Vol. 9/ No.4/ 2016

JSST
Journal of Space Science & Technology

The Effects of Simulated Microgravity on Serum Levels of VEGF in Male WistarRats

V. Nikbakht[1], A. Kazemi[2*],Z. Hajebrahimi[3], N. Khaledi[4] and M. AsadiGholzar[5]

1, 2, 4 and 5.Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University

3. Aerospace Research Institute, Ministry of Science, Research and Technology Iran

[*]Postal Code:15719-14911, Tehran, IRAN

a44_kazemi@yahoo.com

Endothelial cells differently respond to microgravity condition. The evolution of these responses leads to a more clear understanding of cardiovascular diseases in both gravity and micro-gravity conditions. The aim of this study was to investigate the effects of microgravity condition on serum levels of vascular endothelial growth factor as a motivator for angiogenesis and vasculogenesis processes. A total of 20 rats were randomly divided into two groups including control group and suspension group. The results showed that the VEGF levels of suspension group were higher than control group but it was not significant (P> 0.05). It seems that the hind limb suspension model used for stimulating microgravity condition does not affect the VEGF in serum levels in male Wistar rats. This may be the result of the body's adaptive response after six weeks. Another probable reason is that VEGF does not play an effective role in cardiovascular changes in microgravity condition. Also the influences of other factor may affect the results.

Keywords: Classical microgravity, VEGF, Rat, Angiogenesis

1- M. Sc. Student
2- Assistant Professor (Corresponding Author
3- Assistant Professor
4- Assistant Professor
5- M. Sc. Student

Received: 2017.05.02 , Accepted: 2017.05.24

JSST
فصلنامهٔ علمی - پژوهشی علوم و فناوری فضایی

جلد ۹ / شمارهٔ ۴/ زمستان ۱۳۹۵
ص. ص . ۶۸- ۶۳

تأثیر شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده بر سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

وحید نیکبخت [۱]، علی کاظمی [۲*]، زهرا حاج ابراهیمی [۳]، ندا خالدی [۴] و محمد اسدی گلزار [۵]

۱، ۲، ۴ و ۵- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی

۳- پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم تحقیقات و فناوری

*تهران، کدپستی: ۱۴۹۱۱-۱۵۷۱۹

a44_kazemi@yahoo.com

قرارگیری طولانی مدت در شرایط بی‌وزنی بر سیستم‌های مختلف بدن از جمله سیستم قلبی- عروقی تأثیرگذار است. سلول‌های اندوتلیال موجود در لایه داخلی دیواره عروق نیز در این شرایط پاسخ‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند که بررسی آن به درک بهتر بیماری‌های قلبی- عروقی هم در فضانوردان و هم بر روی زمین کمک می‌کند. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر شرایط بی‌وزنی بر سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی به عنوان محرک فرآیند آنژیوژنز و واسکلوژنز است. تعداد ۲۰ موش نر نژاد ویستار به طور تصادفی در دو گروه کنترل و بی‌وزنی تقسیم شدند. برای شبیه‌سازی بی‌وزنی بر روی زمین، از مدل تعلیق پاهای عقبی به مدت شش هفته استفاده شد. پس از خون‌گیری از بطن چپ، سرم جدا و میزان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی یا VEGF با روش الایزا اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که میزان VEGF در شرایط شبیه‌سازی شده بی‌وزنی افزایش داشته اما این افزایش در مقایسه با نمونه‌های گروه کنترل معنادار ($p>0.05$) نبود. به نظر می‌رسد که بی وزنی مدل تعلیق پاهای عقبی جوندگان تأثیری بر میزان فاکتور رشد اندوتلیال عروق در سطح سرم در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار نمی‌گذارد. این مسئله می‌تواند ناشی از پاسخ سازشی بدن بعد از شش هفته یا عدم نقش فاکتور VEGF برای تغییرات قلبی- عروقی در بی‌وزنی و وجود نقش احتمالی برای سایر فاکتورها باشد. مطالعهٔ تغییرات سایر فاکتورهای عروقی یا تغییرات روزانهٔ فاکتور VEGF در شرایط بی‌وزنی، می‌تواند به درک بهتر این موضوع کمک کند.

