

ORIGINAL RESEARCH

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.

Mohammad Maleki Poya ¹, Bahram Abedi ^{1*}, Mohammad Reza Palizvan ², Abbas Saremi ³

1. Department of Physical Education, Mahallat Branch, Islamic Azad University, Mahallat, Iran.

2. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

3. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history

Received: 26 November 2018

Accepted: 29 May 2019

Published online: 18 August 2019

Keywords

Incremental Endurance Training

Isoproterenol

Matrix Metalloproteinase-1

Myocardial Infarction

Thrombospondin-1

* Corresponding Author:

Bahram Abedi; P.O. Box 3781958514,
Islamic Azad University, Daneshgah
Street, Ayatollah Khamenei Blvd,
Mahallat, Markazi Province, Iran.

Fax: +98 86 4325 7555

Email: abedi@iaumahallat.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aim: Extensive prevalence of myocardial infarction, and an increase of 36% in total deaths due to it by 2020, and attention to the causes and methods of alternative therapy is very important. There are different ways in treating these patients that endurance training is one of them. The aim of this study was to evaluate the effect of 8 weeks of incremental endurance training on serum levels of TSP-1 and MMP-1 in male Wistar rats with myocardial infarction.

Materials and Methods: In this controlled experimental study with control group, 20 rats weighing 230 ±30 g (8-week-old) were randomly divided into incremental endurance training and control, after induction of infarction with Isoproterenol (150 mg/kg). The training group performed an 8-week training session (3 sessions a week, for 20 to 50 minutes at 12 to 18 meters per minute). Then, 24 hours later, the venous blood sample was collected to evaluate serum concentrations of TSP-1 and MMP-1 and transferred to the laboratory. Independent t-test was used to analyze the data at a significant level of $p < 0.05$ to Graphed Pad software.

Ethical Considerations: This study with research ethics code IR.IAU.ARAK.REC.1397.007 was approved in Research Ethics Committee of Islamic Azad University, Arak branch, Iran.

Findings: The results showed that endurance training significantly increased serum MMP1 levels ($p = 0.048$) in rats with myocardial infarction, while there was no significant effect ($p = 0.092$) on the exercise program in serum TSP-1 levels.

Conclusion: the result of this study suggests that increasing endurance training may increase MMP-1 in rats with myocardial infarction, which can play an important role in angiogenesis and replacement of capillaries.

© Copyright (2019) Arak University of Medical Sciences

Use your device to scan and
read this article online:



Maleki Poya M., Abedi B., 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): 118-128.



تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی فزاینده بر سطوح ماتریکس متالوپروتئیناز ۱ (MMP1) و ترمبوسپوندین ۱ (TSP1) موش‌های صحرایی القاشده به انفارکتوس میوکارد توسط ایزوپروترونول

محمد ملکی پویا^۱، بهرام عابدی^{۱*}، محمدرضا پالیزوان^۲، عباس صارمی^۳

۱. گروه تربیت‌بدنی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران.

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۳. گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: شیوع گسترده بیماری انفارکتوس قلبی و افزایش ۳۶ درصدی کل مرگ‌ومیرهای ناشی از آن تا سال ۱۳۹۹ و توجه به علل و روش‌های درمانی جایگزین بسیار مورد اهمیت است. روش‌های متفاوتی در درمان این بیماران وجود دارد که تمرینات استقامتی یکی از آنها است. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی فزاینده بر سطوح تغییرات سرمی فاکتورهای TSP1 و MMP1 در موش‌های صحرایی مبتلا به میوکارد انفارکتوس بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی کنترل‌شده با گروه شاهد، ۲۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار (۸ هفته‌ای و با وزن 230 ± 30 گرم) پس از القای انفارکتوس با ایزوپروترونول (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین استقامتی فزاینده و شاهد تقسیم شدند. گروه تمرین برای مدت ۸ هفته تحت مداخله برنامه تمرین استقامتی فزاینده قرار گرفت (هفته‌ای ۳ جلسه به مدت ۲۰ تا ۵۰ دقیقه با سرعت ۱۲ تا ۱۸ متر در دقیقه). سپس ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه خون وریدی جهت ارزیابی غلظت سرمی TSP1 و MMP1 جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. برای آنالیز داده‌ها از آزمون تی مستقل در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ و نرم‌افزار گراف‌پد استفاده شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.ARAK.REC.1397.007 توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک به تصویب رسیده است.

یافته‌ها: نتایج نشان داد تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار ($p = 0/048$) سطوح سرمی MMP1 موش‌های صحرایی القاشده به انفارکتوس می‌شود، درحالی‌که اثر معنی‌داری ($p = 0/092$) متعاقب برنامه ورزشی در مقادیر سرمی TSP1 مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتیجه مطالعه حاضر نشان می‌دهد تمرین استقامتی فزاینده احتمالاً باعث افزایش MMP1 در موش صحرایی مبتلا به انفارکتوس میوکارد می‌شود که می‌تواند نقش مهمی در فرآیندهای آنژیوژنز و جایگزینی مویرگ‌های بسته‌شده داشته باشد.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰۵

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۰۸

تاریخ انتشار: ۹۸/۰۵/۲۷

واژگان کلیدی

انفارکتوس میوکارد

ایزوپروترونول

ترمبوسپومدین-۱

تمرینات استقامتی فزاینده

ماتریکس متالوپروتئیناز-۱

* نویسنده مسئول:

بهرام عابدی

آدرس پستی: ایران، استان مرکزی، محلات، بلوار آیت‌الله خامنه‌ای، خیابان دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کد پستی: ۳۷۸۱۹۵۸۵۱۴.

