

تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن $HIF-1\alpha$ و فراخوانی سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال بافت خون به دنبال یک جلسه فعالیت مقاومتی در مردان سالمند

سجاد کرمی^۱، فرشته شهیدی^۲، حمید رجبی^۳، فرشته گلاب^۴

چکیده

سابقه و هدف

اختلال در عملکرد سلول‌های اندوتلیال با ایجاد آترواسکروز و بیماری‌های قلبی - عروقی مرتبط دانسته شده است. سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال بزرگسالان از سلول‌های بنیادی خونساز مشتق شده و قادر به تشکیل عروق خونی جدید از طریق یک فرآیند رگ‌زایی هستند. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی بر بیان ژن $HIF-1\alpha$ و فراخوانی سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال بافت خون به دنبال یک جلسه فعالیت مقاومتی در افراد سالمند بود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه نیمه تجربی حاضر، ۲۴ مرد سالمند از بین ۱۰۰ سالمند به صورت در دسترس و هدفمند انتخاب شدند. نمونه خون قبل و بعد از دستورالعمل یک جلسه فعالیت مقاومتی در قبل و بعد از ۸ هفته تمرین مقاومتی گرفته شد. روش فلوسیتومتری به منظور شمارش سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال و روش Real Time PCR به جهت بیان ژن، مورد استفاده قرار گرفت. تفاوت مقادیر متغیرها در دو گروه با روش تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر میکس دیزاین ارزیابی شد.

یافته‌ها

مقادیر بیان ژن $HIF-1\alpha$ گروه تمرین، در مراحل پس‌آزمون اولیه، پیش‌آزمون ثانویه و پس‌آزمون ثانویه معنادار بود. هم چنین تعداد فاکتورهای رشد عروقی گروه تمرین در مراحل پیش‌آزمون ثانویه و پس‌آزمون ثانویه و تعداد $CD34^+$ در مراحل پیش‌آزمون ثانویه و پس‌آزمون ثانویه افزایش داشت ($p=0/001$).

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که ۸ هفته تمرین مقاومتی در سالمندان، می‌تواند فراخوانی EPCs و هم چنین بیان ژن $HIF-1\alpha$ را در بافت خون افزایش دهد و در واقع منجر به ترمیم و نگهداری از لایه سلول‌های اندوتلیال و آنژیوژنز گردد.

کلمات کلیدی: تمرین مقاومتی، عامل قابل القاء هیپوکسی-۱-آلفا، سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۵

تاریخ پذیرش: ۹۸/ ۲/۱۸

۱- مؤلف مسئول: دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش - دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی - دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی - تهران - ایران - کد پستی: ۱۶۷۸۸۱۵۸۱۱

۲- دکترای فیزیولوژی ورزش - دانشیار دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی - تهران - ایران

۳- دکترای فیزیولوژی ورزش - دانشیار دانشگاه خوارزمی - تهران - ایران

۴- دکترای فیزیولوژی - استادیار مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران - تهران - ایران

مقدمه

با افزایش سن، اختلال در عملکرد سلول‌های اندوتلیال و عوارض ناشی از آن شایع‌تر می‌شوند. اختلال در عملکرد سلول‌های اندوتلیال با توسعه آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی - عروقی مرتبط دانسته شده است و به طور کلی، عوامل خطررزی بیماری‌های قلبی - عروقی با افزایش سن تشدید و سالمندی باعث اختلال در عملکرد اندوتلیال و کاهش مقاومت عروق می‌گردد. بنابراین تغییر در عملکرد اندوتلیال به دنبال پیری، ممکن است حاوی پیامدهای مهم بالینی باشد. اخیراً مشخص شده است که خون محیطی افراد بزرگسال حاوی رده سلولی بی‌نظیری از سلول‌های مشتق از مغز استخوان است که ویژگی‌های آن‌ها مشابه با آنژیوبلاست‌های جنینی بوده و قابلیت تکثیر و تمایز به سلول‌های اندوتلیال بالغ را دارند و سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال (Endothelial Progenitor Cells, EPC) نامیده می‌شوند (۱). بین EPCs در گردش و عوامل محرک آنژیوژنز به ویژه عامل قابل القاء هیپوکسی-۱ آلفا (Hypoxia-Inducible Factor-1 α , HIF-1 α) و تشکیل عروق خونی جدید از طریق فرآیند آنژیوژنز ارتباط تنگاتنگی وجود دارد. در همین راستا سطوح HIF-1 α رونویسی از چندین فاکتور آنژیوژنیک از جمله فاکتور رشد عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) و فاکتور مشتق از سلول استرومایی (Stromal cell-derived Factor1, SDF-1 α) را فعال می‌کند. این فاکتورها سبب رهاسازی EPCs از مغز استخوان به ناحیه دچار کمبود اکسیژن می‌شود. بنابراین غلظت SDF-1 α در مناطق کم اکسیژن بافت بیشتر است و همین امر در افزایش EPCs در بافت مذکور نقش دارد (۲). فعالیت ورزشی می‌تواند تعداد EPCs گردش خون را در افراد سالم و هم چنین در بیماران عروق کرونر افزایش دهد (۳-۶). مشخص شده است که یک دوره ۳۰ دقیقه‌ای فعالیت ورزشی برای افزایش SDF-1 α پلاسما و بروز بلافاصله اثرات پایین دست آن بر روی EPCs و عملکرد بیولوژیکی آن‌ها کافی است (۷-۹). چنین به نظر می‌رسد که بیان و ثبات HIF-1 α در عضله اسکلتی بعد از فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد و سلول‌های ماهواره‌ای عضلانی و فیبروبلاست‌ها قادر به ترشح SDF-