واژه‌های کلیدی: بی‌وزنی، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، موش صحرایی، آنژیوژنز

علائم و اختصارات

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی	Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)
گیرنده فاکتور رشد اتدوتلیال عروقی ۲	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 (VEGFR-2)
سلول‌های اندوتلیال عروق بند ناف	Human Umbilical Vein Endothelial Cell (HUVEC)
اسید ریبونوکلئیک پیامبر	messenger RNA (m RNA)
تعلیق پاهای عقبی	Hindlimb Unloading (HLU)

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد
۲. استادیار (نویسنده مخاطب)
۳. استادیار
۴. استادیار
۵. دانشجوی کارشناسی ارشد

دریافت مقاله: ۹۶/۰۲/۱۲، تأیید مقاله ۹۶/۰۳/۰۳

فاکتور القاکنندهٔ هیپوکسی آلفا شمارهٔ ۱	Hypoxia-inducible Factor 1-alpha (HIF1α)
مارکر سطحی سلولی ۳۴	Cluster Differentiation 34 (CD34)
در موجود زنده	invivo
در آزمایشگاه	invitro

مقدمه

در طول تکامل، حیات در جاذبهٔ ۱جی گسترش یافته است و تمامی موجودات و ارگانیسم‌های زنده با این جاذبه ۱جی سازش پیدا کرده‌اند. امروزه، با پیشرفت علم و فناوری، انسان به محیط‌های مختلفی از قبیل ارتفاعات، اعماق دریا و فضای بیکران پا نهاده است. یکی از محیط‌های فوق‌العاده استرس‌زا برای انسان، سفر و زندگی در فضا و محیط بی‌وزنی[۶] (کم جاذبه) است، که چالشی مهم برای انسان به حساب می‌آید [۱]. فضانوردان افرادی هستند که باید با این محیط پرخطر مواجه شوند و شرایطی جدید را تجربه کنند. قرارگیری در محیط بی‌وزنی تغییرات فیزیولوژیکی متعددی را به همراه دارد و می‌تواند بر سیستم‌های مختلف بدن از جمله سیستم تنفسی، عصبی، عضلانی، اسکلتی و قلبی- عروقی تأثیر بگذارد. همچنین بی‌وزنی و تغییر در وضعیت بدن، گرادیان فشار هیدروستاتیک را تغییر می‌دهد و موجب جابه جایی مایعات بدن از اندام‌های تحتانی به اندام‌های فوقانی می‌شود. این مسئله موجب تغییرات سازشی و غیرسازشی در سیستم قلبی- عروقی، شامل اختلال در ریتم قلب، کاهش حجم خون و کاهش فعالیت طبیعی سیستم قلبی- عروقی می‌شود [۱, ۲].

آنژیوژنز یا رگ‌زایی، فرایندی فیزیولوژیکی است که رشد عروق خونی را از عروق موجود ممکن می‌سازد. رگ‌زایی یک فرایند نرمال و حیاتی در رشد و تکامل، التیام زخم و التیام بافت است. همچنین رگ‌زایی یک مرحلهٔ اصلی در تغییر وضعیت تومورها از یک وضعیت غیرفعال به یک وضعیت بدخیم است که متاستاز توموری[۷] نامیده می‌شود. تاکنون محرک‌های آنژیوژنز متعددی از قبیل هیپوکسی، استرس برشی، تجمع متابولیت‌ها و کشش عضلانی شناخته شده‌اند [۳, ۴]. همچنین پژوهش‌ها نشان داده‌اند که سلول‌های اندوتلیال و گیرنده‌های فاکتور رشد اندوتلیال عروقی[۸] از قبیل VEGFR-2 به محیط بی‌وزنی حساس بوده و پاسخ-های متفاوتی از خود نشان می‌دهند. در پژوهشی که دادگرنیا و همکاران در سال ۱۳۹۶ انجام دادند، مشخص کردند که سه روز بی‌وزنی توسط دستگاه شبیه‌ساز بی‌وزنی (کلینواستت[۹]) موجب می‌شود که بیان گیرنده VEGFR-2 در سلول‌های اندوتلیال عروق بند ناف[۱۰] به میزان شش برابر افزایش یابد [۵]. این در حالی است که موربیدلی[۱۱] و همکاران در سال ۲۰۰۵ با کشت سلول‌های اندوتلیال آئورت خوک در شرایط بی‌وزنی به نتایج کاملاً مغایری دست پیدا کردند [۶]. بنابراین مطالعه عوامل مؤثر بر فرآیند آنژیوژنز در شرایط محیطی مختلف از جمله بی‌وزنی امری ضروری به‌نظر می‌رسد و می‌تواند به درک بهتر مشکلات قلبی- عروقی فضانوردان، افراد کم‌تحرک (استراحت مطلق در بستر) و سالمندان کمک کند [۷, ۸].