تلفن: +98 86 4325 7555

E-mail: abedi@iaumahallat.ac.ir

۱. مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی دلیل اصلی مرگ‌ومیر در جوامع مدرن هست و انفارکتوس میوکارد (Myocardial Infarction-MI) از شایع‌ترین علل آن هست. هم‌چنین پیش‌بینی شده است که ۳۶ درصد کل مرگ‌ومیرهای جهانی را تا سال ۲۰۲۰ در بر خواهد داشت (۱). از این‌رو MI بیش از همه توجه و نگرانی متخصصین قلب را به خود اختصاص داده است. یکی از مهم‌ترین سازگاری‌ها در این عارضه آنژیوژنز هست. به فرآیند تکثیر فعال سلول‌های اندوتلیال، تشکیل رگ‌های فعال، رشد و تکامل عروق خونی جدید از طریق جوانه‌زدن سلول‌های اندوتلیوم عروق قلبی آنژیوژنز گفته می‌شود (۱). در بزرگ‌سالان این فرآیند یک امر ذاتی در واکنش به کاهش اکسیژن میوکارد هست و حتی در غیاب هایپوکسی نیز صورت می‌گیرد. کاهش فشار سهمی اکسیژن به دلیل تمرین ورزشی از مهم‌ترین علل آنژیوژنز هست که این امر در تنظیم بالادستی فاکتور رشد اندوتلیال عروق (Vascular Endothelial Growth Factor - VEGF) دیده شده است. افزایش عامل القای هایپوکسی (Hypoxia-) HIF-1 α (inducible factor 1-alpha) و پروتئین VEGF پس از سازگاری با ورزش تأیید و ایجاد رگ جدید نشان داده شده است (۲). عوامل آنژیوژنز و آنتی‌آنژیوژنز با اتصال به گیرنده‌های خود، موجب فعال‌شدن اندوتلیوم می‌شود. با فعال‌سازی سلول‌های اندوتلیال، انواع خاصی از متالوپروتئینازها از سلول‌های مدنظر ترشح شده که به‌نوبه خود غشای پایه را تجزیه می‌کنند. با هضم غشای پایه، زمینه تکثیر و مهاجرت صحرایی سلول‌های اندوتلیال فراهم می‌شود. در پایان، پری‌سایت‌ها (سلول‌های اطراف اندوتلیال) و سلول‌های عضله صاف برای پایداری رگ خونی جدید به آن اضافه می‌شوند. فاکتورهای محیطی مانند نیروهای همودینامیک، فشار و جریان خون تعیین‌کننده تبدیل رگ به شریان یا ورید می‌باشند که عوامل ژنتیکی نقش بسیار مهمی در این فرآیند دارند (۳). با توجه به این‌که ۷۰ درصد بیماران MI حاد به‌واسطه زخم‌های آترواسکلروزیس ملایم حادث می‌گردند، ایجاد تعادل بین

فرآیندهای آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک از اهمیت خاصی برای توان‌بخشی بعد از یک رویداد ایسکمیک برخوردار هست (۱). از مهم‌ترین عوامل مؤثر در آن می‌توان به ماتریکس متالوپروتئیناز-۱ (MMP-1) و ترمبوسپوندين-۱ (Thrombospondin-1-TSP-1) اشاره نمود (۴). MMPs از خانواده آنزیم‌های آندوژن، کلاژناز (1) و بینابینی و وابسته به روی و کلسیم می‌باشند که باعث تجزیه پروتئین ماتریکس خارج سلولی (- Extracellular Matrix ECM) می‌شوند. MMPs مسئول بازسازی ECM در شماری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی می‌باشند. امروزه خانواده MMP از بیش از ۲۰ نوع پروتئین مجزا و منحصر به فرد تشکیل شده است. اکثر این آنزیم‌ها غیرفعال بود و در ECM فعال می‌شوند. تحقیقات نشان داده که MMPs های مهمی که نقش بیش‌تری در بازسازی میوکارد و کلاژناز دارند، MMP-1 و MMP-13، گلاتینازهای MMP-2 و MMP-9، استرومیلیزین MMP-3 و نوع غشایی MMP-14 هستند، این نوع از MMPs بیش‌ترین تجزیه را در کلاژن‌های نوع ۱ و ۳ در ECM قلبی بر عهده دارند (۵). به دلیل ایسکمی ایجاد شده و ضعف در خون‌رسانی به میوسیت‌های قلبی آنزیم‌های پروتئولیتیک MMP-1 ترشح می‌شود. این امر در هضم بسیاری از ترکیبات ماتریکس خارج سلولی و بافت غشاء پایه نقش مهمی دارد و از این لحاظ در فرآیندهای طبیعی و غیرطبیعی بافت‌ها اهمیت دارد و ارتباط قوی بین بیان MMP-1 و آترواسکلروزیس گزارش شده است (۶). از آن‌جا که مقدار کلاژن I قلبی ۸۵ درصد کل کلاژن‌های قلبی را تشکیل داده است و بیش‌ترین تخریب در کلاژن I به‌واسطه MMP-1 صورت می‌پذیرد، آزادشدن این آنزیم در ایجاد آنژیوژنز بسیار اهمیت دارد. برخلاف این امر، خیلی از پژوهش‌ها ویژگی‌های آنژیواستاتیکی TSP-1 که از مهم‌ترین فاکتورهای آنژیواستاتیکی است را در افراد سالم که ترشح کم‌تری دارد، نشان داده است. البته شایان ذکر است نقش آنتی‌آنژیوژنز TSP هنوز دقیقاً معین نشده است (۷)، اما تحقیقات نشان داده که با مهاجرت سلولی و القای آپوپتوز،