۱ α برای کمک به جذب EPCs به بافت ایسکمیک هستند (۱۰-۱۲). اطلاعات کمی در ارتباط با پاسخ و سازگاری به فعالیت ورزشی مقاومتی در مقایسه با فعالیت ورزشی هوازی وجود دارد (۱۳-۱۶). مشخص شده است که استرس وارد شده به سیستم عروقی در پاسخ به فعالیت ورزشی مقاومتی منجر به محرک ایسکمیک بیشتری نسبت به یک فعالیت ورزشی هوازی می‌شود (۱۴). از این رو روس و همکاران به بررسی اثر یک جلسه فعالیت ورزشی مقاومتی بر EPCs و سایتوکاین‌های آنژیوژنیک پرداختند (۱۷). نتایج نشان داد که جلسات شدید و کوتاه مدت از فعالیت مقاومتی می‌تواند EPCs گردش خون و سایتوکاین‌های آنژیوژنیک که منجر به انطباق و محافظت عروقی می‌شود را افزایش دهد. هم چنین کورگر و همکاران گزارش دادند که فعالیت مقاومتی با شدت ۷۵٪ و حداکثر قدرت می‌تواند EPCs گردش خون را افزایش دهد (۱۸). ربريو و همکاران مشاهده کردند که فراخوانی و تعداد EPCs گردش خون، به شدت تمرین مقاومتی وابسته است و شدت بالاتر تمرین، باعث افزایش بیشتر در میزان EPCs گردش خون می‌شود (۱۹). بنابراین با توجه به پیشینه مطالعه‌های انجام گرفته که بیشتر به صورت حاد و با استفاده از فعالیت ورزشی هوازی صورت گرفته است، هم چنین تحقیقات محدود در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی مقاومتی بر پاسخ EPCs، عوامل مؤثر بر این پاسخ و نبود پیشینه مطالعاتی در ارتباط با سازگاری این عوامل در افراد سالمند، در این بررسی، نقش بالقوه EPCs را به عنوان عامل تشخیصی و پیش آماده‌سازی در ارتباط با فعالیت ورزشی به ویژه فعالیت مقاومتی مورد بحث قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

با توجه به استفاده از نمونه‌های انسانی و عدم کنترل کلیه متغیرهای مداخله‌گر، این مطالعه از نوع نیمه تجربی و به لحاظ لزوم اجرای دستورالعمل مورد مطالعه، از نوع مداخله‌ای بود. این مطالعه در تابستان ۱۳۹۶ انجام گرفت. در این مطالعه ۲۴ سالمند مرد آسایشگاه خیریه کهریزک کرج از بین ۱۰۰ سالمند مرد به صورت در دسترس و تصادفی به دو گروه برابر کنترل و تمرین تقسیم شدند. از

دستورالعمل یک جلسه فعالیت مقاومتی را انجام دادند و بلافاصله نمونه پس‌آزمون ثانویه از هر دو گروه گرفته شد. شدت دستورالعمل یک جلسه فعالیت مقاومتی که پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی انجام گرفت، بر اساس یک تکرار بیشینه جدید که از قبل محاسبه شده بود، تعدیل گردید. نمونه‌های خونی جهت انجام مراحل آزمایشگاهی به منظور بررسی میزان بیان ژن *HIF-1α* و هم‌چنین آنالیز فلوسیتومتری EPCs بافت خون به مرکز تحقیقات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران منتقل گردید.

آنالیز فلوسیتومتری:

به طور خلاصه سلول‌های تک هسته‌ای از ۵ میلی‌لیتر خون هپارینه توسط سانتریفیوژ جدا شدند و با آنتی‌بادی منوکلونال مخصوص برای ۳۰ دقیقه تحت اثر سرم جنینی گوساله قرار گرفتند. سپس با بافر حاوی سالین فسفات، بافر شده و با آلبومین گاوی ۱٪ شسته شدند. سپس سلول‌ها با آنتی‌بادی منوکلونال شامل آنتی‌بادی‌های $CD34^+$ و $VEGFR2^+$ کنژوگه با فیکواریترین (PE) (بیوساینس - آمریکا) رنگ شده و پس از آن سلول‌ها شسته و جداسازی اولیه بر مبنای پراکندگی جلویی و کناری سلول‌ها انجام شد. پس از جدا کردن جمعیت لنفوسیتی با تعیین تعداد سلول‌های $CD34^+/VEGFR2^+$ ، تعداد EPCs تعیین شد. تجزیه و تحلیل فلوسیتومتری از طریق یک فلوسیتومتر FACS calibur و نرم‌افزار Cell Quest FACS انجام و نتایج بر اساس تعداد در میکرولیتر ثبت گردید.

