تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۳۱ ص ص: ۴۰-۲۵

تاثیر شدت‌های متوسط فعالیت هوازی حاد یک جلسه‌ای بر تعداد سلول‌های بنیادی $CD34^+$ در گردش در مردان میانسال

الهه ممشلی[۱]، معرفت سیاه‌کوهیان[۲]

چکیده

سابقه و هدف : هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر شدت‌های متوسط یک وهله فعالیت هوازی حاد بر بسیج سلول‌های بنیادی $CD34^+$ در مردان میانسال بود.

مواد و روش: ۲۴ مرد میانسال (با میانگین سنی ۳/۵۱ ± ۵۱/۲۱ سال، قد: ۶۷/ ۵± ۱۷۴/۷۱ سانتی‌متر و وزن ۸/۹۴ ± ۸۲/۱۵ کیلوگرم) به عنوان نمونه‌ی تحقیق انتخاب و به صورت تصادفی به ۳ گروه ۸ نفره (گروه کنترل، گروه تجربی الف و گروه تجربی ب) تقسیم شدند. گروه‌های تجربی (الف:۶۰٪ و ب: ۷۰٪ VO_2max) به مدت ۳۰ دقیقه روی نوارگردان دویدند. برای اندازه‌گیری سلول‌های بنیادی $CD34^+$، قبل و ۱۰ دقیقه بعد از فعالیت نمونه‌های خونی جمع‌آوری شد. برای مقایسه بین و درون‌گروهی به ترتیب از آزمون‌های تحلیل واریانس یک راهه و تی همبسته استفاده کردیم.

یافته‌ها: هر دو شدت فعالیت هوازی باعث افزایش معنی‌دار در تعداد سلول‌های $CD34^+$ شد، در گروه الف این افزایش ۱۴٪ (P= ۰/۰۰۲) بود، در حالی که این اثرگذاری در گروه ب با ۲۲٪ افزایش بیشتر بود (P= ۰/۰۰۳)، ولی بین دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و گروه کنترل هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری از پیش آزمون به پس آزمون (P= ۰/۰۸۴) نداشت. همچنین ارتباط بین تغییرات سطوح سلول‌های $CD34^+$ با نسبت LDL/HDL و Chol/HDL معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: فعالیت بدنی با شدت‌های ۶۰ و ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی می‌تواند به طور معنی‌داری موجب افزایش تعداد سلول‌های $CD34^+$ در گردش خون محیطی شوند و به سبب نقش بالقوه‌ی این سلول‌ها در آنژیوژنز و نئوواسکولوژنز احتمالا می‌توانند به ترمیم و نوزایی عروق کمک کنند.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های بنیادی$CD34^+$، آنژیوژنز، نئوواسکولوژنز، شدت فعالیت هوازی

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران(نویسنده مسئول) marefat_siahkuhian@yahoo.com

مقدمه

شیوع بیماری قلبی عروقی هر روز در حال افزایش است، سالانه حدود ۱۲ میلیون و ۷۷۵ هزار مورد مرگ بر اثر بیماری تصلب شرایین کرونری[1](CAD)، در جهان رخ می‌دهد. این آمار در ایران حدود ۹۰ هزار مورد مرگ در سال است (۱). طبق نتایج یکی از معروف‌ترین مطالعات هم‌گروهی انجام شده از سوی پژوهشکده‌ی قلب فرامینگهام[2]، بیماری تصلب شرایین به صورت اتفاقی در افراد به وجود نمی‌آید و افراد در معرض خطر بیشتر را می‌توان از بروز علایم بالینی شناسایی کرد. همچنین نشان داده شده است افزایش سن و نوع جنسیت در احتمال ابتلا و پیشرفت بیماری قلبی عروقی اثرگذار است (۲).

از آنجایی که اختلال در عملکرد اندوتلیال مقدم بر گسترش آسیب‌های آترواسکروزیس است و عوارض بالینی آنرا تسریع می‌کند، بنابراین محافظت و ترمیم اندوتلیال می‌تواند از وقوع رخداد قلبی عروقی پیشگیری کند (۴،۳). اخیرا پژوهش‌های بسیاری بر مزایای بالقوه‌ی بسیج سلول‌های بنیادی $CD34^+$ در گردش خون محیطی بر سلامتی متمرکز شده‌اند، چرا که این سلول‌های بنیادی با توانایی چندگانه نقش مهمی را در مکانیسم‌های کلیدی ترمیم بافتی از جمله رگ‌زایی ایفا می‌کنند. در مطالعات پاراکلینیکی نشان داده شده است، چرخه‌ی سلول‌های بنیادی$CD34^+$ مشتق از مغز استخوان نقش مهمی در حفاظت و ترمیم اندوتلیال آسیب دیده ایفا می‌کند (۵). سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMCs[3]) $CD34^+$ سلول‌های بنیادی هستند که به عنوان پیش‌ساز برای سلول‌های اندوتلیال و خونی محسوب می‌شوند (۶). این سلول‌ها می‌توانند عملکرد و ریخت‌شناسی[4] عروق را تنظیم کنند و موجب فرایندهای رگ‌زایی (آنژیوژنیک[5] و نئوواسکلوژنیک[6]) شوند (۷-۵).

همچنین این مفهوم به رسمیت شناخته شده است که شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک مرتبط با استرس (مانند ترشح فاکتورهای التهابی و پیش التهابی در خون محیطی) و همچنین هیپوکسی می‌توانند سلول‌های بنیادی $CD34^+$ را در خون محیطی افزایش دهند (۵)، بنابراین این احتمال قویا مطرح می‌شود که فعالیت ورزشی موجب رهاسازی سلول‌های بنیادی از مغز استخوان به خون محیطی شود. طبق مطالعات، فعالیت ورزشی منظم جزء اصلی اولیه و ثانویه‌ی پیشگیری از بیماری قلبی عروقی محسوب می‌شود و همچنین به ترمیم و حفظ عملکرد عروق از طریق افزایش رهاسازی و عمل سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان کمک می‌کند. اخیرا گزارش شده فعالیت ورزشی حاد یک جلسه‌ای نیز تاثیر تحریکی زیادی در رهاسازی سلول‌های بنیادی خون محیطی$CD34^+$ (PBSC[7]) دارد و ظرفیت آنژیوژنیک را افزایش می‌دهد (۹-۸). با این حال مطالعاتی که اثرات فعالیت ورزشی یک وهله‌ای را بر سلول‌های بنیادی $CD34^+$ بررسی کرده‌اند همواره بر ورزش‌های طولانی مدت (از قبیل ماراتن و نیمه ماراتن) متمرکز شده‌اند (۱۰، ۱۱، ۱۲). از آنجایی که مهم‌ترین عامل در طراحی یک برنامه‌ی ورزشی برای افراد تعیین ترکیب مناسبی از شدت و مدت فعالیت بدنی برای رسیدن به حداکثر سود در کمترین میزان خطر است، به نظر می‌رسد تمرین‌های از این نوع (ماراتن، نیمه ماراتن و فعالیت های ورزشی در مدت زمان زیاد با شدت بالا) نه به خوبی توسط افراد میانسال قابل اجرا است و نه باعث ایجاد پاسخ‌های سودمند