تنظیم رشد عروق خونی برای هماهنگی با نیازهای بافت، به کنترل تولید مولکول VEGF از طریق تنظیم سرعت نسخه‌برداری و پایداری mRNA آن بستگی دارد. پروتئین VEGF فاکتوری پیام‌رسان است، که به وسیلهٔ سلول‌های اندوتلیال تولید می‌شود و و اسکولوژنز و آنژیوژنز را تحریک می‌کند. این فاکتور بخشی از سیستمی است که منابع اکسیژن در بافت‌ها را هنگامی‌که جریان خون در بافت موردنظر ناکافی است، بازسازی می‌کند. غلظت سرمیVEGF در آسم نایی بالا و در دیابت قندی کم است. عملکرد نرمال VEGF، ساختن عروق خونی جدید در طول تکامل رویانی، عروق خونی جدید پس از آسیب بافتی و پس از فعالیت ورزشی است [۹]. تاکنون چندین عضو از خانوادهٔ VEGF شناخته شده‌اند که می‌توانند به گیرنده‌های VEGF متصل شوند و تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال را که از اجزای مهم فرایند آنژیوژنز هستند؛ تنظیم کنند [۱۰]. فاکتور VEGF علاوه بر داشتن نقش حیاتی در آنژیوژنز عضلهٔ اسکلتی، در حفظ شبکهٔ مویرگی عضله نیز مهم است. کاهش میزان VEGF در عضلهٔ اسکلتی، منجر به کاهش چگالی مویرگی، کاهش نسبت‌های مویرگ به تار و افزایش سلول‌های آپوپتوتیک می‌شود. این یافته‌ها تأکیدی بر نقش حیاتی VEGF در سلول‌های عضلانی برای حفظ تعداد مویرگ‌ها در شرایط سخت نظیر استرس برشی، انقباض عضلانی، تغییرات نیروی جاذبه و کمبود اکسیژن است [۹, ۱۱]. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر شرایط بی‌وزنی بر سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به عنوان محرک فرآیند آنژیوژنز و واسکلوژنز است. با توجه به اینکه حوزهٔ فضانوردی در کشور رو به رشد بوده و از طرف دیگر مطالعات در این زمینه بسیار اندک است؛ نتایج تحقیق حاضر می‌تواند در درک بهتر مشکلات قلبی-عروقی فضانوردان مؤثر باشد.

انجام مطالعات بر روی فضانوردان در شرایط بی‌وزنی واقعی امری دشوار و هزینه‌بر است و با محدودیت‌های اخلاقی مواجه

6. Microgravity
7. Tumor Metastasis
8. VEGF
9. Clinostat
10. Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC)
11. Morbidelli

است. بنابراین دانشمندان به معرفی روش‌ها و تجهیزاتی برای شبیه‌سازی محیط کم‌جاذبه بر روی زمین پرداختند که از آن بین می‌توان به دستگاه کلینواستت تک محوره و سه محوره برای شبیه‌سازی بی‌وزنی بر روی سلول‌های جانوری و گیاهی [۱۲] و قفس بی‌وزنی تعلیق پاهای عقبی (HLU)[۱۲] برای شبیه‌سازی بی‌وزنی بر روی جوندگان اشاره کرد [۱۳]. در پژوهش حاضر از روش تعلیق پاهای عقبی استفاده شد. این روش توسط سازمان هوانوردی و فضانوردی آمریکا (ناسا) تأیید شده است.

روش کار

روش پژوهش حاضر از نوع پژوهش‌های توسعه‌ای است که به‌صورت تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل انجام شد. تعداد ۲۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن ۱۵± ۱۷۵ از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه شد و در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی نگهداری شدند. دمای محیط ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۵۵ تا ۶۰ درصد کنترل شد. برای تهویه از سیستم تهویه مطبوع و تهویه هوا استفاده گردید. برای تنظیم سیکل شبانه-روزی از تایمر خودکار (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) استفاده شد. دسترسی موش‌ها به آب و غذا آزادانه بود. موش‌ها پس از ۲ هفته آشنا-سازی با محیط آزمایشگاه و شرایط بی‌وزنی (مدل تعلیق اندام تحتانی)، به طور تصادفی در دو گروه تعلیق اندام تحتانی (n=۱۰) و گروه کنترل (n=۱۰) و یکسان از لحاظ وزنی تقسیم شدند. موش‌ها به مدت شش هفته در شرایط بی‌وزنی شبیه سازی شده قرار گرفتند. پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قوانین بین المللی و کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه خوارزمی انجام شد.