بیان ژن:

پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد، استخراج RNA و سپس سنتز cDNA انجام گرفت و برای این منظور از کیت استخراج RNA (RNX) و کیت سنتز cDNA ساخت شرکت بیونیر استفاده شد. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA، واکنش PCR در حجم $10 \mu L$ انجام شد، ابتدا آغازگر Master Mix2x و DEPC به دمای محیط رسانده و بعد از یک سانتریفیوژ آماده استفاده شدند، استریپ‌های (تیوب‌های $100 \mu L$ متصل به هم

سالمندان با شرایط سابقه ارتوپدی، بیماری قلبی - عروقی، دیابت، سابقه افتادن، استفاده کردن از عصا یا واکر، تمرین ورزشی منظم و سابقه مصرف داروی خاص از ورود به مطالعه جلوگیری به عمل آمد. مشخصات آنروپومتریکی و حداکثر قدرت بیشینه اندازه‌گیری شد (جدول ۱) (۲۱، ۲۰). پس از ۸ ساعت ناشتایی شبانه، نمونه پیش‌آزمون اولیه به حجم ۵ میلی‌لیتر خون سیاهرگی در دمای $28 - 25$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت $55\% - 50\%$ ، از ورید دست غیر برتر آزمودنی‌ها، گرفته شد و پس از ۱ ساعت آزمودنی‌های هر دو گروه دستورالعمل ۱ جلسه فعالیت مقاومتی شامل ۶ حرکت پرس سینه، پشت ساق، اسکوات، پشت پا، جلو پا و سیم کش زیر بغل را در ۳ دور و با شدت برابر 70% یک تکرار پیشینه در مدت زمان ۳۰ دقیقه و با استفاده از دستگاه انجام دادند و بلافاصله نمونه خونی پس‌آزمون اولیه به حجم ۵ میلی‌لیتر گرفته شد. شدت دستورالعمل ۱ جلسه فعالیت مقاومتی برای هر آزمودنی 70% حداکثر قدرت بیشینه بود. پس از گذشت ۴۸ ساعت، دستورالعمل ۸ هفته تمرین مقاومتی (جلو بازو، پشت بازو، جلو ران، پشت پا، قفسه سینه، سرشانه و شکم) توسط گروه تمرین به صورت ۳ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته در مجموع ۲۴ جلسه، دستورالعمل تمرین مقاومتی به اجرا درآمد. در ۲ هفته ابتدایی هر حرکت از دستورالعمل ذکر شده در ۴ دور، ۱۰ تکرار و شدت برابر $50\% - 45\%$ یک تکرار بیشینه همراه با وهله‌های استراحتی ۶۰ ثانیه‌ای در بین هر دور و وهله‌های استراحتی ۱۸۰ ثانیه‌ای در بین هر حرکت در مدت زمان ۲۵ دقیقه انجام گرفت. ضرب‌آهنگ تکرارها به وسیله مترونوم تنظیم گردید به نحوی که هر حرکت به مدت ۲ ثانیه (یک ثانیه درون‌گرا و یک ثانیه برون‌گرا) طول می‌کشید. به منظور رعایت اصل اضافه بار در پایان هر دو هفته، ۵٪ یا یک تکرار بیشینه به شدت تمرین اضافه گردید. در طول مدت این ۸ هفته، آزمودنی‌های گروه کنترل از شرکت در فعالیت‌های ورزشی به جهت مداخله بر نتایج مطالعه منع شدند و پس از ۸ هفته و دقیقاً ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه خون پیش‌آزمون ثانویه گرفته شد. پس از آن آزمودنی‌های هر دو گروه

جدول ۱: ویژگی‌های آنتروپومتریک آزمودنی‌ها در گروه‌های مورد مطالعه (M±SD)