مختلف اثرات مثبت ورزشی بر جنبه‌های مختلف سلامت قلب بیماران مبتلا به میوکارد انفارکتوس مورد توجه قرار گرفته است، اما سازوکارهای فیزیولوژیک (با رویکرد عوامل التهابی) آن‌ها به خوبی روشن نیست، از این رو، محققان مطالعه حاضر برآند تا اثر ۸ هفته تمرینات استقامتی فزاینده را بر فعالیت سرمی MMP-1 و TSP-1 در موش‌های صحرایی نر مبتلا به انفارکتوس میوکارد بررسی نمایند.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌ها و محیط پژوهش

در پژوهش حاضر، ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 230 ± 30 گرم از بیمارستان بقیه‌الله (عج) تهران خریداری شد. این حیوانات در قفس‌های پلی کربنات در شرایط کنترل شده محیطی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی نگهداری شدند. پس از انتقال حیوانات به محیط پژوهش به مدت ۱ هفته در شرایط جدید نگهداری شدند. حیوانات پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه به‌طور تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی شامل گروه انفارکتوس میوکارد (MI) یا کنترل، گروه تمرین استقامتی فزاینده (Ex.MI) یا تمرین تقسیم شدند.

آشنایی با تردمیل

برنامه آشنایی در هفته دوم، به مدت یک هفته، در هر روز و برای ۱۰ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه روی نوار گردان (دانش سالار ایرانیان مدل DSI-580) صورت پذیرفت (۱۶). بررسی‌ها نشان داده است که این میزان تمرین در حدی نیست که منجر به تغییر بارزی در ظرفیت هوازی شود. برای تحریک دویدن در مرحله آشناسازی موش‌های صحرایی روی نوارگردان از طریق شرطی‌سازی به صدا و تحریک، آموزش داده شد تا از نزدیک شدن، استراحت و برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند.

سلول‌های اندوتلیال را مهار می‌کند. TSP از ۴ ساختار مرتبط با گلیکوپروتئین‌های ECM است.

از بین این مولکول‌ها TSP-1 یک گلیکوپروتئین تریمر ۴۵۰ کیلو دالتون (kDa) با یک زنجیره مولکولی به وزن ۱۴۵ کیلودالتون می‌باشد. TSP به وسیله سلول‌های اندوتلیال، مونوسیت‌ها، ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها و عضلات صاف تولید می‌شود (۸). موش‌های صحرایی فاقد TSP-1 مویرگ‌های بیش‌تری در عضله اسکلتی و قلب و ۶۷ درصد زمان واماندگی کم‌تری دارند (۹) که موافق با اثرات MMP-1 است. به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی در نمونه‌های سالم و بیمار منجر به افزایش MMP-1 می‌شود، ولی در مورد TSP-1 نتایج متفاوت است. کیولا و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعات متعددی اثرات مثبت تمرینات استقامتی را در ایجاد رگ جدید در افراد سالم تأیید کرده‌اند. همچنین نشان دادند موش‌های صحرایی سالم پاسخ‌های آنژیوژنیک بالاتری در مقایسه با موش‌های صحرایی دیابتی دارند، ولی فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان عامل آنژیوستاتیک TSP-1 در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت در مقایسه با موش‌های صحرایی سالم می‌شود (۱۰). الفرت و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند تمرین ۸ هفته‌ای با سرعت ۱۵ تا ۱۸ متر در دقیقه و شیب ۱۰ درجه، به دنبال ۱ ساعت تمرین در ۵ روز در هفته، بر روی موش‌های صحرایی پیر ویستار منجر به کاهش بیان TSP-1 mRNA می‌شود (۱۱). هویر و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند تمرینات هوازی ۴ هفته‌ای بر روی مردان سالم منجر به تغییرات غیرمعنی‌دار سطوح TSP-1 افراد می‌شود (۱۲). زو و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیقی که بر موش‌های صحرایی مبتلا به انفارکتوس انجام دادند به این نتیجه رسیدند که نسبت MMP-1/TIMP-1 در گروه تمرین بیش‌تر از گروه غیرورزشی بوده است (۱۳). دانلی و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی یک برنامه تمرین هوازی در افراد با سندرم متابولیک پرداختند که با کاهش میزان MMP-1 بعد از تمرین مواجه شدند (۱۴). چادلر و همکاران (۲۰۱۶) در یک تمرین هوازی نشان دادند سطوح TSP-1 در طبیعی‌سازی عروق بیماران تومور افزایش پیدا کرده است (۱۵). به‌هرحال در مطالعات