نحوه ایجاد شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده؛ مدل تعلیق اندام تحتانی

مدل تعلیق اندام تحتانی از طریق عدم اعمال بار در اندام‌های تحتانی و شیفت مایعات به سمت اندام‌های فوقانی که در شرایط جاذبه کم و مسافرت فضایی نیز دیده می‌شود؛ شبیه‌سازی شد. این روش، روش مناسبی برای تقلید تغییراتی است که براثر بی‌وزنی در سیستم‌های مختلف بدن به ویژه سیستم قلبی- عروقی انسان و موش ایجاد می‌شود [۱۳].

قفس تعلیق با همکاری گروه فیزیولوژی پژوهشگاه هوافضا ساخته شد. برای بی‌وزن کردن موش‌ها، حیوان را درون رستینر قرار دادیم، دم حیوان را بوسیله پنبه والکل تمیز کرده و پس از خشک شدن دم، چسب کنزیولوژی را که به اندازه دوسوم دم موش بریده شده بود؛ را به صورت طولی از ابتدای دم موش تا یک‌سوم انتهایی دم موش چسباندیم. در ادامه سه چسب دیگر به طول سه تا چهار سانتیمتر را به صورت عرضی بر روی دم موش چسباندیم. چسب‌ها نه خیلی شل بسته شدند که باز بشوند و نه خیلی سفت بسته شدند که جریان خون طبیعی را دچار اختلال کنند. سپس ادامه چسبی که در طول دم موش وصل شده بود را به قلاب مخصوص قفس تعلیق متصل کردیم و قلاب را به زنجیر میله متحرک قفس نصب کردیم. پس از آن صفحه محدودکننده رستینر را از محلش خارج کرده و اجازه دادیم تا حیوان از رستینر خارج شده و در قفس جا بگیرد. سپس با تنظیم میله متحرک و صفحات دیواره‌های جانبی قفس، موقعیت حیوان را به گونه‌ای تنظیم کردیم تا زاویه بین قفسه‌ی سینه‌ی حیوان و کف قفس، ۳۰ درجه باشد. در این حالت پاهای موش در تماس با کف قفس نخواهند بود. میله‌ی متحرک، قرقره و قلاب به حیوان اجازه می‌دهد که آزادانه حول محور۳۶۰ درجه در قفس جابه-جا شده و به تمامی قسمت‌های قفس دسترسی داشته باشد و دسترسی کامل به ظرف غذا و آب داشته باشد. سیستم بی‌وزنی در بالای قفس، بر روی دو طرف موازی قفس سوار شده است. در این سیستم، از قرقره و مفصل استفاده شده است تا به هنگام انتقال، حداقل اصطکاک ایجاد شده و حیوان بتواند به راحتی و بدون استفاده از پنجه‌هایش جابه‌جا شود. زاویه و ارتفاع موش‌ها و همچنین دم موش‌ها روزانه چک شدند تا در صورت نیاز اعمال تصحیحی صورت بگیرد. پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قوانین بین‌المللی (کشور استرالیا) [۱۳] و کمیتهٔ اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه خوارزمی انجام شد. نحوهٔ تعلیق اندام تحتانی موش‌های صحرایی در شکل (۱) نشان داده شده است.

