پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش
دورهٔ ۷، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۴
ص ص : ۲۳- ۳۸

تأثیر فعالیت استقامتی با حجم بالا در شرایط هایپوکسی نورموباریک و نورموکسی بر پاسخ مویرگ‌زایی در مردان غیرفعال

یعقوب مهری الوار [*1]، علی اصغر رواسی [2]، فاطمه شب خیز [3]، فهیمه عرفانی آداب [4]، سجاد حسنوند [5]

او۵. کارشناس ارشد فیزیولوژی و تغذیه ورزشی دانشگاه تهران، ۲.استاد دانشگاه تهران، ۳. استادیار دانشگاه تهران، ۴. کارشناس ارشد دانشگاه بوعلی سینا

(تاریخ دریافت : ۱۵ / ۱۱ /۱۳۹۱، تاریخ تصویب : ۱۷ / ۰۲ /۱۳۹۲)

چکیده

تمرینات ورزشی باعث تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گسترده ای در بدن می شوند که از جمله این تغییرات می توان به افزایش چگالی مویرگی یا آنژیوژنز در بافت عضله اسکلتی و عضله قلبی اشاره کرد. VEGF به عنوان مهمترین فاکتور آنژیوژنیکی جهت رخداد فرایندهای آنژیوژنزی شناخته شده است، لذا هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت استقامتی طولانی مدت در شرایط هایپوکسی نورموباریک و نورموکسی بر پاسخ مویرگ زایی در مردان غیر فعال می باشد.به این منظور ۸ مرد جوان غیر فعال (سن ۰/۵±۲۵ سال و قد ۵/۴±۱۷۴سانتی متر، وزن ۴/۵±۶۲کیلوگرم؛ حداکثر بازده کاری (Wmax) در شرایط هایپوکسی ۱۳/۴۱±۱۵۹و در شرایط نورموکسی۸/۲۱±۱۷۱ به عنوان آزمودنی انتخاب شدند. آزمودنی‌ها پروتکل فعالیت تداومی را در شرایط هایپوکسی نورموباریک (۱۵/۳ تا ۱۵/۵ درصداکسیژن تقریباً برابر ارتفاع ۲۵۰۰ متر) و همین پروتکل را در شرایط نورموکسی در دو هفته مجزا اجرا کردند. نمونه های خونی قبل، بلافاصله و ۲ ساعت بعد از فعالیت گرفته شد. نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری‌های مکرر نشان داد که بین شرایط محیطی مختلف (هایپوکسی و نورموکسی)، درمیزان اثرگذاری برسطوحVEGFسرمی مردان غیر فعال اختلاف معنادار وجود دارد(P=۰/۰۳۶). مداخلات تمرینی و مطالعات بسیاری برای مشخص شدن مویرگ زایی در بدن نیاز است. اگرچه سطوح بالای VEGFبعد از فعالیت تداومی در شرایط هایپوکسی به نسبت شرایط نورموکسی ممکن است منجر به افزایش آنژیوژنز و مویرگ زایی شود. به هر حال مطالعات آینده برای مشخص شدن محرک‌ها و مکانیسم‌هایی که برای رشد عروق جدید در تمرینات تداومی که گزارش شده نیازمند است.

واژه های کلیدی

فعالیت استقامتی با حجم بالا، هیپوکسی، آنژیوژنز، فاکتور رشد آندوتلیال عروقی، عروق

* - نویسنده مسئول : تلفن : ۰۹۱۸۷۶۹۸۲۷۵
Email: alvar.sport@yahoo.com

مقدمه

قرار گرفتن در معرض ارتفاع اثرات بیولوژیکی مخصوصی را بر روی انسان‌ها می‌گذارد. قرار گرفتن مداوم در ارتفاع متوسط (۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ متر) ظرفیت انتقال اکسیژن به وسیله افزایش اریتروپویتین[1] در هماتوکریت[2] را بهبود می‌دهد (۴). نتایج فعالیت ورزشی در شرایط محیطی متفاوت بر چندین سازگاری عضله اسکلتی که یکی از این سازگاری‌ها شامل توسعه مویرگ‌های جدید که به عنوان آنژیوژنز شناخته شده است تاثیر دارد(۱۱).

فعالیت بدنی منظم، عامل مهمی در پیشگیری و درمان انواع بیماری‌ها است. ملاحظات کلینیکی زیادی نشان داده‌اند که میزان بیماری و مرگ و میر در بین افرادی که از لحاظ جسمانی فعال هستند، در مقایسه با افراد کم تحرک کمتر است(۱۷). به عنوان یک رویکرد پیشگیرانه، دو مایل پیاده روی در روز، میزان مرگ و میر را در مردان بازنشسته غیر سیگاری کاهش داد(۱۳). همچنین دو ساعت و نیم پیاده روی سریع در هفته، خطر مرگ و میر در زنان را بعد از یائسگی کاهش داد. فعالیت بدنی منجر به تنوعی از تغییرات در عملکرد قلبی – عروقی می‌شود که از جمله آنها می‌توان به کاهش ضربان قلب، کاهش فشار خون، افزایش حداکثر برداشت اکسیژن توسط عضله قلب(۱۸) و افزایش تعداد و چگالی عروقی در سطح عضله قلبی و عضله اسکلتی اشاره کرد (۳۹). آنژیوژنز[3] به معنی رگ زایی است که فاکتورهای مختلف و سایتوکاین‌ها و برخی پروتئین‌ها از جمله (VEGF) به صورت مستقیم یا غیر مستقیم در آن تاثیر می‌گذارند(۳۶). آنژیوژنز به دو صورت جوانه زدن و دو نیمه شدن(۶) رگ تکامل یافته صورت می‌گیرد. جوانه زدن به شاخه دار شدن و بیرون زدگی مویرگ جدید از مویرگ قبلی اشاره دارد. در حالی که دو نیمه شدن رگ تکامل یافته، به شکاف مویرگ از داخل و تبدیل یک مویرگ به دو مویرگ اشاره دارد. تکثیر، تمایز و مهاجرت سلول‌های اِندوتلیال مویرگی (در هر دو روش) لازمه تشکیل عروق هستند. (۶)

مهم‌ترین فاکتور درگیر در فرآیند آنژیوژنز، (VEGF)[4] است(۴۸،۴۷،۸،۲). این فاکتور یک گلیکوپروتئین ۳۵ تا ۴۵ کیلو دالتونی با ایزوفرمهای مختلف است (۷) که در پاسخ به محرک‌هایی مانند هایپوکسی[5] و شیر استرس[6] (۳۷،۳۲،۲۰،۸) (نیروی همودینامیکی ناشی از اصطکاک بین جریان خون با دیواره عروقی) از سلول‌های اِندوتلیال(۴۷،۳۵) ترشح می‌شود و از طریق اتصال به گیرنده (VEGF R-2)[7] واقع در سلول‌های اِندوتلیال، پیام دهی خود را انجام می‌دهد (۷). عمدتاً در عضلات اسکلتی مخصوصاً هنگام فعالیت عضله مشاهده می‌شود(۲).