1. Coronery artery diseas
2. Framingham
3. peripheral blood mononuclear cells
4. Morphology
5. Angiogenetic
6. Neo Vasculogenesis
7. Peripheral blood stem cells

و طبیعی در این افراد می‌شود (۱۰). از طرفی مطالعات مربوط به بررسی اثر فعالیت ورزشی یک وهله‌ای نتایج متناقضی گزارش کردند. برای مثال در مطالعه‌ای که توسط موریسی[1] و همکاران روی قایقرانان جوان انجام گرفت، نشان داده شد ترشح پیش‌سازهای خونی $CD34^+$ مشتق شده از مغز استخوان بعد از یک وهله فعالیت ورزشی فوق بیشینه به دو برابر افزایش یافت (۱۱). در مقابل، آدامز و همکاران[2] (۲۰۰۸) گزارش کردند سلول‌های پیش‌ساز خونی $CD34^+$ بلافاصله بعد از مسابقه‌ی ماراتن کاهش یافتند (۱۲). در پژوهشی دیگر بانسیگنور و همکاران[3] (۲۰۰۹) در بررسی اثر دو پروتکل تمرینی متفاوت (۱- ورزش استقامتی دو ماراتن ۲- آزمون میدانی بیشینه ۱/۵کیلومتر) بر پیش‌سازهای خونی و آنژیوژنیک در ورزشکاران سالم نشان دادند میزان سلول‌های $CD34^+$ بعد از مسابقه‌ی ماراتن بدون تغییر باقی ماند اما پس از تست میدانی ۱/۵ کیلومتری افزایش یافت (۸). این در حالی است که در مطالعه لوکاردو همکاران[4] (۲۰۱۰) در بررسی اثر یک وهله تمرین ورزشی روی تردمیل با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به مدت ۳۰ دقیقه، هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در سلول‌های پیش‌ساز $CD34^+$ مشاهده نشد (۱۳). بنابراین ادبیات حاکی از این است مطالعاتی که اثر فعالیت‌های یک وهله‌ای را بررسی کرده‌اند نتایج متناقضی را به دنبال داشته است و مطالعات اندکی اثر شدت‌های متوسط فعالیت ورزشی را بر ترشح سلول‌های بنیادی $CD34^+$ مورد بررسی قرار داده‌اند.

در بررسی مطالعاتی که گروه‌های سنی بالاتر را در افراد غیر ورزشکار مورد آزمون قرار دادند نیز نتایج متناقضی گزارش شده است. به طور مشابه در این پژوهش‌ها نیز از شدت‌های بیشینه استفاده شده است. برای مثال شافر و همکاران[5] (۲۰۰۶) گزارش کردند یک وهله فعالیت ورزشی بیشینه در سه گروه افراد جوان، سالمندان سالمندان سالم و سالمندان مبتلا به بیماری عروق محیطی، فقط در آزمودنی‌های جوان باعث افزایش قابل توجه سلول‌های پیش‌ساز $CD34^+$ می‌شود اما هم در آزمودنی‌های سالمند سالم و هم بیمار بدون تغییر باقی می‌ماند (۱۴). در همین راستا، در پژوهشی ون کرینن بورک و همکاران[6] (۲۰۰۸) در بررسی اثر یک وهله فعالیت ورزشی بیشینه روی دوچرخه‌ی کارسنج در دو گروه افراد جوان و میانسال سالم نشان دادند تعداد سلول‌های $CD34^+$ در هر دو گروه افزایش می‌یابد (۳).

کاهش تعداد سلول‌های بنیادی $CD34^+$ در خون محیطی با اختلال عملکرد اندوتلیال و خطر قلبی- عروقی بالا همراه است و به طور معکوس با عوامل خطر بیماری قلبی عروقی همبسته است. بنابراین، سطوح در گردش $PBSC:CD34^+$ می‌تواند وقوع رویداد قلبی عروقی را پیشگویی کند و ممکن است به شناسایی افراد مستعد به ابتلا کمک کند (۱۵،۳). شواهد حاکی از آن است که $PBSC:CD34^+$ به میزان قابل توجهی در جمعیت سالمند کاهش می‌یابد و به نظر می‌رسد با افزایش سن حساسیت این سلول‌ها به آپوپتوز بالا می‌رود (۱۶).

ادبیات حاکی از آن است که در پژوهش‌های پیشین استفاده از شدت‌های بالا و یا مدت طولانی فعالیت ورزشی در تحریک مغز استخوان برای بسیج سلول‌های بنیادی $CD34^+$ همواره مورد تاکید بوده است، در حالی که تا کنون اثر فعالیت هوازی یک وهله‌ای با شدت و مدت متوسط بر سلول‌های بنیادی $CD34^+$ به خصوص در افراد میانسال بررسی نشده است، به نظر می‌رسد عوامل اثرگذار و محرک ترشح سلول‌های بنیادی از جمله

1. Morici
2. Adams et al
3. Bonsignore
4. Lockard et al
5. Shaffer et al.
6. Van Craenenbroeck et al

هیپوکسی و فاکتورهای التهابی باید در حد بالایی ایجاد شوند تا تعداد سلول‌های بنیادی $CD34^+$ در خون محیطی افزایش معنی‌داری داشته باشد، بنابراین این سوال مطرح می‌شود کمترین شدت فعالیت هوازی که پاسخ التهابی کافی برای بسیج سلول‌های $CD34^+$ به وجود آورد کدام شدت ورزشی است. با توجه به اینکه شدت‌های ۶۰ و ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی شدت‌های متوسط و متداولی در برنامه‌های ورزشی گروه‌های سنی مختلف و حتی افراد بیمار با ملاحظات خاص تمرینی هستند، همچنین با نظر به تناقضات یافته‌های پیشین در خصوص اثر فعالیت ورزشی یک جلسه‌ای بر بسیج سلول‌های بنیادی $CD34^+$، آزمون این شدت‌های فعالیت بدنی لازم به نظر می‌رسد. به همین منظور تحقیق حاضر اثر دو شدت تمرینی متوسط به طور مجزا بر سلول‌های بنیادی $CD34^+$ عروقی طی یک جلسه فعالیت هوازی حاد و همچنین ارتباط‌سنجی آن با سطوح لیپیدی را در مردان میانسال سالم مورد بررسی قرار داده است.