شکل ۱- مدل تعلیق اندام تحتانی در موش های صحرایی

12. Hindlimb Unloading

نحوهٔ نمونه‌گیری و نگهداری نمونه‌ها

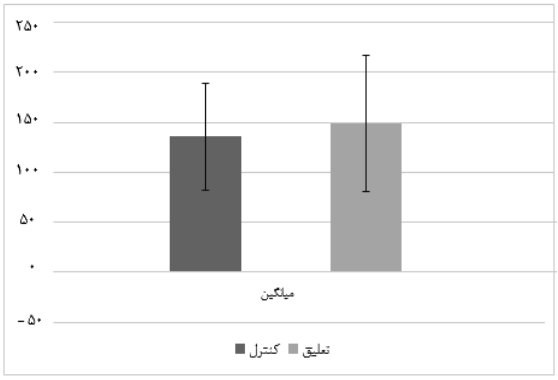
۲۴ ساعت پس از پایان هفتهٔ ششم، ابتدا به موش‌ها به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدنشان ۰/۱ میلی‌گرم از مخلوط ۱۰ میلی‌گرم کتامین و ۱/۵ میلی‌گرم زایلوزین تزریق شد تا بیهوش شوند. بلافاصله پس از اطمینان از بیهوش شدن حیوانات، خون‌گیری آغاز شد و ۵ میلی‌لیتر از بطن چپ قلب موش خون گرفته شد. به‌منظور جداسازی سرم، نمونه‌های خونی گرفته شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و تا زمان اندازه‌گیری میزان مولکول VEGF، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری میزان VEGF، از کیت الایزا (Rat Kit, VEGF, ELISA, HANGZHOU EASTBIOPHARM, USA) و مطابق با پروتکل شرکت سازنده استفاده شد. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر و توسط دستگاه الایزاریدر خوانده شد.

آنالیز آماری

داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۲۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به‌وسیلهٔ آزمون شاپیرو-ویلک[13] و آزمون لوین[14] مشخص شد. سپس با استفاده از آزمون t مستقل به بررسی اختلاف معنادار بین سطوح VEGF در دو گروه تعلیق و کنترل پرداخته شد. سطح معناداری $p<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

میزان VEGF سرم در گروه تعلیق ng/l ۳۳/۱۳ ± ۱۴۹/۲۲ و در گروه کنترل ng/l ۲۸/۳۹ ± ۱۳۵/۸۸ بود. شکل (۲) نمودار تفاوت میانگین VEGF سرم را در دو گروه کنترل و بی‌وزنی نشان می‌دهد.



شکل ۲- مقایسهٔ میانگین میزان VEGF در دو گروه کنترل و تعلیق

برای آزمون فرضیه‌های تحقیق ابتدا از آزمون شاپیرو-ویلک و لوین استفاده شد که نشان داد توزیع داده‌ها در هر دو گروه نرمال است و واریانس‌های دو گروه با هم همگن هستند (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج آزمون شاپیرو- ویلک و لوین برای دو گروه تحقیق

آزمون آماری	آزمون شاپیرو-ویلک		آزمون لوین	
گروه	آماره	سطح معناداری	آماره	سطح معناداری
تعلیق	۰/۸۸۵	۰/۱۴۹	۰/۲۲۸	۰/۶۳۹
کنترل	۰/۹۰۴	۰/۲۴		

سپس نتایج آزمون t مستقل نشان داد که اگر چه میانگین میزان VEGF گروه تعلیق بیشتر از گروه کنترل بود؛ (اختلاف میانگین= ۱۳/۳۳) اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($p\geq0.05$).

جدول ۲- نتایج آزمون t مستقل برای آزمون فرضیه‌های تحقیق

آمار استنباطی	تفاوت میانگین	آمارهٔ t	درجه آزادی	سطح معنی داری
	۱۳/۳۳	۰/۹۶۶	۱۸	۰/۳۴۷

بنابراین نتایج آماری نشان داد که میزان VEGF سرمی، در پاسخ به چهار هفته قرارگیری در شرایط بی‌وزنی نسبت به گروه کنترل در موش‌های نر نژاد ویستار اختلاف معناداری نداشت.

بحث

امروزه، فضای خارج از جو به منزلهٔ آزمایشگاهی بی‌نظیر است که انجام مطالعات علمی را برای دانشمندان امکان‌پذیر ساخته است. نتایج حاصل از این مطالعات و آزمایش‌ها در ارتباط نزدیک با زندگی بشر است به طوری که امروزه تأثیر آن را بر تمامی جنبه‌های زندگی بشر شامل کامپیوتر، فناوری، پزشکی، روانشناسی، تجارت و سرمایه‌گذاری می توان مشاهده کرد. ازطرفی دیگر، شرایط بی‌وزنی در فضا به عنوان چالشی جدید برای پژوهشگران و دانشمندان محسوب می‌شود چرا که بسیاری از تأثیرات آن بر موجودات زنده برای بشر نامعلوم است. قرارگیری در محیط بی‌وزنی به عنوان یک محیط استرس‌زا با تغییرات عمدهٔ فیزیولوژیک که ناشی از سازش با محیط جدید است؛ همراه است. این تغییرات در فضا مشکلی را ایجاد نمی‌کند اما پس از بازگشت به زمین، مشکلات فراوانی را برای فضانوردان ایجاد می‌کند. برخی از مهم‌ترین این تغییرات شامل آتروفی عضلات، کاهش توده استخوانی و پوکی استخوان، تغییر در

13 Shapiro-Wilk
14 Levene

سیستم ایمنی بدن، کاهش سلول‌های خونی و مشکلات قلبی و عروقی است [۱۴].