عوامل دیگری نیز در این فرایند درگیر هستند. هنگام فعالیت ورزشی جریان خون به عضلات افزایش می‌یابد که این به دنبال افزایش در قطر عروق رخ می‌دهد. VEGF باعث تغییراتی در ماتریکس خارج سلولی می‌شود و موجب تکثیر سلول‌های اِندوتلیال می‌شود(۶). در واقع VEGF از طریق تنظیم افزایشی مؤلفه‌های آنتی آپوپتوتیک، سنتز DNA، تخریب غشای پایه و فسفریله کردن اجزای چسبنده اِندوتلیالی بین سلولی و اتصالات محکم ، به ترتیب زمینه بقا، تکثیر، مهاجرت و نفوذپذیری سلول اِندوتلیال عروقی را فراهم می‌سازد و در نهایت موجب تشکیل عروق جدید می‌شود. پیدایش و تکوین عروق جدید، قابلیتی برای تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیک از طریق افزایش جریان خون محیطی و فراهمی اکسیژن

1 . Erythropoietin
2 . Hematocrit
3 . .Angiogenesis

4 . vascular endothelial growth factor
5 . Hypoxia
6 . Shear Stress
7 . VEGF Receptor

است(۳۲). در حین اجرای فعالیت بدنی، جریان خون عضلات اسکلتی ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می‌یابد(۱۷). حمل این مقدار خون به عضلات اسکلتی، مستلزم رخداد دو فرایند آنژیوژنز و آرتریوژنز[1] است(۳۲). آنژیوژنز به معنای افزایش چگالی مویرگی عضله اسکلتی و قلبی است، در حالی که آرتریوژنز به معنی بزرگ شدگی آرتریول ها هم از لحاظ قطر و هم از لحاظ ضخامت جداره است(۳۸). محرک‌های مختلفی در حین فعالیت‌های ورزشی، آنژیوژنز و آرتریوژنز را موجب می‌شوند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، کشش و انقباض عضلانی اشاره کرد(۳). عقیده بر آن است که آنژیوژنز به وسیله فاکتورهای مختلفی میانجیگری می‌شود و فعالیت‌های آنژیوگرافی از طریق فاکتورهای تحریک کننده و مهار کننده تنظیم می‌شوند(۱۲) با توجه به اینکه افزایش چگالی مویرگی در عضلات اسکلتی و همین طور بافت عضله قلب، از مقدمات مهم توسعه توان هوازی و همین طور پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها به شمار می‌رود، لذا شناخت صحیح فعالیت‌های ورزشی که به بهترین شکل ممکن، باعث بروز پدیده آنژیوژنز می‌شوند، از اهمیت بسزایی برخوردار است. آنژیوژنز به وسیله‌ی عامل‌های مختلفی از جمله، فاکتور رشد اِندوتلیال عروقی (VEGF) صورت می‌گیرد. افزایش چگالی مویرگی از طریق افزایش سطح انتشار، افزایش زمان تبادل بین خون و بافت و کاهش مسافت انتشار اکسیژن، موجب افزایش اختلاف اکسیژن خون سرخ رگی–سیاهرگی، متعاقباً افزایشVO2max و به تعویق افتادن خستگی و تداوم اجرای ورزشی با شدت بالاتر را میسر می‌سازد(۲۸). لذا شناخت روش‌های تمرینی مناسب و محیط‌های فعالیتی بهتر جهت تحریک هرچه بیشتر فرایندهای آنژیوگرافی، برای ورزشکاران از اهمیت بالایی برخوردار است. نتایج این تحقیق می‌تواند ابعاد درمانی جدیدی را برای بیماران ورم نخاعی و مغزی، بیماری‌های عروق کرونری و همچنین بیماری‌هایی که بر اثر انسداد رگ‌ها در نتیجه لخته های خون به وجود می‌آید فراهم آورد. به طور خلاصه اکثر تحقیقاتی که در این زمینه انجام شده بیشتر بر روی ورزشکاران و یا افراد دارای بیماری‌های ارتفاع و در شرایط هایپوکسی طولانی مدت انجام شده است. ما در این تحقیق به بررسی فعالیت ورزشی استقامتی با حجم بالا در شرایط هایپوکسی و نورموکسی و تاثیر آن بر روی پاسخ فاکتورهای درگیر در آنژیوژنز در افراد غیرفعال پرداخته‌ایم.

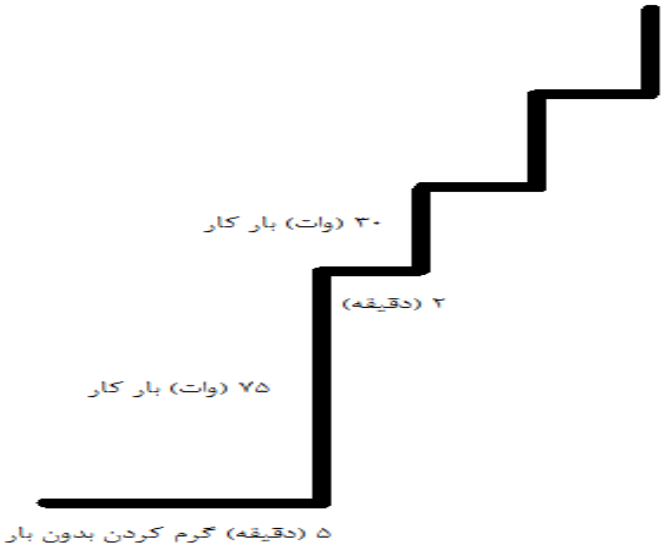
روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی و با هدف تاثیر فعالیت استقامتی طولانی مدت با حجم بالا در شرایط هایپوکسی نورموبارک و نورموکسی بر پاسخ VEGF، مردان غیر فعال انجام گرفت. جامعه آماری این پژوهش، کلیه دانشجویان دانشگاه تهران بود. گزینش آزمودنی‌ها به صورت هدف مند و در دسترس بوده است از بین آن‌ها ۸ نفر از دانشجویان غیر فعال سالم(در طی یک سال گذشته در هیچ برنامه ورزشی منظمی شرکت نکرده بودند)، برای شرکت در یک فعالیت بدنی در شرایط خاص دعوت به عمل آمد. ابتدا به دانشجویان اطلاعاتی درباره چگونگی انجام پژوهش و نحوه‌ی انجام مراحل آن داده شد. سپس یک پرسشنامه درباره‌ی سطح سلامتی و میزان فعالیت بین آن‌ها توزیع شد، بعد از معلوم شدن صحت سلامت آن‌ها، رضایت نامه‌ی شرکت در آزمون از آن‌ها گرفته شد. حداکثر بازده کاری[2] به وسیله ی دوچرخه ی کارسنج مونارک[3] (ساخت سوئد) و برای اعمال شرایط هایپوکسی هایپوکسی از چادر مخصوص هایپوکسی ساخت کشور