روش‌شناسی

جامعه‌ی آماری پژوهش حاضر را مردان میانسال شهر اردبیل که برنامه‌ی ورزشی منظمی را دنبال نمی‌کردند و غیرورزشکار بودند تشکیل دادند. از بین جامعه‌ی آماری ۲۴ مرد میانسال غیر سیگاری، سالم و علاقه‌مند به شرکت در این پژوهش انتخاب شدند. دو ماه قبل شروع فرآیند پژوهش از آزمودنی‌ها خواسته شد به طورکامل غیرفعال باشند و به منظور ایمن سازی شرایط اجرای آزمون، آزمودنی‌ها از نظر میزان فعالیت بدنی روزانه، رژیم غذایی، مصرف دارو و سیگار، سابقه بیماری و جراحی و وضعیت سلامتی عمومی به ترتیب از طریق پرسشنامه-های GPAQ[1] ، ثبت سه روزه مصرف مواد غذایی، جدول طبقه‌بندی احتمال خطر و پرسشنامه سنجش وضعیت سلامتی و تندرستی بررسی و همگن شدند (۱۷). سپس آزمودنی‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه (گروه الف: دویدن با شدت۶۰ ٪ حداکثر اکسیژن مصرفی، گروه ب: دویدن با شدت ۷۰ ٪ حداکثر اکسیژن مصرفی و گروه کنترل) تقسیم شدند. سه هفته قبل از روز آزمون طی یک جلسه‌ی توجیهی آزمونی‌ها با هدف کلی پژوهش و نحوه‌ی فعالیت بر روی نوارگردان آشنا شدند و حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max) برای هر آزمودنی با اجرای تست پله‌ی کالج کوئینز با توجه به فرمول مربوطه[2] اندازه‌گیری شد (۱۷). در این جلسه همچنین شیوه امتیازدهی مقیاس درک فشار بورگ جهت کنترل فشار وارده ناشی از فعالیت هوازی به آزمودنی‌ها آموزش داده شد.

پروتکل پژوهش

آزمون ورزشی بعد از ۱۲-۱۴ ساعت ناشتایی در ساعت ۸ صبح در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد (۳). در حالی از همه‌ی آزمودنی‌ها خواسته شد که ۲۴ ساعت قبل از آزمون از انجام هرگونه فعالیت بدنی سنگین و از خوردن هر نوع دارو، الکل و کافئین خودداری نمایند. پس از تکمیل فرم رضایتنامه‌ی آگاهانه، اندازه‌گیری‌های آنتروپومتریکی (قد، وزن و چین‌پوستی) و ضربان قلب استراحت انجام شد، سپس شرکت‌کنندگان به مدت ۳۰ دقیقه بر روی نوارگردان به فعالیت پرداختند. ۵ دقیقه اول (پیش از شروع پروتکل آزمون) به گرم کردن اختصاص یافت، در این مدت سرعت نوار گردان از ۲ کیلومتر در ساعت به گونه‌ای افزایش یافت تا آزمودنی‌ها (با توجه به معادل‌سازی شدت تمرین بر اساس VO_2max به ضربان قلب از طریق معادله‌ی

1. Global Physical Activity Questioner

2. VO2max (ml.kg-1.min-1) = 111.33 – (0.24 × HR)

اسوین[1] و تخمین درصد ضربان قلب بدست آمده از ضربان قلب بیشینه بر اساس روش کارونن[2]) به ضربان قلب هدف[3] خود رسیدند (۱۸). شدت فعالیت توسط ضربان قلب با استفاده از ضربان سنج پلار (Polar Electro, Made in China, 31 CODED, N2965) و همچنین هر ۵ دقیقه یکبار با استفاده از آزمون بورگ در طول فعالیت کنترل شد. به طوری‌که در طول انجام فعالیت، میزان درک فشار فعالیت در آزمودنی‌های گروه الف به طور میانگین ۱۲/۲۳ و در آزمودنی‌های گروه ب ۱۳/۷۷ بود. ۳ دقیقه پس از اتمام فعالیت، مرحله‌ی سرد کردن انجام شد (۱۲)، به این ترتیب که سرعت نوارگردان در طول ۳ دقیقه به تدریج کاهش یافت. خون‌گیری در ۲ نوبت قبل اجرای آزمون ورزشی و ۱۰دقیقه بعد از اتمام آزمون ورزشی در وضعیت نشسته از سیاهرگ قدامی آرنجی دست چپ آنها گرفته شد (۳،۱۸) و در لوله‌های استریل حاوی ماده‌ی ضد انعقاد ($EDTA(K_3)$ ریخته شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد.

روش اندازه‌گیری ویژگی‌های جمعیت شناختی و ضربان قلب استراحت آزمودنی‌ها

قد و وزن دقیق آزمودنی‌ها با استفاده از دستگاه قد و وزن‌سنج مدل سکا (Vogel & Halke Hamburg, Made in Germany, Model 707 131 4004) اندازه گیری شد. شاخص توده‌ی بدن با استفاده از فرمول مربوطه محاسبه گردید.

{(متر مربع) ^{2} قد ÷ (کیلوگرم) وزن = شاخص توده‌ی بدن}

برای محاسبه درصد چربی ابتدا ضخامت چین‌های پوستی با استفاده از کالیپر هارپندن(Harpenden Skinfold CaliperBaty International, RH159LB, Made in England)، (در سه ناحیه سینه، سه سر و تحت کتف در سمت راست بدن در ۳ نوبت و در فاصله‌ی ۲۰ ثانیه‌ای بین نوبت‌ها، برای برگشت به حالت اولیه صورت گرفت و میانگین ۳ نوبت ثبت گردید) اندازه‌گیری شد، سپس چگالی بدن با استفاده از فرمول سه نقطه‌ای جکسون – پولاک بدست آمد و بعد از آن درصد چربی بدن با استفاده از معادله‌ی سیری محاسبه شد. به منظور حذف خطای فردی همه اندازه‌گیری‌ها توسط یک فرد انجام گردید (۱۷).

ضربان قلب استراحت آزمودنی‌ها در ساعت ۸ صبح، بعد از ۱۵ دقیقه استراحت و در حالت نشسته به وسیله‌ی ضربان‌سنج پلار ساخت کشور چین اندازه‌گیری شد. به این صورت که حسگر ضربان سنج بر روی سینه‌ی آزمودنی‌ها بسته می‌شد و این حسگر به طور خودکار علائم را به ساعت مچی مخصوص ارسال می‌نمود. داده‌ها در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

روش اندازه‌گیری سلول‌های $CD34^+$

با استفاده از محلول فایکول (Lymphodex) سلول‌های تک هسته‌ای نمونه خون آغشته به ماده ضد انعقادی ($EDTA(K_3)$ بر اساس شیب غلظت و با تفکیک متوسط (۱۲۰۰RPM) به وسیله‌ی دستگاه سانتریفیوژ (Hettich Rutofix 32A, Germany) جدا شدند و بعد از دو بار شستشو با محلول نمک فسفات با خاصیت بافری[4] (PBS) در PH ۷/۲–۷/۴ ، سوپانسیون سلولی در غلظت مناسب تهیه گردید. به هرکدام از لوله‌های تست تعداد 10^6 عدد سلول تک‌هسته‌ای غوطه‌ور در ۱۰۰ لاندا PBS اضافه گردید. مقدار۲۰ لاندا ازمعرف

1. Percentage of maximum heart rate = 64 × % VO2max + 37 (David Sweeney, 1994)
2. Maximum heart rate = 220 – age (Karvonen)
3. Target heart rate = (maximal heart rate – rest heart rate) %Intensity + rest heart rate (Karvonen)
4. Phosphate Buffered Salin

CD34(آنتی‌بادی مونوکلونال متصل فلوئورسین ایزوتیوسیانات[1] (FITC)، ضد CD34 تهیه شده از کمپانی (Becton Dickinson)به لوله آزمایش اضافه نموده، آنگاه آنتی بادی مونوکلونال غیر واکنش پذیر با ایزوتایپ یکسان به عنوان کنترل منفی استفاده شد. بعد از آن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت. در مرحله بعد نمونه‌ها به وسیله‌ی PBS شسته‌شو داده شده و سلول‌ها توسط پارافرم آلدئید با غلظت نهایی ۲ ٪ فیکس گردیدند، خوانش و تجزیه و تحلیل نتایج به ترتیب، توسط دستگاه BD FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) و نرم افزار BD Cell Quest انجام گرفت (۱۶، ۳) .