یکی از مهم‌ترین مشکلاتی که فضانوردان در سفرهای فضایی با آن مواجه هستند، مشکلات قلبی-عروقی است. برخی از مطالعات حاکی از این است که تغییر در سلول‌های اندوتلیال عروق عامل اختلال در عملکرد قلب در شرایط بی‌وزنی است [۱۴]. سلول‌های اندوتلیال عروقی یک لایه نازک در سطح داخلی عروق را تشکیل می‌دهند و نقش مهمی در حفظ هموستازی عروق کوچک، تنظیم جریان خون و دیگر فرایندهای فیزیولوژیک سیستم قلبی عروقی ایفا می‌کنند [۱۵]. مطالعات بیان می‌کنند که مورفولوژی، عملکرد و بیان ژن‌های سلول‌های اندوتلیال در شرایط بی‌وزنی دچار تغییر می‌شود [۱۶-۱۸]. از تغییرات سیستم قلبی-عروقی در شرایط بی‌وزنی، کاهش شبکهٔ مویرگی و تخریب عروق است [۱۵]. توسعهٔ شبکهٔ مویرگی از طریق فرایند آنژیوژنز صورت می‌گیرد که به معنای ایجاد مویرگ جدید از مویرگ قبلی است. مهم‌ترین عامل رشد آنژیوژنیک، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی یا VEGF است که برای تمایز سلول‌های اندوتلیال و برای جوانه‌زدن مویرگ‌های جدید از عروق قبلی در طی رشد و توسعهٔ شبکهٔ مویرگی ضروری است [۱۶]. روشن شدن وضعیت فرآیند آنژیوژنز در شرایط بی‌وزنی می‌تواند به درک بهتر مشکلات قلبی-عروقی، که فضانوردان با آن مواجه هستند، کمک کند. همچنین از یافته‌های آن می‌توان برای بهبود شرایط بیماران قلبی-عروقی، افراد کم‌تحرک و سالمندان بهره برد. بدین منظور در این تحقیق تأثیر شش هفته شرایط بی‌وزنی بر VEGF سرم بررسی می‌شود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که قرارگیری در شرایط بی‌وزنی به مدت شش هفته، میزان VEGF سرم را افزایش می‌دهد؛ اما این افزایش در مقایسه با گروه کنترل معنادار نیست. نتایج تحقیق حاضر با تحقیق واگاتسوما[15] و همکاران در سال ۲۰۰۷ همسو است. آنها تأثیر ۱۰ روز قرارگیری در شرایط بی‌وزنی مدل تعلیق اندام تحتانی را بر روی فاکتورهای HIF1α، VEGF، آنژیوپویتین و گیرنده‌های VEGF در موش‌های صحرایی نژاد ویستار بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که اگرچه بیان گیرنده‌های VEGF در شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده به طور معناداری در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد؛ ولی بیان ژن VEGF پس از ۱۰ روز قرارگیری در شرایط بی‌وزنی تغییر معناداری را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداده و بدون تغییر باقی می‌ماند [۱۷].