القای انفارکتوس میوکارد

جهت ایجاد انفارکتوس میوکارد از تزریق زیر جلدی ایزوپروترونول (ساخت شرکت سیگما آمریکا) به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱۷) (از ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی سارتریوس مدل MSE224S-000-DU با دقت یک ده‌هزارم گرم ساخت آلمان) استفاده شد. این ماده در محلول نرمال سالین (۰/۰۵ سی‌سی) رقیق شده و در دو روز متوالی با فاصله ۲۴ ساعت استفاده شد. این ماده در مدل‌های حیوانی به‌ویژه موش‌های صحرایی یکی از روش‌های رایج القای میوکارد انفارکتوس است (۱۸). بعد از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین تزریق از هر گروه چند موش صحرایی به‌صورت تصادفی

انتخاب و تحت شرایط آزمایش جهت اطمینان از القای انفارکتوس قرار گرفتند. انفارکتوس قلبی بر اساس علائم بالینی و تغییرات الکتروکاردیوگرافی (بالا رفتن قطعه ST که در شکل ۱ سمت راست نشان داده شده است) همراه با افزایش آنزیم‌های قلبی مانند مارکر تروپونین قلبی I (Cardiac Troponin I- cTnI) بوده که در موش‌های انفارکتوسی برابر با ۲۹۴/۱۶۸ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بوده و در موش‌های سالم شناسایی نشد. تروپونین I بالاترین حساسیت را به آسیب سلولی میوکارد دارند و یک روش تشخیصی اصلی به حساب می‌آیند (۱۹).



شکل ۱. الکتروکاردیوگرام موش صحرایی سالم (سمت چپ) و مبتلا شده به انفارکتوس میوکارد (سمت راست)

برنامه تمرینی

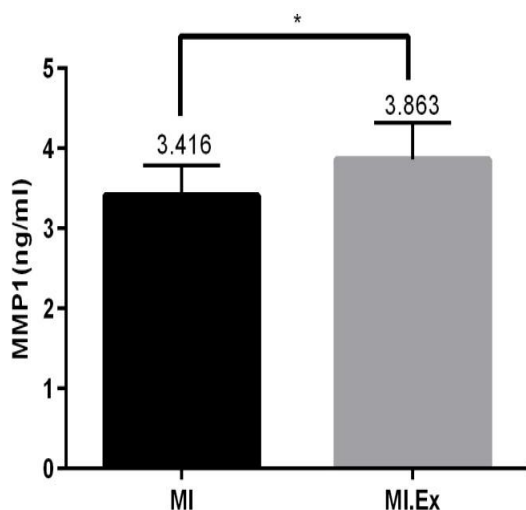
برنامه تمرین استقامتی فزاینده شامل ۸ هفته دویدن روی نوارگردان، در ۳ روز غیرمتوالی به مدت ۲۰ دقیقه و سرعت ۱۲ متر در دقیقه آغاز شد. در ادامه تمرین، هر هفته ۵ دقیقه به مدت تمرین اضافه گردید تا به ۵۰ دقیقه رسید. همچنین سرعت تردمیل در هر هفته ۱ متر در دقیقه اضافه شد تا در نهایت به ۱۸ متر در دقیقه رسید. این برنامه تمرینی با شیب صفر بوده که با ۳ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۷ متر در دقیقه انجام پذیرفت (۲۰).

خون‌گیری و ارزیابی بیوشیمیایی

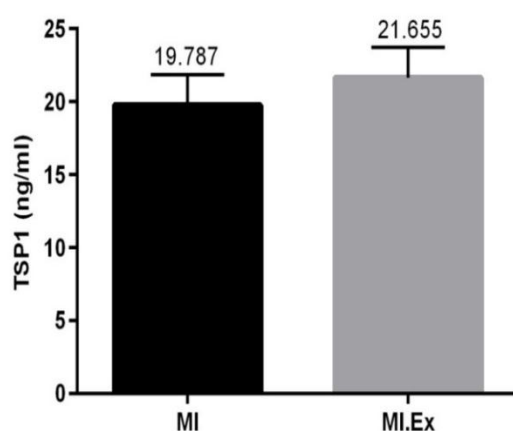
گروه‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی با کتامین (۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بی‌هوش و کشته شدند. در مراحل مختلف ضمن رعایت مسائل

اخلاقی سعی شد از هرگونه آزار جسمی و روش غیرضروری 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 با درپوش قرمز ریخته شد و پس از قرار گرفتن به مدت ۱۰ دقیقه در شرایط دمای محیط و لخته زدن در سانتریوفوژ (هرمل آلمان به مدل Z200A) برای ۵ دقیقه و با ۵۰۰۰ دور در دقیقه گذاشته شد. سپس نمونه‌های سرمی برای آنالیز بیوشیمیایی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جهت تعیین مقادیر سرمی (MMP-1، TSP-1 و cT-nI) از روش الیزا (ELISA) بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت‌های شرکت ایست بیوفارم (با ضریب تغییرات برون آزمون کمتر از

مبتلا به انفارکتوس میوکارد تمرین کرده از $3/416 \pm 0/368$ نانوگرم بر میلی لیتر به $3/863 \pm 0/455$ نانوگرم بر میلی لیتر افزایش داشته است و این تفاوت معنی دار ($t = 2/158$) و $p = 0/048$ است. هم چنین مقادیر سرمی TSP1 در نمودار ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد درحالی که مقادیر TSP1 از $9/787 \pm 2/064$ نانوگرم بر میلی لیتر به $21/2 \pm 655/079$ نانوگرم بر میلی لیتر افزایش پیدا کرده است، اما این تغییرات در مقایسه با گروه شاهد انفارکتوس میوکارد غیرمعنی دار ($t = 1/804$ و $p = 0/092$) است.