تحلیل آماری

برای تحلیل آماری از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد. داده‌ها در این پژوهش به صورت میانگین و انحراف معیار از میانگین ارائه شده است. برای تایید پیش فرض طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو- ویلک (Shapiro-Wilk)، جهت مقایسه‌های درون گروهی از آزمون تی همبسته، برای مقایسه اختلاف بین هر دو گروه در مرحله پیش‌آزمون از آزمون تی مستقل و برای مقایسه متغیرها در بین گروه‌ها در مرحله پس‌آزمون، از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (ANOVA) استفاده شد. همچنین برای تعیین ارتباط سنجی بین سطوح لیپیدی سرمی (نسبت LDL/HDL و Ch/HDL) و سلول‌های $CD34^+$ از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج اولیه مربوط به متغیرهای جسمانی و ترکیب‌بدنی با استفاده از آزمون شاپیرو- ویلک حاکی از توزیع نرمال داده‌ها در هر سه گروه پژوهش بود. مشخصات جسمانی و ترکیب‌بدنی آزمودنی‌ها در جدول ۱ ارائه شده است

جدول ۱. ویژگی‌های آزمودنی‌ها (میانگین ± انحراف معیار)

ویژگی‌ها	گروه الف : ۶۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی	گروه ب : ۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی	گروه کنترل
سن (سال)	۵۳/۱۳ ± ۳/۰۴	۴۹/۵۰ ± ۳/۸۱	۵۱/۰۰± ۳/۷۰
قد (سانتی متر)	۱۷۵/۵۰ ± ۴/۱۷	۱۷۵/۲۵ ± ۶/۴۵	۱۷۳/۳۸ ± ۶/۴۱
وزن (کیلوگرم)	۸۲/۲۵ ± ۸/۱۳	۸۵/۰۵ ± ۱۰/۷۹	۷۹/۱۳ ± ۷/۹۰
شاخص توده بدن (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۶/۷۰ ± ۲/۷۶	۲۸/۰۰ ± ۲/۶۱	۲۸/۲۹ ± ۲/۴۶
چربی بدن (درصد)	۱۹/۸۸ ± ۳/۴۳	۲۱/۴۱ ± ۳/۰۸	۲۱/۸۷ ± ۶/۳۱
حداکثر اکسیژن مصرفی **(ml.kg.min)**	۳۹/۲۲ ± ۶/۰۰	۳۵/۸۸ ± ۵/۵۱	۳۸/۳۵ ± ۴/۸۶
ضربان قلب استراحت (ضربه در دقیقه)	۶۷/۳۸ ± ۴/۴۰	۶۴/۷۵ ± ۸/۷۶	۷۰/۵۰ ± ۶/۸۲

1. Fluorescein Isothiocyanate

الف) مقایسه سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در گروه‌های مورد تحقیق در مرحله پیش‌آزمون

نتایج آزمون شاپیرو–ویلک، توزیع طبیعی داده‌های مربوط به سلول‌های $CD34^+$ سه گروه را در مرحله پیش‌آزمون و پس‌آزمون نشان داد. نتایج آزمون تی مستقل نشان داد که سه گروه قبل از اجرای آزمون در تعداد سلول‌های $CD34^+$ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند و از همین رو کاملاً با یکدیگر همسان بودند (جدول ۲).

ب) مقایسه درون‌گروهی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی $CD34^+$ در مراحل پیش و پس‌آزمون در گروه‌های مورد تحقیق

نتایج درون گروهی با استفاده از آزمون آماری تی همبسته در هر یک از گروه‌ها نشان داد سلول‌های تک هسته-ای خون محیطی $CD34^+$ در گروه الف ۱۴٪ به دنبال یک جلسه فعالیت هوازی حاد افزایش یافته است (پیش آزمون: ۱۲/۱۷ ± ۵۱/۷۵ ؛ پس آزمون ۱۳/۲۹ ± ۶۹/۸۸ cell/ul, P = ۰/۰۰۲) (نمودار۱). تغییر مشابهی نیز در گروه ب با ۲۲٪ افزایش مشاهده شد (پیش آزمون: ۱۸/۴۲ ± ۴۷/۲۹ ؛ پس آزمون ۱۲/۷۳ ± ۷۴/۵۷ cell/ul, P = ۰/۰۰۳) (نمودار۲). در گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در پس آزمون متغیرهای تحقیق نسبت به پیش‌آزمون مشاهده نگردید (پیش آزمون: ۱۴/۵۱ ± ۵۱/۲۹ ؛ پس آزمون ۱۴/۵۴ ± ۵۲/۸۶ cell/ul ؛ P = ۰/۰۸۲) (نمودار).

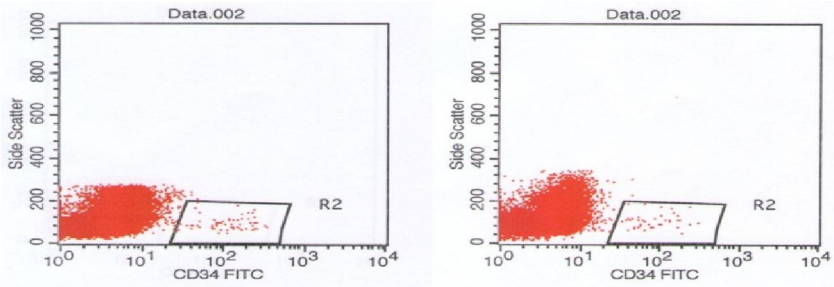
ج) مقایسه بین‌گروهی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی $CD34^+$ در مرحله پس‌آزمون در گروه‌های مورد تحقیق

مقایسه‌ی تفاضل میانگین‌های سه گروه با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک راهه (ANOVA) اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P< ۰/۰۰۱). استفاده از آزمون تعقیبی LSD حاکی از آن بود که بین تفاضل میانگین-های گروه تجربی الف (P: ۰/۰۰۵) و گروه تجربی ب (P <۰/۰۰۱) با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در حالی که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه الف و ب وجود ندارد (P : ۰/۰۵۳) (جدول ۲).