1. Arteriogenesis

2 . Maximum Workload
3 . Monark

استرالیا استفاده شد. اکسیژن درون آن برابر ۱۵/۳ تا ۱۵/۵ درصد تنظیم شد که معادل ۲۵۰۰ متر ارتفاع شبیه سازی شده بود. دو سی سی خون در زمانهای مختلف (قبل ، بلافاصله و دو ساعت بعد از اجرای فعالیت استقامتی با حجم بالا) از ورید بازویی آزمودنیها گرفته شد. قبل از شروع پژوهش برای بدست آوردن حداکثر بازده کاری(Wmax) هر آزمودنی در دو شرایط هایپوکسی و نورموکسی، از دوچرخه کارسنج مونارک ساخت سوئد استفاده شد. برای بدست‌آوردن حداکثر بازده کاری(W_{max}) ، از آزمودنی‌ها خواسته شد تا به مدت ۵ دقیقه(به منظور گرم‌کردن) روی دوچرخه‌ی کارسنج رکاب بزنند، سپس ۷۵ وات بار کار اضافه شد و در ادامه به ازای هر۲ دقیقه ۳۰ وات، بار کار اضافه شد. این روند ادامه داشت تا هنگامی که آزمودنی نتوانست تعداد پدال را در ۷۰ تکرار بر دقیقه حفظ کند. بیشترین بارکاری را که توانستند برای ۲ دقیقه در طی آزمون حفظ کنند به عنوان W_{max} نامیده شد که از آن به منظور محاسبه بارکار نسبی برای اجرای پروتکل تمرینی استفاده شد(شکل۱)(۲۴).حداکثر بازده کاری هر فرد در هر دو شرایط(هایپوکسی نورموباریک و نورموکسی به صورت جداگانه تعیین شد.



شکل ۱- پروتکل تعیین حداکثر بارکاری هر فرد

بعد از یک هفته استراحت برای از بین بردن تاثیر آزمون تعیین Wmax، پروتکل تمرینی در شرایط هایپوکسی(اکسیژن درون آن برابر ۱۵/۳ تا ۱۵/۵ درصد برابر با ۲۵۰۰ متر ارتفاع) و نورموکسی(شرایط طبیعی)، شامل ۶۰ دقیقه فعالیت تداومی با شدت ۵۰ درصد Wmax بود انجام شد (۲۴).

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه با اندازه گیری‌های مکرر استفاده شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام گرفت و سطح معناداری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج و یافته های پژوهش

میانگین و انحراف معیار مشخصات آزمودنی‌های پژوهش (سن، قد، وزن، شاخص توده بدن، درصد چربی) در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات آزمودنی‌ها

ویژگی	مقادیر اندازه‌گیری شده
سن (yr)	۲۵/۵±۰/۵۰
وزن (kg)	۶۲/۶۵±۴/۵
قد (cm)	۱۷۴/۳۳±۵/۴
شاخص توده‌ی بدن (kg/m^2)	۲۰/۵۲±۰/۹۵
درصد چربی	۱۵/۵±۳/۹

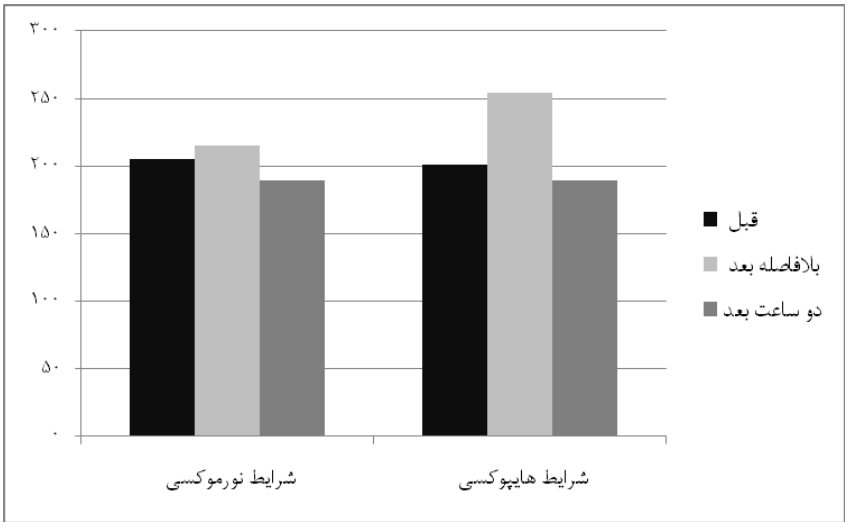
جدول ۲. نتایج آمار تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر، برای متغیر (VEGF) در شرایط مختلف محیطی

	گروه	وضعیت پایه	بلافاصله بعد از فعالیت شدید	۲ ساعت بعد از فعالیت شدید	مقایسه درون جلسه‌ای
VEGF (pg/ml)	جلسه هایپوکسی	۲۰۲/۳۳±۲۵/۸	*۲۵۲/۷۸±۱۸/۹	#۱۹۲/۶۶±۲۹/۰۹	F=۸/۶۳ *P=۰/۰۳۵ df=۲
	جلسه نورموکسی	۲۰۸/۸۳±۱۰/۶۶	۲۱۸/۳۳±۲۳/۱۶	۲۰۱/۱۶±۴۴/۶۲	F=۲/۵۹ P=۰/۱۹۰ df=۲
مقایسه بین شرایط	اثر زمان	* P=۰/۰۰۳	df= ۲	F=۱۲/۴۳	
	تعامل زمان و شرایط	* P=۰/۰۳۶	df= ۲	F=۴/۹۱	

⋆ اختلاف معنادار با حالت پایه

اختلاف معنادار ، ۲ساعت بعد با بلافاصله بعد

با توجه به نتایج جدول، ارزش P محاسبه شده، بیشتر از ۰/۰۵ بوده (P > ۰/۰۵)، و این بدان معنی است که تغییرات در اختلاف مقادیر سرمی VEGF در شرایط هایپوکسی نسبت به شرایط نورموکسی، افزایش معناداری داشت(P=۰/۰۳۶) آنالیز آماری داده ها (با توجه به جدول ۲) نشان داد که بین سطوح سرمی VEGF در مراحل قبل، بلافاصله و دو ساعت بعد از اجرای فعالیت در شرایط هایپوکسی، اختلاف معناداری وجود دارد (P=۰/۰۳۵). همچنین آنالیز آماری داده ها نشان داد که بین سطوح سرمی VEGF در مراحل قبل، بلافاصله و دو ساعت بعد از اجرای فعالیت در شرایط نورموکسی، اختلاف معناداری وجود ندارد (P=۰/۱۹۰).



