاسما در بیماران مبتلا به انفارکتوس حاد میوکارد (AMI) در مقایسه با افراد سالم به طور قابل توجهی افزایش می یابد. علاوه بر این، مطالعات مربوط به AMI در مدل های حیوانی نشان داده است که VEGF باعث رگزایی در مناطق انفارکتوس شده و ناحیه AMI را کاهش می دهد (۲۳). همچنین محققان مشاهده کردند که هیپوکسی و ایسکمی باعث تحریک ترشح VEGF در بیماران مبتلا به AMI می شود و پیشنهاد کردند که افزایش قابل توجه VEGF نشان دهنده یک اثر محافظتی بر روی بیماران در نتیجه رگ زایی و تکثیر سلول های اندوتلیال است. با توجه به اثرات بیولوژیکی آن، VEGF ممکن است بتواند پیش آگهی طولانی مدت بیماران مبتلا به AMI را بهبود بخشد (۲۴). در سال ۲۰۱۲، ماتسوداریا و همکاران سطوح VEGF پلاسما را در ۸۷۳ بیمار مبتلا به AMI ۷ روز پس از شروع MI شناسایی کردند و دریافتند که سطوح VEGF پلاسما پایین بود (۲۵). علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان داده اند که سطوح VEGF پلاسما در بیماران مبتلا به AMI در روزهای ۷-۱۴ پس از شروع AMI به اوج خود می رسد که می تواند علت تناقض یافته های تحقیق حاضر با تحقیقات قبلی باشد. از طرفی سطوح NO نیز در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری را نشان داد. همسو با نتایج تحقیق حاضر، تحقیقات نشان دادند که سطح پایین NO پلاسما یک عامل خطر مهم برای توسعه و شدت بیماری های قلبی است و افزایش بیان NO می تواند در درمان بیماری های قلبی مزمن موثر باشد (۲۶). هنگامی که آرژنین توسط NO سنتز کاتالیز می شود، NO تولید می شود و موجب آرامش عضلات صاف، انتقال عصبی و تنظیم التهاب در بسیاری از شرایط پاتوفیزیولوژیک است. طبق گزارش ها، کاهش سطح NO پلاسما عوامل خطر مهمی برای توسعه و شدت CCS است و افزایش فعالیت زیستی NO می تواند CCS را درمان کند. در مطالعه حاضر نیز القاء انفارکتوس میوکارد موجب کاهش سطوح NO در گروه بیمار شد که می تواند از عوامل خطر مهم در نظر گرفته شود. بنابراین، تنظیم سطوح NO ممکن است یک استراتژی امیدوارکننده برای پیشگیری و درمان بیماری قلبی باشد (۲۶). همچنین نتایج پژوهش نشان داد که سلول های بنیادی و تمرین استقامتی موجب افزایش معنادار سطوح VEGF و NO در گروه های تجربی در مقایسه با گروه بیمار شدند. شواهد بر این باورند که تمرینات ورزشی باعث تغییرات گوناگونی در