نمودار ۱. میزان تغییرات MMP-1 در گروه انفارکتوس (کنترل) و انفارکتوس-تمرین. * نشانه اختلاف معنی داری در سطح ($p < 0/05$).



نمودار ۲. میزان تغییرات TSP-1 گروه انفارکتوس (کنترل) و انفارکتوس-تمرین. * نشانه اختلاف معنی داری در سطح ($p < 0/05$).

۱۰، ۱/۴ و ۸ درصد و حساسیت روش اندازه گیری ۰/۰۵ و ۰/۲ نانوگرم بر میلی لیتر و ۷/۸ پیکوگرم بر میلی لیتر) استفاده شد. تحلیل آماری

در پژوهش حاضر به منظور تجزیه و تحلیل داده ها، از روش تحقیقی پس آزمون با گروه کنترل استفاده شد. پس از تأیید توزیع نرمال داده ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، برای مقایسه میانگین بین گروهی، آزمون آماری تی مستقل به کار گرفته شد. تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار آماری گراف پد (نسخه ۶) در سطح معنی داری $p < 0/05$ و سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

۳. ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.ARAK.REC.1397.007 توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک به تصویب رسیده است.

۴. یافته ها

اطلاعات مربوط به وزن موش های صحرایی در طول تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است. وزن گروه های مورد بررسی قبل از شروع تمرین تفاوت معنی داری نداشت ($p = 0/770$)، هم چنین در پایان مطالعه نیز اختلاف معنی داری بین دو گروه در وزن موش های صحرایی مشاهده نشد ($p = 0/398$).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار تغییرات وزن موش های صحرایی در طول مطالعه

گروه		وزن به گرم
تمرین	کنترل	
4 ± 224	4 ± 243	وزن اولیه
5 ± 268	5 ± 269	وزن میانی
13 ± 281	5 ± 294	وزن نهایی
۵۷	۵۱	تغییر وزن اولیه و نهایی

* اختلاف آماری معنی دار ($p < 0/05$)

در نمودار ۱ غلظت سرمی MMP-1 در مقایسه با گروه شاهد، پس از ۸ هفته تمرین استقامتی فزاینده نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که سطوح MMP-1 در موش های صحرایی

۵. بحث

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر ۸ هفته فعالیت ورزشی استقامتی فزاینده بر سطوح سرمی MMP-1 و TSP-1 موش‌های صحرایی القاشده به انفارکتوس میوکارد توسط ایزوپرتونول در خصوص روند ایجاد آنژیوژن بوده است. از یافته‌های مهم این پژوهش مشاهده افزایش معنی‌دار در سطوح سرمی MMP-1 در گروه تمرین استقامتی فزاینده و افزایش غیرمعنی‌دار سطوح سرمی TSP-1 است. همچنین، این تمرینات تغییرات معنی‌داری در وزن ابتدایی و نهایی گروه‌ها نداشته است.

علت فعال شدن آنزیم‌های کلاژنازها در بدن به دلیل آسیب به ساختار میکروآناتومیکی بافت‌های قلبی و اسکلتی بدن می‌باشد (۲۱). تحقیقات نشان داده است که تجزیه بخش‌های ECM تحت شرایط فیزیولوژیکی از قبیل رشد جنین و بهبود زخم مهم است، اما به صورت موقتی، گذرا و موضعی کنترل می‌شود (۲۲)؛ اما برخی از بیماری‌ها و فرآیندهای پاتولوژیک با محرک‌های میکروبی، شیمیایی و به دنبال استرس‌های فیزیکی و مکانیکی از قبیل فعالیت‌های ورزشی، منجر به واکنش‌های التهابی، با فعال‌سازی هیستامین یا سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین آلفا، فاکتور نکروز تومور بتا، گاما اینترفرون، رادیکال‌های آزاد مانند نیتریک اکساید می‌شوند (۲۲). همچنین HIF در شرایط هایپوکسی منجر به تولید پروتئین‌ها، هیدروژن پراکسیداز و فسفولیپید می‌شود. این عوامل با هدف شکستن بافت نکروتیک منجر به تحریک فرآیند التهابی می‌شوند (۲۱). در بین علل التهابی بیان شده پروتئین‌ها آخرین حلقه از زنجیره بزرگی از واسطه‌های ایمنی و التهابی در پاسخ به انواع متفاوتی از ورزش‌ها می‌باشند. در واقع می‌توان گفت هایپوکسی از مهم‌ترین محرک‌های شروع‌کننده آنژیوژن مویرگی است که محرکی بر ترشح این آنزیم‌ها می‌باشد. بیش‌ترین گزارش‌های حاصل از مطالعات پیشین در خصوص فعالیت MMPs، بعد از یک جلسه حاد تمرینی در جریان خون و عضلات است (۲۳).