گروه	کنترل	تمرین	P
تعداد	۱۲	۱۲	
سن (سال)	۶۳/۸۳ ± ۲/۴۰	۶۶/۴۲ ± ۳/۷۰	۰/۳۸۴
قد (سانتی‌متر)	۱۶۳/۵۵ ± ۴/۷۰	۱۶۶/۰۱ ± ۶/۶۰	۰/۵۱۸
وزن (کیلوگرم)	۶۷/۸۰ ± ۳/۸۰	۶۶/۰۷ ± ۲/۴۰	۰/۴۶۹
شاخص توده بدن (کیلوگرم/مترمربع)	۲۵/۲۰ ± ۷/۲۰	۲۴/۶۰ ± ۴/۴۰	۰/۱۰۳
درصد چربی (درصد)	۱۹/۶۰ ± ۵/۳۰	۱۹/۹۰ ± ۸/۲۰	۰/۱۱۶
توده بدون چربی (کیلوگرم)	۵۱/۳۰ ± ۶/۲۰	۵۲/۰۴ ± ۳/۷۰	۰/۱۰۹
نسبت دور کمر به لگن (درصد)	۸۷/۴۰ ± ۸/۴۰	۸۶/۵۰ ± ۳/۳۰	۰/۱۲۱
نسبت دور کمر به قد (درصد)	۴۷/۷۰ ± ۶/۴۰	۴۵/۲۰ ± ۵/۶۰	۰/۱۰۲

SPSS نسخه ۲۵ تجزیه و تحلیل شد.

مطالعه حاضر در پژوهشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی بر اساس موازین اخلاقی وزارت علوم با کد IR.SSRI.REC.1397.219 به تصویب رسیده است.

یافته‌ها

در بررسی نتایج حاصل از بیان ژن بین گروه‌های کنترل و تمرین در مراحل مختلف با توجه به در نظر گرفتن میزان بیان ژن گروه کنترل به عنوان عدد ۱، میزان برابری بیان ژن *HIF-1α* در گروه تمرین در مرحله پیش آزمون اولیه ۰/۹۸۰ برابر، پس آزمون اولیه ۰/۸۹۳ برابر، پیش آزمون ثانویه ۰/۹۵۸ برابر و پس آزمون ثانویه ۲/۰۶ برابر بود (جدول ۲). مقادیر بیان ژن *HIF-1α* گروه تمرین در مراحل پس آزمون اولیه و پیش آزمون و پس آزمون ثانویه در سطح (p ≤ ۰/۰۵) معنادار بود (p = ۰/۰۰۱).

هم چنین میزان تفاوت در میانگین تعداد CD34⁺ و VEGFR2⁺ در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل و در مراحل مختلف مطالعه به دست آمد (جدول ۳ و ۴).

تعداد CD34⁺ گردش خون گروه تمرین در مراحل پیش آزمون ثانویه و پس آزمون ثانویه و هم چنین تعداد VEGFR2⁺ گردش خون گروه تمرین در مراحل پیش آزمون ثانویه و پس آزمون ثانویه را افزایش داده است.

مخصوص دستگاه (Real-Time PCR) دستگاه بر روی یخ در زیر هود قرار داده و به آن‌ها ۵ μL (Master Mix 2x) و ۳ μL آب حاوی DEPC و ۰/۵ μL از آغازگر اضافه شد، در این مرحله cDNA روی یخ ذوب گردید و بعد از یک سانتریفیوژ کوتاه به هر استریپ ۱ μL اضافه گردید. در نهایت نمونه مورد نظر در دستگاه PCR قرار داده شد و ۴۵ چرخه تکثیر انجام پذیرفت.

داده حاصل، جمع‌آوری و ثبت شد. جهت کمی سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر، ابتدا ضریب جذب نوری به دست آمده در دستگاه کوربت، توسط نرم‌افزار Rotor Gene 6000 series-Virtual Mode طراحی شده به وسیله شرکت کوربت آلمان به داده عددی تبدیل شد. سپس از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (۲ به توان منفی $\Delta\Delta Ct$) در نرم‌افزار Excel استفاده شد. میزان بیان ژن‌ها به صورت نسبی در مقایسه با ژن کنترل β -actin اندازه‌گیری و مقادیر fold change محاسبه گردید.

برای بررسی معناداری تفاوت بین مقادیر متغیرهای مورد مطالعه در دو گروه کنترل و تمرین، از تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر طرح مختلط دو طرفه استفاده شد. قبل از انجام این آزمون آماری، جهت رعایت پیش فرض‌ها، نتایج آزمون‌های M باکس، کرویت موچلی، لوین و کولموگروف - اسمیرنوف بررسی شد. سطح معناداری و کولموگروف - اسمیرنوف بررسی شد و کلیه داده‌ها با استفاده از p ≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۲: تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر طرح مختلط دو طرفه بیان ژن *HIF-1α*

متغیرها	مرحله	گروه کنترل	گروه تمرین	تعامل زمان × گروه p
<i>HIF-1α</i>	پیش آزمون اولیه	۱/۳۶ ± ۰/۶۵	۰/۹۰ ± ۰/۴۶	۰/۱۷۹
	پس آزمون اولیه	۱/۱۲ ± ۰/۴۶	۱/۳۳ ± ۰/۴۱ *	
	پیش آزمون ثانویه	۱/۲۷ ± ۱/۱۱	۱/۸۰ ± ۰/۷۰ †#	
	پس آزمون ثانویه	۱/۱۹ ± ۱/۹۰ ##	۱/۳۶ ± ۰/۸۴ **	

* سطح معناداری $p \leq 0/05$ بین پیش‌آزمون و پس‌آزمون. † سطح معناداری $p \leq 0/05$ در مقایسه با پیش‌آزمون اولیه. # سطح معناداری $p \leq 0/05$ بین گروه کنترل و تمرین. ‡ سطح معناداری $p \leq 0/05$ در مقایسه با پس‌آزمون اولیه. ## سطح معناداری $p \leq 0/001$ بین گروه کنترل و تمرین. ** سطح معناداری $p \leq 0/05$ بین پیش‌آزمون و پس‌آزمون.