عملکرد قلبی و عروقی می شود که از جمله آنها می توان به افزایش فعالیت آنزیم های هوازی، کاهش ضربان قلب، کاهش فشار خون، افزایش برداشت اکسیژن و افزایش فرآیند آنژیوژنز در عضله قلبی و عضله اسکلتی اشاره کرد. افزایش سطح پروتئین VEGF و NO در هر دو مدل انسانی و حیوانی در پی تمرینات ورزشی گزارش شده است. اما شدت، مدت، تکرار و نوع ورزش می تواند بر پاسخ عوامل رشدی تأثیر بگذارد؛ البته در تحقیق رادووانیک و همکاران تغییر معناداری در سطوح نیتریک اکساید پس از پایان ۴ هفته تمرینات استقامتی مشاهده نشد که با نتایج تحقیق حاضر متناقض می باشد. احتمال دارد علت تناقض به کوتاه بودن دوره تمرین نسبت به تحقیق حاضر و همچنین تفاوت آزمودنی ها مرتبط باشد. در تحقیق رادووانیک و همکاران ۴ هفته تمرینات استقامتی بر آزمودنی های ورزشکار مورد بررسی قرار گرفت؛ در حالی که در تحقیق حاضر تمرینات استقامتی به مدت ۱۰ هفته بر روی آزمودنی های حیوانی مبتلا به انفارکتوس میوکارد مورد اندازه گیری قرار گرفت. همچنین تغییرات ناشی از تمرین می تواند به کاهش اولیه سطوح VEGF و NO ناشی از انفارکتوس میوکارد مربوط باشد. بنابراین با توجه به بیشتر پژوهش های انجام شده می توان گفت که VEGF عامل کلیدی مهمی در ایجاد سازگاری های مختلف آنژیوژنزی پس از انجام تمرینات استقامتی است (۲۷). فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) یک پروتئین سیگنالی است که توسط سلول های اندوتلیال، سلول های ماهیچه صاف و ماکروفاژها تولید می شود که قادر به افزایش نفوذپذیری عروق، تحریک بیان سلول های اندوتلیال عروقی و القای رگ زایی است. مستقل از وضعیت فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک، VEGF نقش مهمی در ترمیم عملکرد اندوتلیال عروقی و بازسازی عروق دارد (۲۰). مطالعات قبلی گزارش کرده اند که VEGF برای تمایز سلول های اندوتلیال حیاتی است و نیتریک اکساید عامل مهمی در اعمال بیولوژیکی VEGF است. علاوه بر این، گزارش شده است که VEGF از طریق مکانیسم با واسطه مسیر سیگنالینگ کیناز ۲/۱ تنظیم شده با پروتئین فعال شده با میتوژن باعث تمایز سلول های پیش ساز بالغ موش به سلول های اندوتلیال می شود (۲۱). علاوه بر این، VEGF ممکن است اثر مثبتی در عروق مجدد بافت های ایسکمیک به ویژه از طریق ترویج تکثیر سلول های اندوتلیال عروقی و نئوواسکولاریزاسیون، افزایش نفوذپذیری عروق و بهبود گردش خون جانبی داشته باشد (۲۲). اندوتلیوم عضلانی و تارهای عضلانی طی انقباضات مداوم و منظم در پاسخ به افزایش جریان خون و استرس برشی به طور موضعی NO تولید می کنند که موجب اتساع عروقی می شود. استرس برشی از طریق فعال کردن کانال های یونی بویژه کانال های پتاسیمی موجب تولید افزایش یافته NO می شود. منبع اصلی تولید نیتریک اکساید در سلول های اندوتلیال عروقی eNOS است که طی تمرینات منظم ورزشی و استرس برشی فعال می شود (۲۶). استرس برشی با تأثیر بر حسگر های مکانیکی که در غشای سلول اندوتلیال قرار دارند از طریق مسیر فاکتور محرک هایپوکسی (HIF-1 α) با افزایش VEGF موجب فعال سازی eNOS و در نهایت تولید NO شود. احتمال دارد که تمرینات منظم به طور مکرر سبب افزایش فشار نبض و پرضربانی شده که در نتیجه می تواند در دسترس بودن نیتریک اکساید را افزایش دهد (۲۷). از لحاظ تئوریک، حفاظت قلبی ناشی از ورزش می تواند به وسیله هر سازگاری فیزیولوژیکی که یک اتفاق آسیب زا یا بیشتر که هنگام ایسکمی و یا ریپرفیوژن رخ می دهد را کاهش می دهد، حاصل شود. برای مثال حفاظت قلبی می تواند به وسیله تغییرات در عروق کرونری بدست آید یعنی افزایش جریان خون موازی و یا تغییرات درونی در مایوسیت قلبی که می تواند حفاظت سلولی را در برابر آسیب I R (Infrared) فراهم کند که جریان گلیکولیتیک، تغییر سیگنالینگ اکسیدنیتریک، افزایش سطوح پروتئین های شوک گرمایی HSPs، تقویت کردن فعالیت سیکلواکسیژناز COX-2، بالا بردن پروتئین های استرسی ER، رتیکولوم اندوپلاسمیک، افزایش عملکرد سارکولما و یا کانال های میتوکندریایی پتاسیم حساس به ATP، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سیتوزولیک و یا تغییر ظرفیت میتوکندریایی آنتی اکسیدانی را فراهم کند. (۲۸) با توجه به نتایج پژوهش حاضر احتمال دارد اندازه گیری دیگر عوامل آنژیوژنزی آنتی آنژیوژنزی درک بهتری از مسیرهای سیگنالینگ در موش های مبتلا به انفارکتوس میوکارد را معرفی نماید. علاوه بر این بررسی ساختار و عملکرد قلبی بعد از انفارکتوس میوکارد می تواند در

درک بهتر تاثیر تمرینات بدنی و سلول های بنیادی موثر باشد. همچنین انجام تحقیقات بیشتر به ویژه بر روی نمونه های انسانی و تمرینات با شدت و مدت متفاوت می تواند در مطالعات بعدی مدنظر قرار بگیرد