زو و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی را بر موش‌های صحرایی انفارکتوسی بررسی کردند و نشان دادند

TIMP-1 سطوح mRNA در گروه انفارکتوس-تمرین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه انفارکتوس-غیرورزشی داشته است. همچنین نسبت MMP-1/TIMP-1 در گروه انفارکتوس-تمرین، معنی‌داری بالاتری نسبت به گروه انفارکتوس-غیرورزشی داشت و در گروه شم (سالم) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که نشان از افزایش مقادیر سطوح MMP-1 در گروه تمرین بوده است (۱۳). یورسو و همکاران (۲۰۰۹) اثرات ۸ هفته تمرینات ورزشی روی مردان را قبل و بعد از یک جلسه تمرین مقاومتی با شدت بالا (که بعد از تمرین مقاومتی شدید به دو گروه تمرینات سبک و مقاومتی تقسیم شدند) بر روی MMPs در سه حالت قبل، حین و بعد تمرین بررسی کردند. نتایج نشان داد تمرینات مقاومتی حاد منجر به افزایش ۲۴/۴ درصدی غلظت سرمی MMP-1 از ابتدای تمرین تا میان تمرین شد. غلظت MMP-2 در گروه تمرین سبک ۳۵ درصد از شروع تا اواسط تمرین کاهش داشت، غلظت MMP-3 در گروه تمرین سبک ۳۹ درصد از شروع تمرین تا اواسط آن با کاهش همراه بود و در نهایت غلظت MMP-9 در گروه تمرین سبک ۱۳۰ درصد از وسط تمرین تا پایان و همچنین در تمرین مقاومتی از شروع تا پایان تمرین افزایش یافت (۲۴).

در تحقیق کواک و همکاران (۲۰۱۱)، ۱۲ هفته تمرین هوازی بر موش‌های پیر صحرایی برای ۴۵ دقیقه، ۷ روز در هفته و برای ۱۰/۵ متر در دقیقه و موش‌های جوان با سرعت ۲۲ متر در دقیقه نشان داد که تمرین ورزشی منجر به افزایش MMP-1 در هر دو گروه تمرینی موش‌های جوان و پیر نسبت به گروه غیرفعال می‌شود (۲۵). در تحقیق تانکاتا و همکاران (۲۰۱۷) بر مقادیر پلاسمای MMP-1 و TIMP-1 موش‌های ویستار آلبینو سالم در سه گروه کنترل، حاد (۱ هفته تردمیل، برای ۳ روز در هفته، برای ۱۰ دقیقه در روز و سرعت ۲۰ متر در دقیقه) و تمرین هوازی (۴ هفته تردمیل، برای ۷ روز در هفته، ۶۰ دقیقه در روز و با سرعت ۰/۱ متر در دقیقه)، تغییر معنی‌داری در بین گروه‌ها نشان داده نشد (۲۶) که این امر می‌تواند به دلیل شدت و مدت کم دوره تحقیقی باشد.

گروه شاهد و تمرین افزایش معنی‌دار داشته است و افزایش آن در گروه دیابتی بیش‌تر از گروه دیابتی-تمرین بوده است (۲۹). الفرت و همکاران (۲۰۰۶) نتایج متناقضی پیرامون تغییرات TSP-1 به تمرینات ورزشی گزارش کرده‌اند. آن‌ها نشان دادند که تمرین حاد ورزشی ۳ تا ۵ روز منجر به کاهش TSP-1 mRNA در پاسخ به تمرین شده، هم‌چنین ۸ هفته برنامه تمرین ورزشی به همراه تمرین حاد و گروه تمرینی هایپوکسی مزمن باعث کاهش بیان TSP-1 mRNA در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نسبت به تمرین ورزشی در موش‌های صحرایی سالم و پیر شده است (۱۱)، برعکس هویر و همکاران (۲۰۱۲)، در تحقیق خود به بررسی اثرات تمرین حاد ورزشی و ۴ هفته تمرین ورزشی دوچرخه‌سواری روی افراد غیرورزشکار سالم پرداختند. نتایج نشان داد تمرین حاد منجر به افزایش mRNA پروتئین TSP-1 نسبت به استراحت می‌شود (۱۲) که با نتایج تحقیق الفرت و همکاران (۲۰۰۶) (۱۱) همسو بوده است. هم‌چنین تمرینات هوازی ۴ هفته‌ای منجر به تغییرات غیرمعنی‌دار سطوح TSP-1 این افراد شد که به نظر می‌رسد ناشی از دوره زمان کوتاه‌تر تمرین ورزشی باشد (۱۱) که با نتایج این تحقیق همسو است. استنیمما و همکاران (۲۰۰۳) افزایش بیان TSP-1 دیواره عروق موش‌های صحرایی دیابتی را مشاهده کردند و بیان می‌دارند که این عامل می‌تواند به دلیل واکنش مستقیم سلول‌های عروقی به غلظت گلوکز (Glc) بوده که می‌تواند بین دیابت و مشکلات آترواسکروسیزی ارتباط برقرار کند (۳۰).