این یافته‌ها مغایر با نتایج دادگرنیا و همکاران در سال ۲۰۱۶ بود. آن‌ها تأثیر شرایط بی‌وزنی برای مدت زمان دو ساعت، ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت را بر روی بیان دو ژن VEGFR-2 و CD34 در سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که بیان ژن VEGFR-2 در سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسان پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در شرایط بی‌وزنی در دستگاه کلینواستت به میزان چهار برابر افزایش می‌یابد. نتایج آن‌ها نشان داد که ۷۲ ساعت قرارگیری در شرایط شبیه‌سازی بی‌وزنی، منجر به افزایش بیان این ژن به میزان شش برابر در مقایسه با گروه کنترل می‌شود [۵]. علت اختلاف نتایج به‌دست آمده در مطالعات گوناگون می‌تواند ناشی از اختلاف در مدت زمان قرارگیری در شرایط بی‌وزنی، اختلاف در روش شبیه‌سازی بی‌وزنی، تفاوت در محیط invivo و invitro و همچنین تفاوت در نوع حیوان یا سلول مورد مطالعه باشد. این احتمال وجود دارد که در مطالعهٔ حاضر حیوانات بعد از شش هفته قرارگیری در شرایط بی‌وزنی، به محیط جدید سازگار شده باشند و در نتیجه میزان بیان و روند افزایشی میزان سرمی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی آن‌ها متوقف و به مقادیر پایهٔ خود برگشته باشد. همچنین در محیط Invivo در مقایسه با محیط invitro، فاکتورهای متعددی دخیل بوده و می‌توانند بر روی نتایج تأثیرگذار باشند. از طرف دیگر، به‌نظر می‌رسد که دستگاه کلینواستت با ایجاد شرایط بی‌وزنی شدیدتر نسبت به روش تعلیق اندام تحتانی، گیرندهٔ VEGF را به میزان بیشتری تحریک کرده است. از سوی دیگر در تحقیق حاضر، میزان VEGF در یک بافت خاص مورد بررسی قرار نگرفته، بلکه میزان VEGF سرم اندازه‌گیری شد، که به عنوان برآیند کلی از میزان این فاکتور از کلیهٔ بافت‌های بدن است.

نتیجه‌گیری

از آنجا که رگ‌زایی فرایندی حیاتی در رشد و تکامل، التیام زخم، رشد و متاستاز تومورها و رشد جفت است و ازآنجا که به نظر می‌رسد برخی از مشکلات قلبی و عروقی فضانوردان در شرایط بی‌وزنی، ناشی از اختلال در فرایند رگ‌زایی و اختلال در سلول‌های اندوتلیال عروقی است. در این پژوهش تأثیر شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده مدل تعلیق پاهای عقبی بر میزان سرمی فاکتور VEGF به عنوان مهم‌ترین فاکتور رگ‌زایی بررسی شد. سرم به‌عنوان منبعی قابل دسترس، از مولکول‌های دخیل در تشخیص و درمان، مخزنی ارزشمند در مانیتور کردن بیماری‌ها به حساب می‌آید. همچنین تحقیقات بر روی مدل حیوانی و در شرایط in-vivo، به ویژه در کشورمان ارزش زیادی دارد و می‌تواند تا حدی شرایطی مشابه با شرایط بدن انسان را شبیه‌سازی کند. نتایج ما نشان داد که شش هفته قرارگیری در شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده منجر به

15. Wagatsuma

افزایش VEGF سرمی شد، اما این افزایش در مقایسه با گروه کنترل از لحاظ آماری معنادار نبود. این مسئله ممکن است ناشی از سازگاری سلول‌های اندوتلیال و فاکتورهای رگ‌زایی با شرایط بی‌وزنی یا دخیل بودن فاکتورهای دیگر در فرایند تغییرات قلبی عروقی در شرایط بی‌وزنی باشد. مطالعهٔ سایر فاکتورهای رگ‌زایی و یا فاکتورهای قلبی عروقی دیگر و همچنین مطالعهٔ پروفایل تغییرات بیانی فاکتور VEGF در روزهای مختلف بی‌وزنی، همچنین مطالعهٔ تغییرات این مولکول بر روی بافتی مشخص، می‌تواند اطلاعات سودمندی را در اختیار محققان قرار دهد و به درک بهتر تغییرات سیستم قلبی-عروقی در شرایط بی‌وزنی و در بیماران قلبی-عروقی در سطح جهان کمک کند. همچنین از آنجا که تغییرات مولکولی در سرم به عنوان برایندی کلی از کلیه بافت‌های بدن است، این قابلیت را دارد که به‌عنوان بیومارکر در افراد با بیماری‌های قلبی- عروقی یا فضانوردان مورد بررسی قرار گیرد. از طرف دیگر، با وجودی‌که سرم مایع ارزشمندی در بسیاری از تحقیقات به حساب می‌آید، اما پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده، تغییرات مولکول VEGF در سطح بافتی هم بررسی شود؛ به‌ویژه اینکه قرارگرفتن در شرایط بی‌وزنی سیستم‌های متعددی را در بدن درگیر می‌کند و مولکول‌های رها شده در سرم به عنوان برایندی کلی از تغییرات مولکولی از کلیه بافت‌های بدن و نه تنها بافت موردنظر هستند.