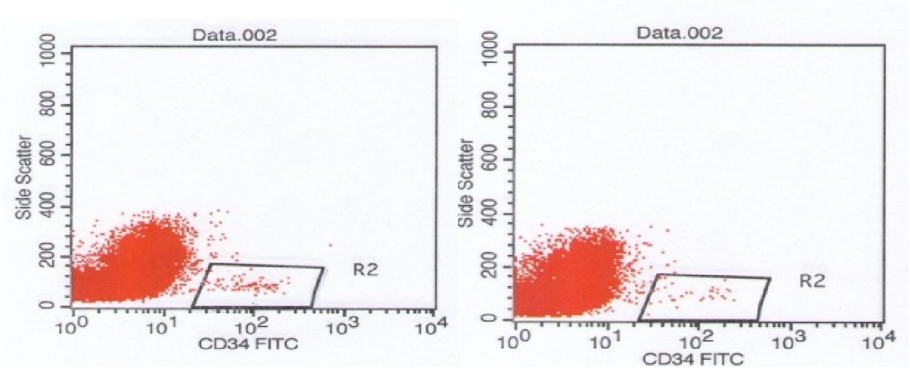
جدول ۲. نتایج آزمون تعقیبی LSD و T مستقل (در پیش آزمون) برای مقایسه بین گروه‌ها

متغییر	گروه ها	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد میانگین	مقادیر P	
				آزمون تعقیبی LSD	t مستقل پیش‌آزمون
$CD34^+$	گروه الف – گروه کنترل	-۱۱/۱۲۵	۳/۵۵	۰/۰۰۵ *	۰/۲۱۱
	گروه ب – گروه کنترل	-۱۸/۲۵۰	۶/۸۴	۰/۰۰۱*	۰/۳۳۵
	گروه الف – گروه ب	۷/۱۲۵	۳/۴۹	۰/۰۵۳	۰/۲۳۷

*تفاوت معنی‌دار در سطح P≤ ۰/۰۵



نمودار ۱. نمایه پراکندگی جانبی از سلول‌های تک‌هسته‌ای و نمونه‌های غنی از CD34 گروه الف، بخش‌های انتخاب شده در نمودار افزایش سلول‌های $CD34^+$ درگروه الف از پیش آزمون (نمودار سمت راست) به پس‌آزمون (نمودار سمت چپ) نشان می‌دهد.



نمودار ۲. نمایه پراکندگی جانبی از سلول‌های تک هسته‌ای و نمونه‌های غنی از CD34 گروه ب، بخش‌های انتخاب شده در نمودار افزایش سلول‌های $CD34^+$ درگروه ب از پیش آزمون (نمودار سمت راست) به پس آزمون (نمودار سمت چپ) نشان می‌دهد.

نمودار ۳. تغییرات $CD34^+$ (میانگین) ناشی از فعالیت ورزشی، * تغییرات معنی‌دار درون گروهی $CD34^+$:

گروه تجربی ۷۰ ٪ VO_2max (P= ۰/۰۰۲)، گروه تجربی ۶۰ ٪ VO_2max (P= ۰/۰۰۳)

ع.م: عدم معنی داری(p=۰/۸۲)

د) تعیین ارتباط سطوح سرمی $CD34^+$ و نسبت LDL/HDL و Ch/HDL

به منظور تعیین ارتباط سطوح سرمی $CD34^+$ با سایر متغیرهای اندازه‌گیری شده از تحلیل همبستگی پیرسون استفاده شد (جدول-۳). ارتباط معکوس سطوح سرمی سلول‌های $CD34^+$ با نسبت LDL/HDL (r = -۰/۶۲۱) و ارتباط مستقیم آن با نسبت Chol/HDL مشاهده شده که معنی‌دار نبود (r =۰/۴۹۲).

جدول ۳. ضریب همبستگی تغییرات سطوح $CD34^+$ با نسبت LDL/HDL و Ch/HDL

متغییر / موارد		Ch/HDL	LDL/HDL
$CD34^+$	**ضریب همبستگی پیرسون**	**۰/۴۹۲**	**-۰/۶۲۱**
	سطح معنی‌داری	**۰/۲۴۹**	**۰/۱۵۸**

بحث و نتیجه گیری

مطالعه‌ی حاضر در بررسی اثر دو شدت ورزشی ۶۰ و۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر سلول‌های بنیادی $CD34^+$ در مردان میانسال نشان داد که تعداد این سلول‌ها در نتیجه‌ی یک وهله فعالیت هوازی با هر دو شدت به طور معنی‌داری در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. همچنین در بررسی ارتباط بین سطوح لیپیدی و سلول‌های $CD34^+$ نتایج حاکی از عدم معنی‌داری این ارتباط به دنبال یک وهله فعالیت هوازی در گروه‌های تجربی بود. یافته‌های این پژوهش با نتایج مطالعات ون‌کرینن بروک و همکاران (۲۰۰۸)، تیجسن و همکاران[1] (۲۰۰۶) و موبیوس وینکلر و همکاران[2] (۲۰۰۹) در بررسی اثر فعالیت ورزشی یک وهله‌ای همسو می-باشد (۳،۱۵،۲۰).

مکانیسم‌های درگیر در افزایش سلول‌های $CD34^+$ به دنبال یک جلسه فعالیت بدنی حاد هنوز به طور قطع مشخص نشده است. موبیوس وینکلر و همکاران (۲۰۰۹) علت افزایش سلول‌های $CD34^+$ متعاقب ۴ ساعت دوچرخه‌سواری با شدت ۷۰ درصد آستانه‌ی بی‌هوازی در افراد سالم را رهایی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی(VEGF[3]) و اینترلوکین-۶ (IL-6[4]) دانستند که فاکتورهایی اثرگذار در رشد و رهایی سلول‌های بنیادی $CD34^+$ از مغز استخوان هستند. IL-6 از مهمترین عوامل اثرگذار بر افزایش بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروق و گیرنده‌های آن به شمار می‌رود. VEGF در تکثیر، مهاجرت و تمایز $PBSC:CD34^+$ و هم چنین تولید و آزادسازی نیتریک اکساید (NO[5]) نقش بسزایی دارد (۱۵)، همچنین نشان داده شده است بیان گیرنده فاکتور رشد اندوتلیال عروق در سلول‌های بنیادی $CD34^+$ بر اثر تحریک ناشی از ورزش اتفاق می‌افتد. بیان این گیرنده‌ها در سطح سلول‌های بنیادی به صورت $CD34^+/KDR^+$[6] به این سلول‌ها قابلیت تمایز به سلول‌های اندوتلیال را می-

1. Thijssen et al.
2. Möbius-Winkler et al
3. Vascular endothelial growth factor
4. Interleukin-6
5. Nitric oxide
6. Kinase insert domain receptor