 جدول ۳: تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر طرح مختلط دو طرفه تعداد $VEGFR2^+$

متغیرها	مرحله	گروه کنترل	گروه تمرین	تعامل زمان × گروه p
$VEGFR2^+$	پیش آزمون اولیه	۹/۳۵ ± ۰/۷۸	۹/۲۴ ± ۰/۷۸	۰/۰۰۱
	پس آزمون اولیه	۹/۰۷ ± ۰/۸۱	۹/۱۴ ± ۰/۹۷	
	پیش آزمون ثانویه	۹/۷۹ ± ۰/۵۸	۱۱/۳۹ ± ۱/۰۱ †#	
	پس آزمون ثانویه	۱۱/۲۷ ± ۰/۹۵	۲۵/۰۳ ± ۲/۳۷ ***	

** سطح معناداری $p \leq 0/001$ بین پیش‌آزمون و پس‌آزمون. # سطح معناداری $p \leq 0/05$ بین گروه کنترل و تمرین. ## سطح معناداری $p \leq 0/001$ بین گروه کنترل و تمرین. † سطح معناداری $p \leq 0/05$ در مقایسه با پیش‌آزمون اولیه. ‡ سطح معناداری $p \leq 0/05$ در مقایسه با پس‌آزمون اولیه.

 جدول ۴: تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر طرح مختلط دو طرفه تعداد $CD34^+$

متغیرها	مرحله	گروه کنترل	گروه تمرین	تعامل زمان × گروه p
$CD34^+$	پیش آزمون اولیه	۱/۵۸ ± ۰/۲۷	۱/۵۴ ± ۰/۱۹	۰/۰۰۱
	پس آزمون اولیه	۱/۵۷ ± ۰/۲۲	۱/۵۱ ± ۰/۱۸	
	پیش آزمون ثانویه	۱/۵۵ ± ۰/۲۶	۳/۵۹ ± ۰/## †۲۸	
	پس آزمون ثانویه	۱/۳۳ ± ۰/۱۸	۱۱/۸۹ ± ۱/۰ ***	

** سطح معناداری $p \leq 0/001$ بین پیش‌آزمون و پس‌آزمون. # سطح معناداری $p \leq 0/05$ بین گروه کنترل و تمرین. ## سطح معناداری $p \leq 0/001$ بین گروه کنترل و تمرین. † سطح معناداری $p \leq 0/05$ در مقایسه با پیش‌آزمون اولیه. ‡ سطح معناداری $p \leq 0/05$ در مقایسه با پس‌آزمون اولیه.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان‌دهنده این واقعیت است که ۸ هفته تمرین مقاومتی می‌تواند فراخوانی EPCs ($CD34^+$) و $VEGFR2^+$ و هم‌چنین مقادیر بیان ژن *HIF-1α* را در بافت خون مردان سالمند افزایش دهد و در واقع منجر به

ترمیم و نگهداری از سلول‌های اندوتلیال عروق و آنژیوژنز گردد. به طور واضح‌تر نتایج نشان داد که ۸ هفته تمرین مقاومتی در سالمندان، تعداد $CD34^+$ گردش خون گروه تمرین در مراحل پیش‌آزمون بعد از ۸ هفته، پس‌آزمون بعد از ۸ هفته و هم‌چنین تعداد $VEGFR2^+$ گردش خون گروه