شکل ۲ : میزان تغییرات VEGF در دو شرایط محیطی برحسب پیکوگرم بر میلی لیتر

بحث و نتیجه گیری

قبل از پرداختن به موضوع بحث و بررسی، این نکته را باید خاطر نشان کرد در زمینه تاثیر فعالیت ورزشی استقامتی با حجم بالا در شرایط محیطی مختلف (هایپوکسی نورموباریک و نورموکسی) بر فاکتورهای درگیر در آنژیوژنز (VEGF) پژوهش های کمی صورت گرفته است، به گونه ای که تاکنون درداخل کشور پژوهشی دراین زمینه صورت نگرفته است لذا از این نظر این پژوهش می‌تواند به عنوان یک پژوهش جدید تلقی شود.

یافته های برآمده از پژوهش حاضر، نشان از افزایش VEGF سرمی بلافاصله(۲۴/۷۵٪) بعد از فعالیت در شرایط هایپوکسی داشت و دو ساعت بعد از اجرای (۴/۹٪) کاهش داشت. که با یافته های لیک و همکاران[1](۲۰۰۹) و ثورل و همکاران[2](۲۰۰۹) و رنجبر و همکاران(۱۳۹۰) مخالف(۴۱،۱۹،۱)، و با یافته های شن و همکاران[3] (۲۰۰۹) ، گاون و همکاران(۲۰۰۴)، نمت و همکاران(۲۰۰۲) و ویو و همکاران[4](۲۰۰۹) موافق است(۴۷،۳۵،۲۶،۹). دلیل اختلاف یافته های این تحقیق با نتایج تحقیق ثورل و همکاران، می تواند تفاوت در زمان خونگیری باشد، زیرا در تحقیق آنان خونگیری یک ساعت بعد از اجرای فعالیت انجام شده بود. گاون و همکاران در تحقیق خود پاسخ فاکتورهای رشدی آنژیوژنز (VEGF و گیرنده های آن KDR و FLT-1) به یک جلسه فعالیت را مورد ارزیابی قرار دادند. پروتکل تمرینی شامل یک ساعت رکاب زدن بر روی دوچرخه با شدت ٪۵۰VO_2max بود. نتایج نشان داد که یک جلسه فعالیت باعث افزایش ژن VEGF در ۲ و ۴ ساعت بعد از ورزش شد(۹). نمت و همکاران در پژوهش خود فرض کردند، فعالیت مختصر یک گروه عضلانی کوچک، منجر به تغییرات موضعی، بجای تغییرات سیستمیکی، در فاکتور های درگیر در آنژیوژنز می‌شود. آزمودنی‌های جوان، فلکشن یک طرفه مچ در دست غیر برتر را انجام دادند. بر اساس نتایج تحقیق، VEGF در هر دو بازو به طور معناداری افزایش پیدا کرد(۲۶)

یافته دیگر مطالعه حاضر، افزایش میانگین VEGF سرمی بلافاصله بعد از فعالیت در شرایط نورموکسی(۴/۸٪) و کاهش سطح VEGF سرمی، دو ساعت بعد از فعالیت در این شرایط(۳/۳٪) بود. که با

1 . Leick et al
2 . Thorell et al
3 . Shen et al
4 .Wu et al

نتیجه مطالعه سوهر و همکاران[1](۲۰۰۷) و ون کرانسبرگ و همکاران (۲۰۰۸) مخالف(۴۲،۳۷) و با نتایج تحقیقات داویس و همکاران (۲۰۰۲) و کاهش بعد ازفعالیت آن با نتایج گیو و همکاران(۲۰۰۴) موافق است(۵،۱۰). ون کرانسبرگ و همکاران(۲۰۰۸) نشان دادند که میزان VEGF بلافاصله و دو ساعت بعد از اجرای فعالیت تغییر نمی کند. علت اختلاف نتایج این تحقیق با مطالعه ون کرانسبرگ می تواند مربوط به مدت و شدت پروتکل های ورزشی مورد استفاده باشد(۴۲). در دو مطالعه یاد شده از پروتکل های وامانده ساز فزاینده و کوتاه زمان(کمتر از ۲۰ دقیقه) استفاده شده بود، در حالی که شدت فعالیت مورد استفاده در تحقیق حاضر از نوع هوازی و طولانی مدت به شمار می رود. سوهر و همکاران نشان دادند که VEGF متعاقب ۹۰ دقیقه فعالیت دوچرخه سواری، وقتی با لرزش همراه بود افزایش پیدا کرد. از این رو می توان نتیجه گرفت که فعالیت ورزشی تنها عامل افزایش VEGF در تحقیق آنان نبوده است. ثابت شده است که اجرای فعالیت ورزشی در حالت توام با لرزش نسبت به اجرای بدون لرزش موجب جریان خون بیشتر در عضله اسکلتی و در پی آن اعمال استرس مکانیکی بیشتر به جداره عروق می شود(۳۷). گیو[2]و همکاران (۲۰۰۴) ادعا کردند که فعالیت ورزشی می‌تواند سطوح VEGF گردش خون را کاهش دهد. بدین منظور از ۷ آزمودنی سالم (میانگین سنی ۱۳±۳۳ و میانگین وزن بدن ۱۳±۷۸) استفاده کردند. پروتکل استفاده شده برای این تحقیق، بر روی نوارگردان (کل زمان تمرین ۶/۹۶±۱۸/۸۶ دقیقه و زمان خاتمه تمرین بر اساس رسیدن به ۸۰ تا ۹۳ درصد حداکثر ضربان قلب پیش بینی شده) انجام گرفت. سطوح سرمی VEGF در فواصل ۳۰ دقیقه (۶/۴±۲۸/۳)، ۲ ساعت (۲/۴±۱۷/۶)، و ۶ ساعت (۱۲/۵±۲۶/۵) بعد از فعالیت ورزشی کاهش یافت.(۱۰). رنجبر و همکاران (۱۳۹۰) پژوهشی را با عنوان بررسی سطوح سرمی فاکتورهای آنژیوژنیکی در پاسخ به یک جلسه فعالیت زیر بیشینه طولانی مدت در مردان غیرفعال انجام دادند. پس از تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی، آزمودنی‌ها ۱ ساعت بر روی دوچرخه با شدت ۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی رکاب زدند. ۲ میلی لیتر خون قبل، بلافاصله و ۲ ساعت بعد از ورزش از سیاهرگ آنتی کوبیتال آزمودنی‌ها گرفته شد. نتایج نشان داد که VEGF و MMP-2 سرم بلافاصله بعد از فعالیت کاهش یافت. میزان VEGF در دو ساعت بعد از فعالیت نسبت به سطح پایه در سطح پایین‌تری باقی ماند. میزان MMP-2 سرم در دو ساعت بعد از فعالیت دوباره به سطح پایه برگشت. همچنین میزان MMP-9 سرم در پاسخ به ورزش تغییری نکرد. نتیجه گیری که این محققین کردند این بود که احتمالاً شدت تمرین یکی از مهم‌ترین عوامل مهم تحریک آنژیوژنز است(۱).احتمالا دلیل تناقض نتایج رنجبر و همکاران با پژوهش ما نوع شرایط محیطی و نوع پروتکل مورد استفاده باشد