تشکر و قدردانی

مقالهٔ حاضر بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد فیزیولوژی فعالیت‌بدنی و تندرستی مصوب دانشگاه خوارزمی است که نویسندگان از حمایت‌های آنان تشکر می‌کنند.

مراجع

[1] Stuempfle, K. J. and Drury, D. G., "The Physiological Consequences of Bed Rest," *Journal of Exercise Physiology,* Vol. 10, No. 3, 2007, pp. 32-41.

[2] Vernikos, J. and Schneider, V. S., "Space, Gravity and the Physiology of Aging: Parallel or Convergent Disciplines? A Mini-review," *Gerontology*, Vol. 56, No. 2, 2010, pp. 157-66.

[3] Adair, T. H. and Montani, J. P., *Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease*, San Rafael (CA), 2010.

[4] DiPietro, L.A., "Angiogenesis and Wound Repair: when Enough is Enough," *Journal Leukoc Biol*, Vol. 100, No. 5, 2016, pp. 979-984.

[5] Dadgarnia, H. and Hajebrahimi, Z., "The Effect of Microgravity Condition on Expression of VEGFR-2 Gene in Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC)," *Arak Medical University Journal* , Vol. 19, No. 107, 2016, pp. 26-34.

[6] Morbidelli, L., Monici, M., Marziliano, N. and et al., "Simulated Hypogravity Impairs the Angiogenic Response of Endothelium by up-Regulating Apoptotic Signals," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 334, No. 2, 2005, pp. 491-9.

[7] Hargens, A.R. and Vico, L., "Long-Duration Bed Rest as an Analog to Microgravity," *Journal of Applied Physiology*, Vol. 120, No. 8, 2016, pp. 891-903.

[8] Van Oosterhout, W.P., Terwindt, G.M., Vein, A.A. and Ferrari, M.D., "Space Headache on Earth: Head-down-tilted Bed Rest Studies Simulating Outer-Space Microgravity," *Cephalalgia: an International Journal of Headache*, Vol. 35, No. 4, 2015, pp. 335-43.

[9] Bloor, C.M., "Angiogenesis during Exercise and Training," *Angiogenesis*, Vol. 8, No. 2, 2005, pp. 263-71.

[10] Lobov, I.B., Brooks, P.C. and Lang, R.A., "Angiopoietin-2 Displays VEGF-Dependent Modulation of Capillary Structure and Endothelial Cell Survival Invivo," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 99, No. 17, 2002, pp. 11205-10.

[11] Lloyd, P.G., Prior, B.M., Yang, H.T. and Terjung, R.L., "Angiogenic Growth Factor Expression in Rat Skeletal Muscle in Response to Exercise Training," *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, Vol. 284, No. 5, 2003, pp. H1668-78.

[12] Sutherland, R.M., Sordat, B., Bamat, J. and et.al., "Oxygenation and Differentiation in Multicellular spheroids of human colon carcinoma," *Cancer Research*, Vol. 46, No. 10, 1986, pp. 5320-9.

[13] Morey-Holton, E.R. and Globus, R.K., "Hindlimb Unloading Rodent Model: Technical Aspects," *Journal of Applied Physiology*, Vol. 92, No. 4, 2002, pp. 1367-77.

[14] Yang, F., Cho, S.W., Son, S.M. and et al., "Genetic Engineering of Human Stem Cells for Enhanced Angiogenesis Using Biodegradable Polymeric Nanoparticles," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 107, No. 8, 2010, pp. 3317-22.

[15] Convertino, V.A., "Status of Cardiovascular Issues Related to Space Flight: Implications for Future Research Directions," *Respiratory Physiology and Neurobiology*, Vol. 169, No. 1, 2009, pp. S34-7.

[16] Vincent, L., Avancena, P., Cheng, J. and et.al., "Simulated Microgravity Impairs Leukemic Cell Survival through Altering VEGFR-2/VEGF-A Signaling Pathway," *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 33, No. 10, 2005, pp. 1405-10.

[17] Wagatsuma, A., Tamaki, H., Ogita, F., "Capillary Supply and Gene Expression of Angiogenesis-Related Factors in Murine Skeletal Muscle Following Denervation," *Experimental Physiology*, Vol. 90, No. 3, 2005, pp. 403-409