تمرین در مراحل پیش‌آزمون بعد از ۸ هفته و پس‌آزمون بعد از ۸ هفته را افزایش داده است ($p=0/001$). هم‌چنین مقادیر بیان ژن *HIF-1α* گروه تمرین در مراحل پس‌آزمون قبل از ۸ هفته و پیش‌آزمون و پس‌آزمون بعد از ۸ هفته در سطح $p \leq 0/05$ معنادار بوده است. این یافته‌ها در ارتباط با فراخوانی و پاسخ EPCs با نتایج برخی از پژوهشگران ناهمسو بود (۱۰-۶). از دلایل احتمالی برای عدم هم‌خوانی یافته‌های این مطالعه با دیگر بررسی‌ها را می‌توان به نوع و شدت دستورالعمل تمرینی نسبت داد، با توجه به پیشینه مطالعه‌ها که بر فعالیت ورزشی هوازی متمرکز بوده، یافته‌های محدودی در زمینه تأثیر تمرین مقاومتی بر فراخوانی و پاسخ EPCs و عوامل مؤثر بر این پاسخ وجود دارد، هم‌چنین می‌توان به شدت دستورالعمل تمرینی اشاره کرد. مشخص شده است که تنش‌های وارد شده به سیستم عروقی در پاسخ به ورزش مقاومتی به احتمال زیاد به شدت، تعداد تکرار و مدت زمان بازیافت بستگی دارد. در واقع حرکات با بار سبک تا متوسط به همراه تعداد تکرار بالا و مدت زمان بازیافت کوتاه به عنوان بخشی از یک تمرین استقامت عضلانی ممکن است منجر به محرک ایسکمیک بیشتری در عضله گردد و شدت‌های بالاتر از تمرین مقاومتی می‌تواند شرایط ایسکمیک شدیدتر و شیب بزرگتری از فراخوانی و پاسخ EPCs را به دنبال داشته باشد. در همین راستا چنین به نظر می‌رسد که بیان و ثبات *HIF-1α* در عضله اسکلتی از طریق فعال کردن SDF-1α نقش بسزایی بر عهده دارد (۱۱-۹). دلیل عمده دیگر می‌تواند مدت زمان دستورالعمل‌های تمرینی انجام گرفته در مطالعه‌های مختلف باشد. در همین راستا نیم‌پرو و همکاران مقایسه اثر سه نوع فعالیت هوازی بر تعداد و عملکرد EPCs گردش خون در ۲۵ مرد سالم را بررسی کردند (۳۰ دقیقه ۸۲٪، ۳۰ دقیقه ۶۸٪ و ۱۰ دقیقه ۶۸٪ ($VO_2 \text{ Max}$)). نتایج نشان داد که فقط دو فعالیت ۳۰ دقیقه‌ای باعث افزایش EPCs گردش خون می‌گردد. از سوی دیگر روس و همکاران، کورگر و همکاران و ریریو و همکاران نیز به صورت حاد به بررسی فعالیت مقاومتی پرداخته‌اند، لذا نتایج به دست آمده در این مطالعه به گونه‌ای متفاوت از نتایج سایر بررسی‌ها در حیطه فعالیت

مقاومتی می‌باشد چرا که دستورالعمل تمرینی به کار رفته در این مطالعه شامل ۸ هفته تمرین مقاومتی بوده است که به بررسی سازگاری‌های صورت گرفته پرداخته است (۱۹-۱۷). سن نیز از عوامل اثرگذار بر فراخوانی و عملکرد EPCs می‌باشد. مشخص شده است که توانایی ترمیم اندوتلیوم وابسته به سن می‌باشد و بر این اساس ارتباط بین سن و اختلال در عملکرد EPCs توسط تعدادی از مطالعه‌ها حمایت می‌شود. به بیان دیگر پیری با اختلال در عملکرد اندوتلیال و هم‌چنین اختلال در آنژیوژنز در ارتباط است و این اثرات می‌تواند با کاهش تعداد EPCs و اختلال در تولید عروق همراه باشد (۲۷-۳). در همین راستا شیا و همکاران متوجه شدند که توانایی موش در ترمیم اندوتلیال به دنبال آسیب شریان کاروتید در موش وابسته به سن می‌باشد (۶). هم‌چنین، یکی دیگر از دلایل عدم هم‌خوانی نتایج مطالعه را می‌توان در جنسیت آزمودنی‌ها جستجو کرد. در پاسخ به استرس، فعالیت ورزشی زنان در مقایسه با مردان پاسخ‌های متفاوتی در سیستم ایمنی، سلول‌های آنژیوژنیک و EPCs از خود نشان می‌دهند. بویست و همکاران نشان دادند که پس از ۱۸ هفته تمرین مقاومتی، مردان سالمند سازگاری‌های بالاتری نسبت به زنان سالمند از خود نشان دادند و پیشنهاد کردند که احتمالاً زنان در مقایسه با مردان محرک بزرگتری از تمرین مقاومتی به منظور پاسخ یکسان به مردان لازم دارند (۲۲). هم‌چنین می‌توان به میزان سطح آمادگی جسمانی و شرایط سلامت شرکت‌کنندگان اشاره کرد. از آن جایی که آزمودنی‌های مطالعه حاضر را سالمندان مرد غیر ورزشکار تشکیل دادند، لذا سازگاری‌های کسب شده از ۸ هفته تمرین مقاومتی می‌تواند توجیهی بر فراخوانی و پاسخ EPCs متفاوت با سایر مطالعه‌ها باشد. در همین راستا مطالعه‌های متعددی مشاهده کرده‌اند که فعالیت بدنی و ورزش می‌تواند EPCs را در افراد سالم و هم‌چنین در بیماران عروق کرونر و نارسایی قلبی افزایش دهد (۲۸-۷). از این رو نتایج به دست آمده در این مطالعه را می‌توان با عدم وجود هرگونه بیماری خاص در آزمودنی‌ها مرتبط دانست. در نهایت از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم سنجش ساخت پروتئین و هم‌چنین دوره‌های زمانی متفاوت

سنجش اشاره داشت.