تحقیقی که به بررسی تأثیر تمرینات ورزشی فزاینده بر سطوح MMP-1 و TSP-1 بیماران میوکارد انفارکتوسی پرداخته باشد مشاهده نشد و این امر از محدودیت‌های تحقیق حاضر محسوب می‌شود. اما یافته‌های ما در ارتباط با افزایش سطوح سرمی MMP-1 در گروه تمرینات استقامتی همسو با یافته‌های تحقیقات انجام‌شده در بیماران بوده است. در خصوص TSP-1 تحقیقات موافق و مخالفی وجود دارد که به نظر متأثر از بیماری و شرایط برنامه تمرینی است.

همانند تحقیقی که بر روی موش‌های سوری صورت گرفته، افزایش فعالیت سطوح سرمی MMP-1 موش‌های صحرایی در این تحقیق احتمالاً بیان‌گر تأثیر حفاظتی تمرینات هوازی فزاینده بر شاخص‌های فیبرز بیماران میوکارد قلبی است (۲۷) و این امر در پیش‌گیری از عوارض احتمالی ناشی از آن از طریق افزایش فعالیت این آنژیوژنزی است و در کلیه تحقیقات افزایش آن نشان داده شده است. به نظر می‌رسد پروتکل ورزشی اخیر در شرایط پاتولوژیک تأثیر معنی‌دار دارد و منجر به سازگاری در بیماران انفارکتوس میوکاردی شده و تأثیرات آن متأثر از شدت، مدت و تعداد جلسات تمرینی است.

نقش TSP-1 در بافت قلب به‌عنوان یک مهارگر آنژیوژن تاکنون به‌درستی مشخص نشده است؛ اما اکثر تحقیقات نشان داده‌اند که این عامل از طریق کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال موجب مهار آنژیوژن می‌شود (۷). برخی از مطالعات نشان داده‌اند TSP-1 در شکل محلول یا در محدوده ماتریکس می‌تواند منجر به تحریک آنژیوژنزی گردد (۲۸). این فرآیند از راه بیش‌ترشخی عوامل درگیر در آنژیوژن رخ می‌دهد و سپس با ترشح این عوامل، باعث فعال‌شدن مسیرهای پیام‌دهی Akt/eNOS می‌شود و سرانجام به بهترشدن آنژیوژن و بازسازی بافت ایسکمی منجر می‌گردد (۲۸). کیولا و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند موش‌های صحرایی سالم پاسخ‌های آنژیوژنیک بالاتری نسبت به فعالیت ورزشی ۱ ساعت با سرعت ۲۱ متر در دقیقه و شیب ۲/۵ درجه در مقایسه با موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت از خود نشان می‌دهند، ولی فعالیت ورزشی موجب افزایش بیان عامل آنژیوستاتیک TSP-1 در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت در مقایسه با موش‌های صحرایی سالم می‌شود که به نظر یک رخداد محافظتی است (۱۰). کیولا و همکاران (۲۰۰۶) هم‌چنین در تحقیقی دیگر بر روی موش‌های سوری دیابتی شده، در سه بازه زمانی ۱ هفته‌ای، ۳ هفته‌ای و ۵ هفته‌ای که به تمرین ورزشی (یک ساعت در روز با سرعت ۲۱ متر در دقیقه با شیب ۲/۵ درصد) پرداختند، نشان دادند مقادیر TSP-1 گروه‌های دیابت و دیابت-تمرین نسبت به

۶. نتیجه‌گیری

در مجموع، یافته‌های تحقیق حاضر حاکی از افزایش سطوح سرمی MMP-1 در گروه تمرین استقامتی و احتمالاً بهبود روند آنژیوژنز و ایجاد عروق مویرگی جدید در راستای افزایش خون‌رسانی به مناطق آسیب‌دیده است.

۷. تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل رساله دکتری به شماره دانشجویی ۹۵۰۴۶۲۰۳۳ و بخشی از پژوهانه نویسنده مسئول می‌باشد و هیچ‌گونه حامی مالی نداشته است. نویسندگان مراتب تشکر و