در برخی تحقیقات نیز بحث شدت فعالیت مطرح می‌شود که فعالیت‌هایی که با شدت کم و حجم طولانی انجام شده‌اند موجب کاهش VEGF یا عدم تغییر آن شده‌اند. ولی در پژوهش ما شرایط کمبود اکسیژن نیز اضافه شده است و با شرایط معمولی نیز مقایسه شده است که شاید عامل افزایش بیشتر و اختلاف معنادار تغییرات VEGF بین دو شرایط بدلیل همین شرایط محیطی باشد. تمرینات با شدت بالا به دلیل ماهیت خود، موجب افزایش در سطوح VEGF می‌شوند. از دلایلی که می‌توان نام برد شاید زمان کم و نوع سوبسترای مصرفی باشد. محرک‌هایی که مشخص شده ممکن است در آزادسازی و یا تولید VEGF درگیر باشند شامل ۱:

1. Suhr et al
2 . Gu

محرک‌های مکانیکی (فشارهای همودینامیکی، فشار به دیواره عروق) ۲: محرک‌های متابولیکی (کمبود فشار سهمی اکسیژن، هیپوکسی) و ۳: فشارهای خارجی به عضله. این موارد تماماً در طی فعالیت بدنی وجود دارند. این عوامل می‌توانند ما را به فکر وادارد که هر دوی محرک مکانیکی و متابولیسمی در طی فعالیت با شدت بالا در مقایسه با تمرین با حجم بالا قوی‌تر است و منجر به نیروی برشی بالاتری در عروق و کاهش فشار سهمی اکسیژن در عضله در حال فعالیت می‌شود و بنابراین موجب تولید بسیار بیشتر در سطوح VEGF می‌شود (۴۵).

با وجود ملاحظه پیچیدگی تنظیم کننده های VEGF، اختلاف در پروتکل‌های تمرینی یا سطح آمادگی جسمانی قبلی ممکن است بر روی پاسخ ژن تنظیم کننده به شکل متفاوت VEGF اثر بگذارد(۳۳).

با وجود اختلاف معنادار بین دو شرایط محیطی مختلف (هایپوکسی و نورموکسی) مورد استفاده در این تحقیق، افزایش ۲۴ درصدی و افزایش ۴/۸ درصدی سطح سرمی VEGF، به ترتیب بلافاصله بعد از اجرای یک وهله فعالیت تداومی یا حجم بالا (HVE) در شرایط هایپوکسی و یک وهله فعالیت تداومی یا حجم بالا (HVE) در شرایط نورموکسی، درخور توجه می‌باشد. به منظور تحلیل اختلاف میانگین مشاهده شده در سطوح VEGF سرمی در این دو شرایط محیطی، بعد از اشاره به چند تحقیق مرتبط می‌توان به موارد احتمالی زیر اشاره کرد.

از جمله مهم‌ترین متغیری که باید در رابطه با آن صحبت کرد نوع شرایط محیطی می‌باشد. نشان داده شده است که در شرایط ایسکمی و هایپوکسی، افزایش چشمگیری در عامل قابل القای هایپوکسی (HIF-1) رخ می‌دهد(۲۴). فعال سازی HIF-1 سازگاری‌های عملکردی (بیان ژنی اریتروپوئیتین، بیان ژنی VEGF، بیان ژنی آنزیم‌های گلیکولیتیک و غیره...) را آغاز می‌کند که این عوامل می‌توانند اثرات منفی قرار گیری در معرض هایپوکسی را کاهش دهند(۲۴)

عامل رشدی قابل القای هایپوکسی، بعد از ترشح می‌تواند عناصر واکنش دهنده به هایپوکسی (HRE)[1] که روی ژن‌های هدف در هسته قرار گرفته‌اند را شناسایی کند(۲۱). واکنش بین HIF-1 و HRE سرانجام رونویسی ژن‌های هدف (ژن مربوط به VEGF) را آغاز می‌کند. به طور کلی هایپوکسی از طریق تنظیم افزایشی VEGF، یکی از مهم‌ترین و قوی‌ترین محرک‌هایی است که آنژیوژنز عضله اسکلتی را موجب می‌شود(۳۹).

ویو و همکاران نشان دادند که هنگام اجرای فعالیت ورزشی، بیان پروتئین VEGF در بافت دچار اینفارکتوس و عضله اسکلتی در حالتی که جریان خون مسدود شده است، افزایش می‌یابد(۴۴).

در تحقیق ما چون نمونه هر دو شرایط هایپوکسی و نورموکسی یکسان بوده‌اند(همگنی در هر دو شرایط صورت گرفته است) می‌توان تاثیر هایپوکسی را بر میزان بازده کاری هر گروه نیز مشخص کرد و با توجه با داده‌های موجود مربوط به هر دو گروه برای میانگین حداکثر بازده خروجی که در شرایط هایپوکسی ۱۵۹±۱۳/۴۱ و در شرایط نورموکسی ۱۷۱±۸/۲۱ وات بوده است و با در نظر گرفتن محدودیت‌های تحقیق می توان گفت که شرایط محیطی در حداکثر بازده خروجی نیز تاثیر داشته است و از طرفی این خود می‌تواند دلیلی بر افزایش بیشتر متغیر وابسته تحقیق در شرایط هایپوکسی به نسبت شرایط نورموکسی باشد. زیرا همان‌طور که در بالا گفته شد اعتقاد بر این است که در شرایط هایپوکسی که غلظت HIF-1 افزایش می‌یابد و

1 . Hypoxia responsive element (HRE)

نقش کلیدی در افزایش بیان VEGF دارد عاملی اصلی در بدست آوردن نتایج تحقیق حاضر باشد.

نشان داده شده که تأمین اکسیژن غیر کافی در بافت عضله اسکلتی در طی فعالیت ورزشی، منجر به بالا رفتن سطوح VEGF mRNA و یا پروتئین در بافت‌های عضلانی تحت فشار می‌شود(۳۹،۱۶). این افزایش سطوح VEGF mRNA و یا پروتئین می‌تواند منجر به تشکیل عروق جدید به همراه غلظت شیمیایی VEGF شود. در مقایسه با سلول‌های اِندوتلیال، سلول‌های پارانشیمال[1] در عروق هستند که منبع غنی از VEGF هستند و بنابراین نقش اساسی در تشکیل و غلظت VEGF دارند(۳۲).