تخریب کارکرد اندوتلیال و بیماری‌های عروقی هستند، ایجاد کنیم.

نتیجه‌گیری

در نهایت با توجه به نکات و مطالبی که ارائه شد می‌توان چنین بیان کرد که احتمالاً تمرین مقاومتی می‌تواند اثرات مثبتی را در بهبود اختلال اندوتلیال در افراد سالمند به واسطه افزایش فراخوانی EPCs و بیان ژن سایتوکاین‌های رگ‌زایی به ویژه *HIF-1α* داشته باشد و با این رویکرد مطالعاتی، خواهیم توانست ابعاد درمانی جدیدی را در ارتباط با پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی مقاومتی در بیماران قلبی - عروقی به ویژه افراد سالمند که ذاتاً مستعد

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع دکترای فیزیولوژی ورزش می‌باشد و بدین وسیله از اساتید محترم راهنما و مشاور برای ارائه نظرات مفید و ارزنده در به انجام رساندن این مطالعه و هم چنین از موسسه خیریه کهریزک کرج و تمامی آزمودنی‌های شرکت‌کننده کمال تشکر و قدردانی را دارم.

References:

- 1- Ribeiro F, Ribeiro IP, Alves AJ, do Céu Monteiro M, Oliveira NL, Oliveira J, *et al.* Effects of exercise training on endothelial progenitor cells in cardiovascular disease: a systematic review. *Am J Phys Med Rehabil* 2013; 92: 1020-30.
- 2- Lenk K, Uhlemann M, Schuler G, Adams V. Role of endothelial progenitor cells in the beneficial effects of physical exercise on atherosclerosis and coronary artery disease. *J Appl Physiol* 2011; 111(1): 321-8.
- 3- Wang H, Listrat A, Meunier B, Gueugneau M, Coudy-Gandilhon C, Combaret L, *et al.* Apoptosis in capillary endothelial cells in ageing skeletal muscle. *Aging Cell* 2014; 13(2): 254-62.
- 4- Donato AJ, Magerko KA, Lawson BR, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. SIRT-1 and vascular endothelial dysfunction with ageing in mice and humans. *J Physiol* 2011; 589(Pt 18): 4545-54.
- 5- Kushner E, Guilder GV, MacEneaney O, Greiner J, Cech J, Stauffer B, *et al.* Ageing and endothelial progenitor cell release of pro angiogenic cytokines. *Age Ageing* 2010; 39(2): 268-72.
- 6- Xia WH, Li J, Su C, Yang Z, Chen L, Wu F, *et al.* Physical exercise attenuates age-associated reduction in endothelium-reparative capacity of endothelial progenitor cells by increasing CXCR4/JAK-2 signaling in healthy men. *Aging Cell* 2012; 11(1): 111-9.
- 7- Laufs U, Urhausen A, Werner N, Scharhag J, Heitz A, Kissner G, *et al.* Running exercise of different duration and intensity: effect on endothelial progenitor cells in healthy subjects. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; 12(4): 407-14.
- 8- Niemi GM, Parel J, Beals J, van Vliet S, Paluska SA, Moore DR. *et al.* Kinetics of circulating progenitor cell mobilization during submaximal exercise. *J Appl Physiol* 2017; 122(3): 675-82.
- 9- Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, Tepper OM, Bastidas N, Kleinman ME, *et al.* Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through *HIF-1* induction of SDF-1. *Nat Med* 2004; 10(8): 858-64.
- 10- Cheng, M, Qin G. Progenitor cell mobilization and recruitment: SDF-1, CXCR4, alpha4-integrin, and c-kit. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2012; 111: 243-64.
- 11- Jujo K, Hamada H, Iwakura A, Thorne T, Sekiguchi H, Clarke T, *et al.* CXCR4 blockade augments bone marrow progenitor cell recruitment to the neovasculature and reduces mortality after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(24): 11008-11013.
- 12- Borde R, Hortobágyi T, Granacher U. Dose-Response Relationships of Resistance Training in healthy old adults: a systematic review and Meta-Analysis. *Sports Med* 2015; 45(12): 1693-720.
- 13- Latham N, Liu CJ. Strength training in older adults: the benefits for osteoarthritis. *Clin Geriatr Med* 2010; 26(3): 445-59.
- 14- Graef FI, Pinto RS, Alberton CL, de Lima WC, Kruel LF. The effects of resistance training performed in water on muscle strength in the elderly. *J Strength Cond Res* 2010; 24(11): 3150-6.
- 15- Negaresh R, Ranjbar R, Habibi A, Gharibvand MM. Effects of eight weeks resistance training on muscle hypertrophy and physiological parameters among elderly men. *Journal of Geriatric Nursing* 2016; 3(1): 62-75. [Article in Farsi]
- 16- Francois ME, Durrer C, Pistawka KJ, Halperin FA, Little JP. Resistance-based interval exercise acutely improves endothelial function in type 2 diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2016; 311(5): H1258-H1267.
- 17- Ross MD, Wekesa AL, Phelan JP, Harrison M. Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46(1): 16-23.
- 18- Krüger K, Pilat C, Schild M, Lindner N, Frech T, Munders K, *et al.* Progenitor cell mobilization after exercise is related to systemic levels of G-CSF and muscle damage. *Scand J Med Sci Sports* 2015; 25(3): e283-91.
- 19- Ribeiro F, Ribeiro IP, Gonçalves AC, Alves AJ, Melo