دهد (۲۱). جیکینس و همکاران[1] (۲۰۰۹) افزایش سلول‌های سیار $CD34^+/KDR^+$ و واحد تشکیل کلونی سلول-های اندوتلیال (EC-CFU[2]) متعاقب یک وهله تمرین ورزشی روی نوارگردان با شدت ۸۰–۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی همبسته با افزایش نیتریک اکساید قابل دسترس زیستی گزارش کردند و نشان دادند پس از اجرای دوره‌ی تمرین ورزشی زیر بیشینه در مردان فعال بیان NADPH اکسیداز[3] که عاملی مؤثر در استرس اکسیداتیو است، کاهش می‌یابد و این باعث افزایش در سطح NO در EC-CFU می‌شود (۲۲). در راستای همین مفهوم کابون و همکاران[4] (۲۰۱۰) نشان دادند که یک وهله فعالیت ورزشی روی دوچرخه‌ی کارسنج با شدت ۸۰ درصد آستانه‌ی بی‌هوازی به مدت ۳۰ دقیقه، به دنبال مسدود کردن نیتریت اکساید سنتاز اندوتلیال (eNOS[5])، با القای متیل آمینو ال ارنیتین سیترات (L-NMMA[6]) ،کاهش قابل توجهی در چرخه‌ی سلول‌های پیش‌ساز و بنیادی خونساز (CPC s[7]) اتفاق می‌افتد (۲۳). ون‌کرینن بروک و همکاران (۲۰۰۸) افزایش سلول‌های $CD34^+$ بعد از یک وهله فعالیت ورزشی بیشینه روی دوچرخه‌ی کارسنج را نشان دادند و با ذکر این مورد که افزایش سلول‌های $CD34^+$ کمتر از افزایش سلول‌های $CD34^+/KDR^+$ بود، بیان کردند که این می‌تواند نشان‌دهنده‌ی تغییر و انتقال سلول‌های چند توان $CD34^+$ به سمت $CD34^+/KDR^+$ بر اثر تحریک ورزشی باشد. همچنین در بررسی مکانیسم‌های اثرگذار اظهار داشتند که فعالیت ورزشی حاد از طریق برون‌ده قلبی بالاتر، تنش برشی را در سطح اندوتلیوم افزایش می‌دهد و به دنبال این افزایش تنش در سطح اندوتلیوم، فعالیت نیتریت اکساید سنتاز زیاد می‌شود که محرک رهاسازی سلول‌های $CD34^+/KDR^+$ از مغز استخوان است (۳). همچنین ون کرینن بروک (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای دیگر در بررسی اثر آزمون ورزشی قلبی- عروقی روی دوچرخه‌ی کارسنج در بیماران مبتلا نارسایی قلبی، عدم تغییر در تعداد سلول‌های $CD34^+/KDR^+$ در گردش را به این موضوع نسبت داد که کاهش تنش برشی در سطح اندوتلیوم که نتیجه‌ی برون ده قلبی پایین است تا حد زیادی باعث کاهش NO تولیدی در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی می‌شود (۲۴). بنابراین پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که NO عامل تاثیرگذار بالقوه‌ای در بسیج $PBSC:CD34^+$ متعاقب یک وهله تمرین ورزشی حاد می‌باشد، هر چند که در پژوهش حاضر اندازه‌گیری نشده است. نشان داده شده است هیپوکسی با القای ترشح NO عامل تحریکی قوی برای رشد و تمایز سلول‌های بنیادی خونساز به شمار می‌رود. در این راستا کروپفل و همکاران[8] (۲۰۱۴) افزایش سلول‌های $CD34^+$ سیار را پس از اجرای پروتکل تمرینی بر روی دوچرخه‌ی کارسنج در شرایط هیپوکسی، ۱۰ دقیقه بعد از پایان تمرین گزارش کردند. همچنین در ادامه با اندازه‌گیری واحدهای تشکیل کلونی گرانولوسیت ماکروفاژ (GM-CFU[9])که یک فاکتور القایی رشد و تمایز سلول‌های بنیادی خونساز است، ۳۰ ،۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از پایان آزمون ورزشی، کاهش در ظرفیت عمکردی CPCs را نشان دادند که علت آنرا افزایش سطح فاکتورهای استرس اکسیداتیو (مالون دی آلدهید MDA[10] و میلو پروکسیداز MPO[11]) ذکرکردند (۲۵). همچنین دومنکوک

1. Jenkins et al
2. Colony forming unit-endothelial cells
3. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase
4. Cubbon et al
5. Endothelial Nitric Oxides Synthase
6. N5- [imino(methylamino)methyl]- L- ornithine citrate
7. Circulating hematopoietic stem and progenitor cells
8. Kröpfl et al
9. Colony-forming unit granulocyte monocyte
10. Malondialdehyde
11. Myeloperoxidase

و همکاران[1] (۲۰۱۳) نشان دادند، ترکیب تمرین ورزشی و مکمل فاکتور محرک کلونی گرانولوسیت ماکروفاژ (GM-CSF[2]) نسبت به تمرین به تنهایی، مکمل به تنهایی و مصرف دارونما، پیاده‌روی در ۶ دقیقه را با طی مسافت بیشتری، در بیماران مبتلا به بیماری عروق محیطی بهبود بخشید (۲۶). بانسیگور و همکاران (۲۰۰۲) افزایش سلول‌های $CD34^+$ پس از دوی ماراتن و نیمه‌ماراتن را به علت رهایی فاکتورهای التهابی مانند IL-6 و میانجی فاکتور نکروز تومور α-(TNF[3])، هورمون رشد وکورتیزل دانستند (۲۷). یکی از دلایل قابل تاکید در همسو بودن این مطالعات با پژوهش حاضر می‌تواند ناشی از زمان‌سنجی جمع‌آوری نمونه پس از پایان آزمون ورزشی باشد به‌طوری که به‌نظر می‌رسد برخی فاکتورهای استرس و هورمون‌هایی مترشحه ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند بر سطوح عملکردی و تعداد سلول‌های بنیادی $CD34^+$ اثرگذار باشد (۲۵،۲۸)، البته نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است، از دیگر دلایل قابل عنوان در همسو بودن مطالعات را می‌توان به روش فلوسایتومتری مناسب و مشابه (فایکول) اشاره کرد به نظر می‌رسد بین دو روش فایکول (که در این پژوهش استفاده شده) و لایزین که دو تکنیک آزمایشگاهی فلوسایتومتری در جداسازی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی از دیگر سلول‌های خونی، قبل از قرارگیری نمونه‌ها در دستگاه فلوسایتومتری هستند احتمالا روش فایکول نسبت به روش لایزین دقت بیشتری داشته باشد (۲۹)، برای مثال ون‌کرینن بروک و همکاران در سال ۲۰۰۸ در گروه ۱، روش فایکول و گروه ۲ روش لایزین را در اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی به کار بردند، نتایج این پژوهش نشان دادند سلول‌های بنیادی $CD34^+$ ۳۹٪ در گروه یک و ۸٪ در گروه دو افزایش داشت البته به طور قطع نمی‌توان این افزایش را فقط به روش آزمایشگاهی به کار برده نسبت داد زیرا آزمودنی گروه یک و دو در این پژوهش اگرچه روش تمرینی یکسان داشتند اما از لحاظ گروه سنی همگن نبودند (۳). بنابراین به تحقیقات بیشتری در این زمینه نیاز است. بررسی تعداد مناسب سلول‌های تک‌هسته‌ای خون در فلوسایتومتری برای شمارش سلول‌های $CD34^+$ طبق دستورالعمل آزمایشگاهی هم از دیگر دلایل قابل ذکر است. داده‌های بدست آمده در بدن، که توسط شواهد مستقیم در شرایط آزمایشگاهی نیز پشتیبانی می‌شود، نشان می‌دهد که کاتکول-آمین‌های آزاد شده بر اثر فعالیت اعصاب سمپاتیکی می‌تواند به طور مستقیم بر تعداد سلول‌های بنیادی خونساز (HSPC[4]) اثر بگذارد. اخیرا نشان داده است که انتشار شبانه‌روزی نور اپی‌نفرین (NE[5]) با غلظت HSPC در گردش خون محیطی مرتبط است. همچنین، نوسانات شبانه‌روزی NE با تغییر در عملکرد HSPC در ارتباط است (۳۰). نتایج پژوهش‌ها حاکی از این است که گیرنده‌های بتا دو آدرنرژیک بسیج سلول‌های $CD34^+$ میانجی‌گری می‌کند (۳۰). همچنین میسترونی و همکاران[6] (۱۹۹۴) پیشنهاد کردند که خونسازی ممکن است تحت کنترل α-α-آدرنرژنیک باشد، آنها نشان دادند در شرایط آزمایشگاهی با اضافه کردن نور اپی‌نفرین به واحدهای کشت سلول‌های مغز استخوان تعداد واحدهای تشکیل کلونی گرانولسیت - ماکروفاژ کاهش یافت که این اثر با اضافه شدن پرازوسین[7] (مسدود کننده گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک) خنثی شد(۲۸). همچنین کروپفل و همکاران (۲۰۰۴) در این راستا به وضوح نشان دادند سطح نوراپی نفرین پلاسما ناشی از تمرین ورزشی روی دوچرخه‌ی کارسنج