شرایط هایپوکسی نیز موجب تولید IL-6 در سلول‌های اِندوتلیال می‌شود. قرار گرفتن در معرض ارتفاع، IL-6 سرم را بالا می‌برد. بنابراین IL-6 مانند دیگر سایتوکاین‌ها یک پروتئین حاضر و به وسیله تعدادی از استرس‌های فیزیولوژی و پاتولوژی برانگیخته می‌شود(۲۷). اهمیت هایپوکسی به عنوان یک عامل مشهود برای بیان IL-6 در عضلات فعال در حین تمرین ورزشی مستند و مستحکم است. تحقیقات در سال ۲۰۰۷ نشان داد که تمرینات شدید در شرایط هایپوکسی بر روی موش باعث افزایش IL-6 نسبت به گروه کنترل شد؛ و نیز تمرینات ۶۰ دقیقه ای بر روی دوچرخه ارگومتر در شرایط هایپوکسی حاد و مزمن باعث بیان بیشتر IL-6 نسبت به سطح دریا شد(۲۱). افزایش IL-6 سرم به مدت و شدت فعالیت، توده‌ی عضلانی درگیر و ظرفیت استقامتی فرد بستگی دارد. در شرایط فعالیت بدنی نشان داده شده است که IL-6 افزایش یافته است. پاسخ IL-6 به شدت ورزش حساس تراست که به صورت غیرمستقیم نشان دهنده‌ی توده‌ی عضلانی درگیر در فعالیت انقباضی است(۲۸). سطوح IL-6در طی شرایط نرمال پایین است اما در صدمات مغزی، هایپوکسی، عفونت، بیماری‌های مشخص و فعالیت‌های بدنی بالا می‌رود(۴۳). در عضله‌ی اسکلتی در حال استراحت محتوای IL-6 بسیار پایین است. در پاسخ به ورزش، IL-6 سرم بلافاصله بعد از فعالیت شروع به افزایش می‌کند(۲۹).

هنگام انجام تمرینات شدید استقامتی (هوازی)، تولید گونه های اکسیژن فعال شده افزایش می‌یابد و تصور بر این است که منبع اصلی این گونه مواد، میتوکندری سلول‌های عضلات فعال شده می‌باشد(۲۲). به عبارتی فعالیت‌های بدنی طولانی و طاقت فرسا، منجر به فعال سازی چندین سیستم تولید کننده رادیکال آزاد (گونه های اکسیژن فعال شده) در سلول‌های بدن می‌شوند که به دو منبع اصلی (نشت الکترون از میتوکندری در طی تنفس هوازی، آنزیم‌های اگزانتین اکسیداز و NADPH اکسیداز) و فرعی (سلول‌های فاگوسیتی، پارگی پروتئین‌های حاوی آهن و انباشتگی کلسیم) تقسیم می‌شوند(۳۱). تحقیقات زیادی گزارش کرده‌اند که فعالیت‌های کوتاه مدت هوازی به ویژه زمانی که با شدت بالا اجرا شوند، به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد منجر شده و با سرکوب سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، موجب ایجاد استرس اکسایش می‌شود(۳۰). در مورد نقش رادیکال‌های آزاد در فرایند افزایش مویرگ، زاهو و همکاران[2](۲۰۰۹) با تحقیق در سطح کشت سلولی گزارش کردند که متعاقب انفارکتوس میوکارد، افزایش مویرگ به طور عمده در هفته اول فعال می‌شود که از لحاظ زمانی و مکانی با افزایش ROS[3] هماهنگ است(۵۰).

با توجه به مطالب ارائه شده، احتمالاً از جمله دلایل افزایش VEGF سرمی متعاقب فعالیت استقامتی، تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد ناشی از اجرای این فعالیت باشد.

1 . Parenchymal Cells

2 . Zaho et al

3 . Reactive oxygen spices

از طرف دیگر شرایط هایپوکسی نسبت به شرایط نورموکسی عاملی بالقوه جهت افزایش بیشتر رادیکال‌های آزاد می‌باشد و در کل می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت خود به تنهایی عامل افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود که این افزایش موجب بیشتر شدن تولید VEGF بیشتر در تحقیق حاضر شده است و در مقایسه بین دو شرایط محیطی چون هایپوکسی نیز، در تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد موثر تر است عامل افزایش بیشتر VEGF نسبت به شرایط نورموکسی می‌باشد.

در تحقیق ما شرایط محیطی متفاوت می تواند عامل اختلاف نتایج بدست آمده باشد و از همه مهمتر شرایط هایپوکسی موجب افزایش معنادار به نسبت شرایط نورموکسی شده است. همانطور که گفته شد مهمترین فاکتور درگیر در آنژیوزنز کمبود اکسیژن و تولید محرک وابسته به هایپوکسی می باشد. افزایش بیان VEGF ناشی از اجرای فعالیت ورزشی، ممکن است از طریق چند سازوکار صورت گیرد. در شرایط هایپوکسی و ایسکمی ناشی از انجام فعالیت ورزشی، فاکتور قابل القای هایپوکسی(HIF)[1] افزایش می یابد(۲۴). این فاکتور با اثر گذاری بر روی بخشی از ژن VEGF ، باعث افزایش بیان آن می شود. همچنین با افزایش شدت فعالیت، تجمع لاکتات و آدنوزین افزایش می یابد. آدنوزین از طریق فعالسازی گیرنده A_2، موجب افزایش غلظت cAMP[2] و متعاقب آن افزایش mRNA VEGF می شود . همچنین گزارش شده است که آدنوزین در آزاد شدن VEGF سلولی نقش دارد. (۱۵)

از دیگر دلایل احتمالی افزایش VEGF سرمی ناشی از اجرای فعالیت تداومی، می توان به افزایش جریان خون عضلات اسکلتی و القای نیروهای برشی (shear strees) بیشتر به جداره عروق عضلات اسکلتی اشاره کرد. در همین راستا هلگی و همکاران(۲۰۰۳) گزارش کردند که با افزایش مدت و شدت فعالیت ورزشی، جریان خون عضلات اسکلتی افزایش بیشتری می یابد. جریان خون باعث وارد کردن نیروی هیدرودینامیکی- اصطکاکی به جداره عروق می شود و در دراز مدت موجب تغییرات ساختاری، به ویژه افزایش قطر و هایپرتروفی عروق می شود، اما افزایش حاد آن موجب افزایش بیان اتساع کننده های عروق به ویژه نیتریک اکساید(NO) ، پروستاسیکلین ها و پروستانوئیدها می شود(۱۴).

اما در رابطه با کاهش مقدار کمی که در دو ساعت بعد از فعالیت در پژوهش حاضر روی داده است می توان به دلایل زیر اشاره کرد. از عوامل تاثیر گذار بر کاهش VEGF سرمی، می‌توان به افزایش گیرنده های VEGF (sVEGF R-1 و sVEGF R-2) به دنبال فعالیت ورزشی اشاره کرد(۴۶). همچنین سوماتوستاتین[3] یکی دیگر از دلایل سرکوب VEGF سرمی در پاسخ به فعالیت ورزشی محسوب می‌شود. سوماتوستاتین هورمونی است که مانع رشد سلول و فرآیند آنژیوژنز می‌شود. سوماتوستاتین دارای دو فرم فعال ۱۴ و ۲۸ می‌باشد. همچنین این پروتئین ۵ گیرنده دارد که در بیشتر بافت‌های بدن موجود هستند. یکی از این گیرنده‌ها sst2-R[4] است که روی سلول‌های اِندوتلیال نیز قرار دارد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اتصال سوماتوستاتین به گیرنده sst2-R، مانع تولید VEGF در سلول‌های اِندوتلیال می‌شود(۲۳). از طرفی نشان داده شده است که در پاسخ به فعالیت حاد، میزان ترشح سوماتوستاتین افزایش می‌یابد(۳۱).