نتیجه گیری

این یافته ها نشان می دهد که VEGF ممکن است تمایز سلولی را از طریق فعل و انفعالات پیچیده و مسیرهای مختلف انتقال سیگنال تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به افزایش VEGF و NO در گروه تجربی متعاقب ۱۰ هفته درمان با تمرینات هوازی و سلول های بنیادی، تعامل تمرینات هوازی و سلول های بنیادی ممکن است تمایز اندوتلیالی را از طریق مکانیسم پاراکرین که احتمال دارد شامل ترشح سایتوکین ها، از جمله VEGF باشد، افزایش دهد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان نتیجه گرفت که تمرین هوازی پس از پیوند سلول های بنیادی مزانشیمی باعث افزایش مقادیر NO و VEGF که از عوامل آنژیوژنز و رگ زایی است، می شود. همچنین افزایش مقادیر VEGF و NO با افزایش رگ زایی باعث بهبود عملکرد قلب و پیشگیری از انفارکتوس قلبی میشود. افزایش عوامل رگ زایی باعث افزایش خونرسانی و افزایش برون ده قلبی در عملکرد قلب و عروق و افزایش شاخص های عملکردی بطن چپ نیز میشود. تمرین هوازی میتواند جایگزینی مناسب برای حفظ سلامت قلب و عروقی و نوعی عامل غیر دارویی و موثر مورد استفاده قرار گیرد

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله مقطع دکتری تخصصی با کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1401.219 از دانشگاه آزاد اسلامی ساری می باشد. بدینوسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

حامی مالی

پژوهش حاضر، فاقد هرگونه حمایت مالی می باشد.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

منابع

1. Zou, J.; Fei, Q.; Xiao, H.; Wang, H.; Liu, K.; Liu, M.; Zhang, H.; Xiao, X.; Wang, K.; Wang, N. VEGF-A Promotes Angiogenesis after Acute Myocardial Infarction through Increasing ROS Production and Enhancing ER Stress-Mediated Autophagy. *J. Cell Physiol.* 2019, 234, 17690–17703. DOI: 10.1002/jcp.28395
2. Tsao, C.W.; Aday, A.W.; Almarzooq, Z.I.; Alonso, A.; Beaton, A.Z.; Bittencourt, M.S.; Boehme, A.K.; Buxton, A.E.; Carson, A.P.; Commodore-Mensah, Y.; et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report from the American Heart Association. *Circulation* 2022, 145, e153–e639. DOI: 10.1161/CIR.0000000000001052
3. Li, J.; Zhao, Y.; Zhu, W. Targeting Angiogenesis in Myocardial Infarction: Novel Therapeutics (Review). *Exp. Ther. Med.* 2021, 23, 64. DOI: 10.1089/ars.2012.4849

4. Nauli, S.M. Endothelial Nitric Oxide Synthase (ENOS) and the Cardiovascular System: In Physiology and in Disease States. *Am. J. Biomed. Sci. Res.* 2022, *15*, 155–179. PMID: PMC8774925
5. Ferraro, B.; Leoni, G.; Hinkel, R.; Ormanns, S.; Paulin, N.; Ortega-Gomez, A.; Viola, J.R.; de Jong, R.; Bongiovanni, D.; Bozoglu, T.; et al. Pro-Angiogenic Macrophage Phenotype to Promote Myocardial Repair. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019, *73*, 2990–3002. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.03.503
6. Zheng, J.; Chen, P.; Zhong, J.; Cheng, Y.; Chen, H.; He, Y.; Chen, C. HIF-1 α in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Mol. Med. Rep.* 2021, *23*, 352. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.03.503
7. Huang, H.; Huang, W. Regulation of Endothelial Progenitor Cell Functions in Ischemic Heart Disease: New Therapeutic Targets for Cardiac Remodeling and Repair. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022, *9*, 896782. DOI: 10.3389/fcvm.2022.896782
8. Wu, X.; Reboll, M.R.; Korf-Klingebiel, M.; Wollert, K.C. Angiogenesis after Acute Myocardial Infarction. *Cardiovasc. Res.* 2021, *117*, 1257–1273. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa287>
9. Martín-Bórnez, M.; Falcón, D.; Morrugares, R.; Siegfried, G.; Khatib, A.-M.; Rosado, J.A.; Galeano-Otero, I.; Smani, T. New Insights into the Reparative Angiogenesis after Myocardial Infarction. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, *24*, 12298. <https://doi.org/10.3390/ijms241512298>
10. Wang, W.; Zheng, Y.; Wang, M.; Yan, M.; Jiang, J.; Li, Z. Exosomes Derived MiR-126 Attenuates Oxidative Stress and Apoptosis from Ischemia and Reperfusion Injury by Targeting ERFF1. *Gene* 2019, *690*, 75–80. DOI: 10.1016/j.gene.2018.12.044
11. Bronckaers A, Hilken P, Martens W, Gervois P, Ratajczak J, Struys T, et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis. *Pharmacol Ther.* 2014;143(2):181–96. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.02.013>
12. Li X, Bai J, Ji X, Li R, Xuan Y, Wang Y. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *Int J Mol Med.* 2014;34(3):695–704. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1821>
13. Morris J.H., Chen L. Exercise training and heart failure: A review of the literature. *Card. Fail. Rev.* 2019;5:57–61. doi: 10.15420/cfr.2018.31.1.
14. Tryfonos A, Tzanis G, Pitsolis T, Karatzanos E, Koutsilieris M, Nanas S, Philippou A. Exercise Training Enhances Angiogenesis-Related Gene Responses in Skeletal Muscle of Patients with Chronic Heart Failure. *Cells.* 2021 Jul 28;10(8):1915. doi: 10.3390/cells10081915. PMID: 34440684; PMID: PMC8392138.
15. Shin KO, Bae JY, Woo J, Jang KS, Kim KS, Park JS, et al. The effect of exercise on expression of myokine and angiogenesis mRNA in skeletal muscle of high fat diet induced obese rat. *J Exerc Nutrition Biochem* 2015; 19: 91- 98. doi: 10.5717/jenb.2015.15061006
16. Lee I, Hüttemann M, Kruger A, Bollig-Fischer A, Malek MH. (–)-Epicatechin combined with 8 weeks of treadmill exercise is associated with increased angiogenic and mitochondrial signaling in mice. *Front Pharmacol* 2015; 6: 43. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00043>
17. Cai M-X, Shi X-C, Chen T, Tan Z-N, Lin Q-Q, Du S-J, et al. Exercise training activates neuregulin 1/ErbB signaling and promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model. *Life Sci.* 2016; 149:1-9. [DOI:10.1016/j.lfs.2016.02.055] [PMID]
18. Chrysohoou C, Angelis A, Tsitsinakis G, Spetsioti S, Nasis I, Tsiachris D, et al. Cardiovascular effects of high-intensity interval aerobic training combined with strength exercise in patients with chronic heart failure. A randomized phase III clinical trial. *Int J Cardiol.* 2015; 179:269-74. [DOI:10.1016/j.ijcard.2014.11.067] [PMID]
19. Penna C, Alloatti G, Crisafulli A. Mechanisms involved in cardioprotection induced by physical exercise. Antioxidants & redox signaling. 2020;32(15):1115-34. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.8009>