1. Domanchuk& et al
2. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor
3. Tumor necrosis factoralpha
4. Hematopoietic stem/progenitor cells
5. Norepinephrine
6. Maestroni& et al.
7. Prazosin

نقش مهمی را در رهاسازی CPCs بازی می‌کند و جالب توجه است که پس از ورزش (حداقل ۱۲۰ دقیقه پس از ورزش) نوراپی‌نفرین آزاد اثر منفی مستقیمی بر قابلیت و ظرفیت تکثیر (proliferative capacity/functionality) CPC دارد (۲۵). احتمالا سطح کورتیزول پلاسما (Co[1]) در این مورد اثرگذار باشد. در همین مطالعه نشان داده شد CO به طور قابل توجهی ۱۰ دقیقه بعد از پایان تمرین افزایش می‌یابد و به دنبالش ۱۲۰ دقیقه پس از پایان تمرین به سطح پایه استراحتی باز می‌گردد، قابل ذکر است کینتیک کورتیزول و کاتکولامین‌ها به هم پیوسته است. قابل توجه است که چرخه‌ی CPC کینتیک یکسان با سطح کورتیزول پلاسما دارد (۲۵،۳۱). البته نیاز به پژوهش‌های بیشتری در این زمینه است.

نتایج تحقیق حاضر در مورد اثر تمرین ورزشی حاد با دو شدت ۶۰ و ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر سلوهای پیش‌ساز و بنیادی خونساز $CD34^+$ با نتایج تعدادی از پژوهش‌ها در این زمینه ناهمسو است. آدامز و همکاران (۲۰۰۸) بلافاصله بعد از مسابقه‌ی ماراتن کاهش معنی‌داری را در چرخه‌ی سلول‌های پیش ساز $CD34^+$ گزارش کردند (۱۲). بانسیگور و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند دوی ماراتن هیچ تغییر معنی‌داری را بر چرخه‌ی سلول‌های $CD34^+$ سیار ندارد (۸). نتایج مغایر پژوهش‌های ذکر شده با پژوهش حاضر ممکن است به علت عدم قابلیت قیاس گروه‌های مطالعه شده در این پژوهش‌ها و تفاوت بارز در سن، جنس و سطح آمادگی آزمودنی‌ها با پژوهش حاضر باشد، برای مثال دونده‌های ماراتن از توان هوازی بالایی برخوردارند و سازگاری‌های حاصل شده در بدن این افراد به استرس ناشی از ورزش، احتمالا بر ترشح سلول‌های $CD34^+$ تاثیر دارد، به طوریکه آزمودنی-های تحقیق حاضر غیر ورزشکار بودند و یک جلسه تمرین هوازی با شدت و مدت متوسط یک استرس حاد برای آنها به شمار می‌آید. البته مقایسه‌ی افراد ورزشکار و غیر ورزشکار در زمینه‌ی بسیج سلول‌های بنیادی $CD34^+$ لازم است به طور ویژه و طبق شرایط یکسان تمرینی مورد بررسی قرار گیرد. روش‌های متفاوت استفاده شده برای سنجش فلوسایتومتری، تفاوت در متغیرهای تمرینی (حجم، مدت و شدت) و نوع تمرین مورد استفاده و عدم تطابق زمان‌سنجی جمع‌آوری نمونه‌ها باشد.

بر اساس مطالعه‌ی حاضر می‌توان نتیجه گرفت مغز استخوان در مقابل آسیب التهابی حاد و هیپوکسی ناشی از ۳۰ دقیقه فعالیت هوازی با شدت های متوسط ۶۰ و ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی با رهایی سریع سلول-های بنیادی $CD34^+$ به خون محیطی پاسخ می‌دهد و با توجه به نقش بالقوه‌ی این سلول‌ها در آنژیوژنز و نئوواسکولوژنز به سازوکارهای ترمیم و نوزایی عروق و خونسازی در عضلات فعال کمک می‌شود. بنابراین بر اثر این سازوکارهای ترمیمی، بسیج سلول‌های بنیادی $CD34^+$ در خون محیطی بر اثر تحریک ورزشی می‌تواند پیشنهاد دهنده‌ی عامل اثرگذاری برای پیشگیری از ابتلا به بیماری قلبی عروقی باشد.

نظر به اینکه تحقیق حاضر اثر دو شدت فعالیت هوازی را بر سلول‌های $CD34^+$ در آزمودنی‌های سالم میانسال را مورد بررسی قرار داد پیشنهاد می‌شود شدت‌ها و حجم‌های تمرینی دیگر به ویژه شدت‌های کمتر از شدت‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر هم مورد ارزیابی قرار گیرد به‌طوری که بهینه‌سازی پروتکل‌های تمرینی هدف‌دار بتواند برای نوزایی عروق در افراد سالم و بیماران قلبی عروقی مفید واقع شود.