- E, Fernandes R, *et al.* Effects of resistance exercise on endothelial progenitor cell mobilization in women. *Sci Rep* 2017; 7(1): 17880.
- 20- Brzycki M. Strength-predicting a one-rep max from reps-to-fatigue. *J Phys Educ Rec Dance* 1993; 64(1): 88-90.
- 21- American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2013. p. 223-30.
- 22- Da Boit M, Sibson R, Meakin JR, Aspden RM, Thies F, Mangoni AA, *et al.* Sex differences in the response to resistance exercise training in older people. *Physiol Rep* 2016; 4(12): e12834.
- 23- Brown MD, Hudlicka O. Modulation of physiological angiogenesis in skeletal muscle by mechanical forces: involvement of VEGF and metallo proteinases. *Angiogenesis* 2003; 6(1): 1-14.
- 24- Hellsten Y, Rufener N, Nielsen JJ, Høier B, Krstrup P, Bangsbo J. Passive leg movement enhances interstitial VEGF protein, endothelial cell proliferation, and eNOS mRNA content in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294(3): R975-82.
- 25- Faria TO, Angeli JK, Mello LGM, Pinto GC, Stefanon I, Vassallo DV, *et al.* A Single Resistance Exercise Session Improves Aortic Endothelial Function in Hypertensive Rats. *Arq Bras Cardiol* 2017; 108(3): 228-36. [Article in English, Portuguese]
- 26- Cross MJ, Claesson-Welsh L. FGF and VEGF function in angiogenesis: signaling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22(4): 201-7.
- 27- Steiner S, Niessner A, Ziegler S, Richter B, Seidinger D, Pleiner J, *et al.* Endurance training increases the number of endothelial progenitor cells in patients with cardiovascular risk and coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2005; 181(2): 305-10.
- 28- Adams V, Lenk K, Linke A, Lenz D, Erbs S, Sandri M, *et al.* Increase of circulating endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease after exercise-induced ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(4): 684-90.

Original Article

Effect of 8-week resistance training on *HIF-1 α* gene expression and Endothelial Progenitor Cells recall of blood after one session of resistance activity in elderly men

Karami S.¹, Shahidi F.², Rajabi H.³, Golab F.⁴

¹Faculty of Physical Education and Sport Science, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran

²Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran

³Kharazmi University, Tehran, Iran

⁴Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Dysfunction of endothelial cells is associated with the development of atherosclerosis and cardiovascular disease. Adult endothelial progenitor cells are derived from hematopoietic stem cells capable of forming new blood vessels through a process of angiogenesis. This study was to investigate the effect of resistance training on *HIF-1 α* gene expression and recall of Endothelial Progenitor Cells following an exercise session in the elderly.

Materials and Methods

In this quasi-experimental study, 24 elderly men were selected from among 100 elderly people and were randomly divided into two control and training groups. Blood samples were taken once before and after the protocol of one session of resistance training and once more before and after 8 weeks of resistance exercise. The flowcytometric and the RT-PCR methods were used for the enumeration and gene expression levels, respectively. The analysis of variance with repeated measurements of design was used.

Results

The values of *HIF-1 α* expression in the training group were significant at the initial post-test ($p = 0.048$), secondary pre-test ($p = 0.038$) and post-test ($p = 0.034$). Also, the number of VEGFR2+ in the training group in the pre-test ($p = 0.024$) and secondary post-test ($p = 0.002$) and CD34+ in the pre-test ($p = 0.019$) and secondary post-test ($p = 0.006$) showed an increase.

Conclusions

Eight weeks of resistance training in the elderly can increase both the call of EPCs and expression of *HIF-1 α* gene in the blood tissue leading to repair and maintenance of the layer of Endothelial cells and angiogenesis.

Key words: Resistance Training, Hypoxia-Inducible Factor 1, Endothelial Progenitor Cells

Received: 24 Feb 2019

Accepted: 8 May 2019

Correspondence: Karami S., Ph.D Student in Sport Physiology. Faculty of Physical Education and Sport Science, Shahid Rajaee Teacher Training University.
Postal Code: 1678815811, Tehran, Iran. Tel: (+9826) 34316349; Fax : (+9821) 34316349
E-mail: karami.sp@gmail.com