به طور کلی، علل کاهش VEGF در پاسخ به فعالیت حاد، به خوبی مشخص نیست. رولمن و همکاران (۲۰۰۷)

1 . Hipoxia inducible factor
2 . Cyclic AMP
3 . Somatostatin
4 . Somatostatin2-Receptor

گزارش کردند که کاهش VEGF سرم به دنبال فعالیت حاد به این معنی نیست که فعالیت ورزشی میزان تولید VEGF را کاهش می‌دهد، اما امکان دارد که این کاهش موقتی VEGF در پاسخ به فعالیت ورزشی، ناشی از اتصال VEGF به گیرنده‌های موجود بر روی سلول‌های اِندوتلیال باشد، که این اتصال محرکی برای رخ دادن فرایند آنژیوژنز در عضله قلبی و عضله اسکلتی است. همچنین کاهش VEGF می‌تواند ناشی از اتصال به سایر پروتئین‌ها از جمله سولفات هپارین[1] و EPC[2] باشد(۳۴).

نتیجه گیری کلی

این پژوهش نیز همسو با سایر پژوهش‌ها در این زمینه نشان داد، اجرای فعالیت با حجم بالا یک شیوه مؤثر برای افزایش فاکتورهای درگیر در آنژیوژنز افراد جوان غیرفعال است. در تحقیق حاضر اختلاف معناداری بین دو شرایط پیدا شد و می توان نتیجه گیری کرد که یک جلسه فعالیت باحجم بالا در ارتفاع ۲۵۰۰ به نسبت سطح دریا منجر به افزایش آنژیوژنز می شود ولی ممکن است با توجه به افزایش اختلاف میانگین میزان VEGF درگیر در آنژیوژنز بین دو شرایط، ارتفاعات بالاتر احتمالا منجر به فرآیند آنژیوژنز بیشتر شود. مداخلات تمرینی و مطالعات بسیاری برای مشخص شدن مویرگ زایی در بدن نیاز است. اگرچه سطوح بالای VEGF بعد از تمرینات با حجم بالا ممکن است منجر به افزایش آنژیوژنز و مویرگ زایی شود. به هر حال مطالعات آینده برای مشخص شدن محرک‌ها و مکانیسم‌هایی که برای رشد عروق جدید در تمرینات با حجم بالا که گزارش شده نیازمند است.

1 . Heparin sulfate
2 . Endothelial progenitor cell

منابع و مآخذ

۱.رنجبر کمال، نورشاهی مریم، هدایتی مهدی، طاهری چادرنشین حسین. (۱۳۹۰). **"بررسی سطوح سرمی فاکتورهای آنژیوژنیکی در پاسخ به یک جلسه فعالیت زیر بیشینه طولانی مدت در مردان غیرفعال"**. نشریه فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۵(۱)، صفحه‌ی ۱۲۴-۱۳۲.

2.Amaral, S., L. Sanchez, A. Chang, L. Rossoni & L. Michelini (2008). **"Time course of training-induced microcirculatory changes and of vegf expression in skeletal muscles of spontaneously hypertensive female rats"**. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research,* 41, pp:424-431.

3.Brown, M. & O. Hudlicka (2003). **"Modulation of physiological angiogenesis in skeletal muscle by mechanical forces: involvement of VEGF and metalloproteinases"**. *Angiogenesis,* 6**,** pp:1-14.

4.Bunn, H. F. & R. O. Poyton (1996). **"Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia"**. *Physiological Reviews,* 76**,** pp:839-885

5.Davis, P.G., et al., (2002). **"Acute Effect of Prolonged Cycle Ergometer Exercise on Plasma Vascular Endothelial Growth Factor"**. Medicine & Science in Sports & Exercise, 2002. 34(5): p. S30.

6.Egginton, S. (2009). **"Invited review: activity-induced angiogenesis"**. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology,* 457, pp:963-977.

7.Ferrara, N., H. P. Gerber & J. LeCouter (2003). **"The biology of VEGF and its receptors**". *Nature medicine,* 9**,** pp:669-676.

8.Gavin, T., J. Drew, C. Kubik, W. Pofahl & R. Hickner (2007). **"Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression"**. *Acta Physiologica,* 191, pp:139-146.

9.Gavin, T. P., C .B. Robinson, R. C. Yeager, J. A. England, L. W. Nifong & R. C. Hickner (2004). **"Angiogenic growth factor response to acute systemic exercise in human skeletal muscle"**. *Journal of applied physiology,* 96**,** pp:19-24.

10.Gu, J. W., G. Gadonski, J. Wang, I. Makey & T .Adair (2004). **"Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers"**. *BMC physiology,* 4**,** 2.

11.Gustafsson, T., A. Knutsson, A. Puntschart, L. Kaijser, S. A. C. Nordqvist, C. Sundberg & E. Jansson (2002). **"Increased expression of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle in response to short-term one-legged exercise training"**. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology,* 444**,** pp:752-759.

12.Gustafsson, T. & W. E. Kraus (2001). **"Exercise-induced angiogenesis-related growth and transcription factors in skeletal muscle, and their modification in muscle pathology"**. *Front Biosci,* 6**,** D75-D89.

13.Hakim, A. A., H. Petrovitch, C. M. Burchfiel, G. W. Ross, B. L. Rodriguez, L. R. White, K. Yano, J. D. Curb & R. D. Abbott (1998). **"Effects of walking on mortality among nonsmoking retired men"**. *New England Journal of Medicine,* 338**,** pp:94-99.

14.Helge JW, Stallknecht B, Pedersen BK, Galbo H, Kiens B, Richter EA. (2003). **"The effect of graded exercise on IL-6 release and glucose uptake in human skeletal muscle"**. *The Journal of physiology* 546:pp:299-305

15. Höffner L, Nielsen JJ, Langberg H, Hellsten Y. (2003) . **"Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in human skeletal muscle interstitium"**. *The Journal of physiology* 550:pp:217-25

16. Jensen, L., J. Bangsbo & Y. Hellsten (2004). **"Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle"**. *The Journal of Physiology,* 557, pp:571-582.

17. Keong, C. C., H. J. Singh & R. Singh (2006). **"Effects of palm vitamin E supplementation on exercise-induced oxidative stress and endurance performance in the heat"**. *J Sports Science Med,* 5, pp:629-639.

18. Kojda, G. & R. Hambrecht (2005). **"Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy?"** *Cardiovascular research,* 67**,** pp:187-197.

19. Leick, L., et al., (2009). "**PGC-1α mediates exercise-induced skeletal muscle VEGF expression in mice".** American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 297(1): p. E92-E103.

20. Lundby, C., J. A. L. Calbet & P. Robach (2009). **"The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia"** .*Cellular and molecular life sciences,* 66**,** pp:3615-3623.