1. Cortisol

References

1. KarimiZarchi A, Naghiei MR . 2009. Prevalence of risk factors of coronary heart disease and effect of life-style modification guides. Kowsar Medical Journal. 14: (03):157-62 [Persian].
2. Grundy SM, Balady GJ, Criqui MH, Fletcher G, Greenland P, Hiratzka LF, et al. 1998. Primary Prevention of Coronary Heart Disease: Guidance From Framingham: A Statement for Healthcare Professionals From the AHA Task Force on Risk Reduction. Circulation. 97(18):1876-87.
3. Van Craenenbroeck EM, Vrints CJ, Haine SE, Vermeulen K, Goovaerts I, Van Tendeloo VF, et al. 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):1006-13.
4. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. 2007. Endothelial function and dysfunction testing and clinical relevance. Circulation. 115(10):1285-95.
5. Zaldivar F, Eliakim A, Radom Aizik S, Leu SY, Cooper DM. 2007. The Effect of Brief Exercise on Circulating CD34+ Stem Cells in Early and Late Pubertal Boys. Pediatric research.61(4):491-5
6. Jenkins NT, Landers RQ, Prior SJ, Soni N, Spangenburg EE, Hagberg JM. 2011. Effects of acute and chronic endurance exercise on intracellular nitric oxide and superoxide in circulating CD34+ and CD34− cells. Journal of Applied Physiology. 111(3):929-37.
7. Wassmann S, Werner N, Czech T, Nickenig G. 2006. Improvement of endothelial function by systemic transfusion of vascular progenitor cells. Circulation research. 99(8): 74-83.
8. Bonsignore MR, Morici G, Riccioni R, Huertas A, Petrucci E, Veca M, et al. 2010. Hemopoietic and angiogenetic progenitors in healthy athletes: different responses to endurance and maximal exercise. Journal of applied physiology.109(1):60-7.
9. Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, Della Porta M, Soukhomovskaia O, Malagutti P, et al. 2004. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. Circulation. 110(10):1209-12.
10. Wilmore J, Blair S, Haskell W, Kraemer W. American College of Sports Medicine, 1998: Position Stand: The Recommended Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory and Muscular Fitness, and Flexibility in Healthy Adults. Journal of Medicine and Science in Sports and Exercise. 30:975–991.
11. Morici G, Zangla D, Santoro A, Pelosi E, Petrucci E, Gioia M, et al. 2005,. Supramaximal exercise mobilizes hematopoietic progenitors and reticulocytes in athletes. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 289 (5): 496-R503.
12. Adams V, Linke A, Breuckmann F, Leineweber K, Erbs S, Kränkel N, et al. 2008. Circulating progenitor cells decrease immediately after marathon race in advanced-age marathon runners. European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation. 15(5):602-7.
13. Lockard MM, Witkowski S, Jenkins NT, Spangenburg EE, Obisesan TO, Hagberg JM. 2010. Thrombin and exercise similarly influence expression of cell cycle genes in cultured putative endothelial progenitor cells. Journal of Applied Physiology. 108(6):1682-90.

14. Shaffer RG, Greene S, Arshi A, Supple G, Bantly A, Moores JS, et al. 2006. Effect of acute exercise on endothelial progenitor cells in patients with peripheral arterial disease. Vascular Medicine.11(4):219-26.
15. Möbius-Winkler S, Hilberg T, Menzel K, Golla E, Burman A, Schuler G, et al. 2009. Time-dependent mobilization of circulating progenitor cells during strenuous exercise in healthy individuals. Journal of Applied Physiology. 107(6):1943-50.
16. Hoetzer GL, Van Guilder GP, Irmiger HM, Keith RS, Stauffer BL, DeSouza CA. 2007. Aging, exercise, and endothelial progenitor cell clonogenic and migratory capacity in men. Journal of applied physiology. 102(3):847-52.
17. Gregory Byron D, Shala ED. 2008. ACSM health-related physical fitness assessment manual. Ameracan Callege of Sports Medicine. Talbi E, SafarZade A, Fathi R. babolsar, university of mazandaran. 1390; (1):163_ 274[in Persian].
18. Laufs U, Urhausen A, Werner N, Scharhag J, Heitz A, Kissner G, etal. 2005. Running exercise of different duration and intensity: effect on endothelial progenitor cells in healthy subjects. European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation. 12(4):407-14.
19. ACSM KW, Humphrey R, Bryant C, Mahler D. 2010.ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Philladelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
20. Thijssen DJ, Vos JB, Verseyden C, Zonneveld AJ and et al. 2006. Hematopoietic stem cells and endothelial progenitor cells in healthy men: effect of aging and training. Aging cell. 5(2): 495- 503.
21. Warner A, Lopez-Dee J, Knight E, Feramisco J, Prigent S. 2000. The Shc-related adaptor protein, Sck, forms a complex with the vascular-endothelial-growth-factor receptor KDR in transfected cells. Biochem Journal. 347:501-9.
22. Jenkins NT, Witkowski S, Spangenburg EE, Hagberg JM. 2009. Effects of acute and chronic endurance exercise on intracellular nitric oxide in putative endothelial progenitor cells: role of NAPDH oxidase. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 297(5): 1798-805.
23. Cubbon RM, Murgatroyd SR, Ferguson C, Bowen TS, Rakobowchuk M, Baliga V, et al. 2010. Human exercise-induced circulating progenitor cell mobilization is nitric oxide-dependent and is blunted in South Asian men. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 30(4):878-84.
24. Van Craenenbroeck EM, Bruyndonckx L, Van Berckelaer C, Hoymans VY, Vrints CJ, Conraads VM. 2011. The effect of acute exercise on endothelial progenitor cells is attenuated in chronic heart failure. European journal of applied physiology. 111(9):2375-9.
25. Kröpfl JM, Stelzer I, Mangge H, Pekovits K, Fuchs R, Allard N, et al. 2014. Exercise-induced norepinephrine decreases circulating hematopoietic stem and progenitor cell colony-forming capacity. PLoS ONE. 9(9): 106-120
26. Domanchuk K, Ferrucci L, Guralnik JM, Criqui MH, Tian L, Liu K, et al. 2013. Progenitor cell release plus exercise to improve functional performance in peripheral artery disease: the PROPEL Study. Contemporary Clinical Trials. 36(2):502-9.
27. Bonsignore MR, Morici G, Santoro A, Pagano M, Cascio L, Bonanno A, et al. 2002. Circulating hematopoietic progenitor cells in runners. Journal of Applied Physiology. 93(5):1691-7.

28. Maestroni GJ, Conti A. 1994. Noradrenergic modulation of lymphohematopoiesis. International journal of immunopharmacology. 16(2):117-22.
29. Marion GM. 1999. Flow cytometry principles and methods. SoleimaniAstiar R, Khalili GH, Tavasoti M. Tehran. Andishmand. 1387;(1):1-326
30. Emmons R, Niemiro G.M and DeLisio M, 2016, Exercise as an Adjuvant Therapy for Hematopoietic Stem Cell Mobilizatio, Hindawi Publishing Corporation Stem Cells International, 2016(1):1-11.
31. Dimitrov S, Benedict C, Heutling D, Westermann J, Born J, Lange T. 2009. Cortisol and epinephrine control opposing circadian rhythms in T cell subsets. Blood. 113(21):5134-43.