20. Fathi E, Farahzadi R. Isolation, culturing, characterization and aging of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: a brief overview. *Braz Arch Biol Technol* 2016; 59: e16150383 <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150383>.
21. Ranjbar k, Nazari A, Nazem F, Effect of exercise training and L-arginine supplementation on oxidative stress and left ventricular function in rats with myocardial infarction. *Physiology and Pharmacology*, 2015.18 (4), 445-454 [Article in Persian]. <http://eprints.lums.ac.ir/id/eprint/126>
22. Zaniboni A, Bernardini C, Bertocchi M, Zannoni A, Bianchi F, Avallone G, Mangano C, Sarli G, Calzà L, Bacci ML, Forni M. In vitro differentiation of porcine aortic vascular precursor cells to endothelial and vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2015;309:C320–C331. doi: 10.1152/ajpcell.00049.
23. Glaser DE, Turner WS, Madfis N, Wong L, Zamora J, White N, Reyes S, Burns AB, Gopinathan A, McCloskey KE. Multifactorial Optimizations for Directing Endothelial Fate from Stem Cells. *PLoS One*. 2016;11:e0166663. doi: 10.1371/journal.pone.0166663.
24. Niu, J., Han, X., Qi, H., Yin, J., Zhang, Z., & Zhang, Z. (2016). Correlation between vascular endothelial growth factor and long-term prognosis in patients with acute myocardial infarction. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12, 475-479. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3286>
25. Ye L, Zhang W, Su LP, Haider HK, Poh KK, Galupo MJ, Songco G, Ge RW, Tan HC and Sim EK: Nanoparticle based delivery of hypoxia-regulated VEGF transgene system combined with myoblast engraftment for myocardial repair. *Biomaterials*. 32:2424–2431. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.12.008>
26. Hojo Y, Ikeda U, Zhu Y, Okada M, Ueno S, Arakawa H, Fujikawa H, Katsuki T and Shimada K: Expression of vascular endothelial growth factor in patients with acute myocardial infarct. *J Am Coll Cardiol*. 35:968–973. 2000. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10732896/>
27. Matsudaira K, Maeda K, Okumura N, Yoshikawa D, Morita Y, Mitsunashi H, Ishii H, Kondo T and Murohara T: Nagoya Acute Myocardial Infarction Study (NAMIS) Group: Impact of low levels of vascular endothelial growth factor after myocardial infarction on 6-month clinical outcome: Results from the Nagoya Acute Myocardial Infarction Study. *Circ J*. 76:1509–1516. 2012. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-11-1127>
28. Powers SK, Smuder AJ, Kavazis AN, Quindry JC. Mechanisms of exercise-induced cardioprotection. *Physiology*. 2014;29(1):27-38_Doi: 10.1152/physiol.00030.2013.