21. Lundby, C. & A. Steensberg (2004). **"Interleukin-6 response to exercise during acute and chronic hypoxia"**. *European journal of applied physiology,* 91, pp: 88-93.

22. Margaritis, I., S. Palazzetti, A. S. Rousseau, M .J. Richard & A. Favier (2003). **"Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response"**. *Journal of the American College of Nutrition,* 22**,** pp:147-156.

23. McArdle, W. D., F. I. Katch & V. L. Katch. (2009). "**Exercise physiology: Nutrition, energy, and human performance**". Lippincott Williams & Wilkins.,pp:124-231

24. Morton, J. P. & N. T. Cable (2005). **"The effects of intermittent hypoxic training on aerobic and anaerobic performance"**. *Ergonomics,* 48**,** pp:1535-1546.

25. Mounier, R., V. Pialoux, L. Schmitt, J. P. Richalet, P. Robach, J. Coudert, E. Clottes & N. Fellmann (2009). **"Effects of acute hypoxia tests on blood markers in high-level endurance athletes"**. *European journal of applied physiology,* 106**,** pp:713-720.

26. Nemet, D., S. Hong, P. J. Mills, M. G. Ziegler, M. Hill & D. M. Cooper (2002). **"Systemic vs. local cytokine and leukocyte responses to unilateral wrist flexion exercise"**. *Journal of applied physiology,* 93, pp:546-554.

27. Pedersen, B. K., A. Steensberg & P. Schjerling (2004). **"Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects"**. *The Journal of Physiology,* 536**,** pp:329-337.

28. Pedersen, B. K. & A. D. Toft (2000). **"Effects of exercise on lymphocytes and cytokines"**. *British Journal of Sports Medicine,* 34**,** pp:246-251.

29. Plomgaard, P., M. Penkowa & B. K. Pedersen (2005). **"Fiber type specific expression of TNF-alpha, IL-6 and IL-18 in human skeletal muscles"**. *Exerc Immunol Rev,* 11**,** pp:53-63.

30. Poulsen, H. E., S. Loft & K. Vistisen (1996). **"Extreme exercise and oxidative DNA modification"**. *Journal of sports sciences,* 14**,** pp:343-346.

31. Powers ,S. K. & M. J. Jackson (2008). **"Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production"**. *Physiological Reviews,* 88**,** pp:1243-1276.

32. Prior, B. M., H. Yang & R. L. Terjung (2004). **"What makes vessels grow with exercise training ?"** *Journal of applied physiology,* 97;pp:1119-1128.

33. Richardson, R., H. Wagner, S. Mudaliar, E. Saucedo, R. Henry & P. Wagner (2000). **"Exercise adaptation attenuates VEGF gene expression in human skeletal muscle"**. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology,* 279**,** H772-H778.

34. Rullman, E., H. Rundqvist, D. Wågsäter, H. Fischer, P. Eriksson, C. J. Sundberg, E. Jansson & T. Gustafsson (2007). "**A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle**". *Journal of applied physiology,* 102**,** pp:2346-2351.

35. Shen, M., J. Gao, J. Li & J. Su (2009). **"Effect of ischaemic exercise training of a normal limb on angiogenesis of a pathological ischaemic limb in rabbits"**. *Clinical Science,* 117**,** pp:201-208.

36. Stefanini, M. O., F. T. H. Wu, F. Mac Gabhann & A. S. Popel (2008). **"A compartment model of VEGF distribution in blood, healthy and diseased tissues"**. *BMC systems biology,* 2**,** 77.

37. Suhr, F., K. Brixius, M. de Marées, B. Bölck, H. Kleinöder, S. Achtzehn, W. Bloch & J. Mester (2007). "**Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans**". *Journal of applied physiology,* 103**,** pp:474-483.

38. Suto, K., Y. Yamazaki, T. Morita & H. Mizuno (2005). **"Crystal structures of novel vascular endothelial growth factors (VEGF) from snake venoms"**. *Journal of Biological Chemistry,* 280**,** pp:2126-2131.

39. Tang, K., E. C. Breen, H. P. Gerber, N. M. A. Ferrara & P. D. Wagner (2004). **"Capillary regression in vascular endothelial growth factor-deficient skeletal muscle"**. *Physiological genomics,* 18**,** pp:63-69.

40. Tang, K., F. C. Xia, P. D. Wagner & E. C. Breen (2010). **"Exercise-induced VEGF transcriptional activation in brain, lung and skeletal muscle"**. *Respiratory physiology & neurobiology,* 170**,** pp:16-22.

41. Thorell, D., et al., "**Strenuous exercise increases late outgrowth endothelial cells in healthy subjects".** European journal of applied physiology, 2009. 107(4): pp: 481-488.

42. Van Craenenbroeck, E. M. F., Vrints, C. J., Haine, S. E., Vermeulen, K., Goovaerts, I., Van Tendeloo, V. F. I., Hoymans, V. Y., and Conraads, V. M. A. (2008). **"A maximal exercise bout increases the number of circulating CD34+/KDR+ endothelial progenitor cells in healthy subjects. Relation with lipid profile."** *Journal of Applied Physiology,* 104(4), pp:1006-1013.

43. Van Wagoner, N. J. & E .N. Benveniste (1999). **"Interleukin-6 expression and regulation in astrocytes"**. *Journal of neuroimmunology,* 100**,** pp:124-139.

44. Vu, T. H. & Z. Werb (2000). **"Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology"**. *Science Signalling,* 14**,** p:2123.

45. Wiesner, R. J. (1997). **"Adaptation of mitochondrial gene expression to changing cellular energy demands"**. *Physiology,* 12**,** pp:178-184.

46. Wood, R., B. Sanderson, C. Askew, P. Walker, S. Green & I. Stewart (2006). **"Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease"**. *Clinical Science,* 111**,** pp:401-409.

47. Wu, G., J. S. Rana, J. Wykrzykowska, Z. Du, Q. Ke, P. Kang, J. Li & R. J. Laham (2009). "**Exercise-induced expression of VEGF and salvation of myocardium in the early stage of myocardial infarction"**. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology,* 296**,** H389-H395.

48. Wu, L. W., L. D. Mayo, J. D. Dunbar, K. M. Kessler, M. R. Baerwald, E. A. Jaffe, D. Wang, R. S. Warren & D. B. Donner .(2000). **"Utilization of distinct signaling pathways by receptors for vascular endothelial cell growth factor and other mitogens in the induction of endothelial cell proliferation"**. *Journal of Biological Chemistry,* 275**,** pp:5096-5103.

49. Zachary, I. & G. Gliki (2001). **"Signaling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family"**. *Cardiovascular research,* 49**,** pp:568-581.

50. Zhao, W., T. Zhao, Y. Chen, R. A. Ahokas & Y. Sun (2009). "**Reactive oxygen species promote angiogenesis in the infarcted rat heart"**. *International journal of experimental pathology,* 90**,** pp:621-629.