قدردانی خود را از کلیه کسانی که در انجام آن همکاری داشتند، ابراز می‌دارند.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Zhang R, Lan C, Pei H, Duan G, Huang L, Li L. Expression of circulating miR-486 and miR-150 in patients with acute myocardial infarction. *BMC cardiovascular disorders*. 2015; 15(1):51.
2. Tomanek RJ. Response of the coronary vasculature to myocardial hypertrophy. *Journal of the American College of Cardiology*. 1990; 15(3):528-33.
3. Nourshahi M, Hedayati M, Nemati J, Ranjbar K, Gholamali M. Effect of 8 weeks endurance training on serum vascular endothelial growth factor and endostatin in wistar rats. *Koomesh*. 2012; 13(4):474-9.
4. Yu SP, Wei Z, Wei L. Preconditioning strategy in stem cell transplantation therapy. *Translational stroke research*. 2013; 4(1):76-88.
5. Schupp D, Huck B, Sykora J, Flechtenmacher C, Gorenflo M, Koch A, et al. Right ventricular expression of extracellular matrix proteins, matrix-metalloproteinases, and their inhibitors over a period of 3 years after heart transplantation. *Virchows Archiv*. 2006; 448(2):184-94.
6. Zhang H-y, Bao S-m, Shou W-l, Luan H-x, Zhang Y, Feng X, et al. Expression of matrix metalloproteinase-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells of systemic lupus erythematosus patients and its relationship with atherosclerosis. *Chinese medical journal*. 2009; 122(21):2593-7.
7. Almeida I, Oliveira AG, Lima M, Silva I, Vasconcelos C. Different contributions of angiostatin and endostatin in angiogenesis impairment in systemic sclerosis: a cohort study. *Clinical and experimental rheumatology*. 2016; 34(5):37-42.
8. Bornstein P. Thrombospondins: structure and regulation of expression. *The FASEB Journal*. 1992; 6(14):3290-9.
9. Malek MH, Olfert IM. Global deletion of thrombospondin-1 increases cardiac and skeletal muscle capillarity and exercise capacity in mice. *Experimental physiology*. 2009; 94(6):749-60.
10. Kivelä R, Silvennoinen M, Lehti M, Jalava S, Vihko V, Kainulainen H. Exercise-induced expression of angiogenic growth factors in skeletal muscle and in capillaries of healthy and diabetic mice. *Cardiovascular diabetology*. 2008; 7(1):13.
11. Olfert IM, Breen EC, Gavin TP, Wagner PD. Temporal thrombospondin-1 mRNA response in skeletal muscle exposed to acute and chronic exercise. *Growth Factors*. 2006; 24(4):253-9.
12. Hoier B, Nordsborg N, Andersen S, Jensen L, Nybo L, Bangsbo J, et al. Pro-and anti-angiogenic factors in human skeletal muscle in response to acute exercise and training. *The Journal of physiology*. 2012; 590(3):595-606.
13. Xu X, Wan W, Powers AS, Li J, Ji LL, Lao S, et al. Effects of exercise training on cardiac function and myocardial remodeling in post myocardial infarction rats. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2008; 44(1):114-22.
14. Donley DA, Fournier SB, Reger BL, DeVallance E, Bonner DE, Olfert IM, et al. Aerobic exercise training reduces arterial stiffness in metabolic syndrome. *Journal of Applied Physiology*. 2014; 116(11):1396-404.
15. Schadler KL, Thomas NJ, Galie PA, Bhang DH, Roby KC, Addai P, et al. Tumor vessel normalization after aerobic exercise enhances chemotherapeutic efficacy. *Oncotarget*. 2016; 7(40):65429.
16. Lloyd PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2003; 284(5):H1668-H78.
17. Bertinchant J, Robert E, 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. *Clinica Chimica Acta*. 2000; 298(1-2):13-28.
18. Lobo Filho HG, Ferreira NL, Sousa RBd, Carvalho ERd, Lobo PLD, Lobo Filho JG. Experimental model of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2011; 26(3):469-76.
19. Sun Y, Qi G, Li D, Meng H, Zhu Z, Zhao Y, et al. Walnut (*Juglans regia* L.) Kernel Extracts Protect Against Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rats. *Rejuvenation research*. 2018.
20. Afzalpour ME, Yousefi MR, Eivari SHA, Ilbeigi S. Changes in blood insulin resistance, GLUT4 & AMPK after continuous and

- interval aerobic training in normal and diabetic rats. *J App Pharm Sci*. 2016; 6:76-81.
21. Carmeli E, Haimovitch TG. The expression of MMP-2 following immobilization and high-intensity running in plantaris muscle fiber in rats. *The Scientific World Journal*. 2006; 6:542-50.
 22. Rivilis I, Milkiewicz M, Boyd P, Goldstein J, Brown MD, Egginton S, et al. Differential involvement of MMP-2 and VEGF during muscle stretch-versus shear stress-induced angiogenesis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2002.
 23. 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.
 24. Urso ML, Pierce JR, Alemany JA, Harman EA, Nindl BC. Effects of exercise training on the matrix metalloprotease response to acute exercise. *European journal of applied physiology*. 2009; 106(5):655-63.
 25. Kwak H-B, Kim J-h, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *The FASEB Journal*. 2011; 25(3):1106-17.
 26. Tunc-Ata M, Mergen-Dalyanoglu M, Turgut S, Turgut G. Effect of acute and chronic exercise on plasma matrix metalloproteinase and total antioxidant levels. *Journal of exercise rehabilitation*. 2017; 13(5):508.
 27. Puhl S-L, Müller A, Wagner M, Devaux Y, Bohm M, Wagner DR, et al. Exercise limits scar thinning after myocardial infarction in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2015.
 28. Nicosia RF, Tuszynski GP. Matrix-bound thrombospondin promotes angiogenesis in vitro. *The Journal of cell biology*. 1994; 124(1):183-93.
 29. Kivelä R, Silvennoinen M, Touvra A-M, Lehti TM, Kainulainen H, Vihko V, et al. Effects of experimental type 1 diabetes and exercise training on angiogenic gene expression and capillarization in skeletal muscle. *The FASEB journal*. 2006; 20(9):1570-2.
 30. Stenina OI, Krukovets I, Wang K, Zhou Z, Forudi F, Penn MS, et al. Increased expression of thrombospondin-1 in vessel wall of diabetic Zucker rat. *Circulation*. 2003; 107(25):3209-15.