Physiology and Pharmacology, 11(3), 199 - 207
Fall 2007 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of aerobic moderate exercise intensity on plasma and aorta homocysteine and 15-F_{21}-isoprostane concentrations in high cholesterol diet-induced atherosclerosis.

Mohsen Alipour[1*], Davood Sohrabi[2], Ramazan Falah[3], Fereidoun Heydarpour[1], Mustafa Mohammadi[4]

1. Dept. Physiology, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran
2. Dept. Histology, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran
3. Dept. Physiology and Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Abstract

Introduction: Few studies have investigated the effect of exercise on homocysteine and 15-F_{21}-isoprostane in animal models. The present study was designed to examine the effect of long-term exercise and/ or high cholesterol diet on MDA, 15-F_{21}-isoprostane and total homocysteine in the aorta and plasma of rabbits.

Methods: 56 male rabbits were divided into four groups: normal diet (control), normal diet with exercise, high-cholesterol diet without exercise and high cholesterol diet with exercise. Animals of exercise groups ran on a treadmill at 0.88 km/h for 7.5 –90 min/day (5 days/week) for 12 weeks. At the end of exercise protocol, blood samples were collected and tHcy, 15-F_{21}-isoprostane were measured using enzyme immunoassay (EIA) kits. MDA levels were determined by the thiobarbituric acid assay. Thoracic aorta was isolated to evaluate atherosclerosis as well as tHcy, 15-F_{21}-isoprostane and MDA levels.

Results: Exercise reduced atherogenic diet-induced atherosclerotic lesions in aorta along with positive changes in plasma cholesterol profile. Atherogenic diet significantly increased plasma and aorta concentrations of MDA and tHcy. Exercise significantly reduced diet-increased plasma and aorta concentrations of 15-F_{21}-isoprostane and tHcy in normal animals. MDA levels did not show significant change due to exercise and/or high cholesterol diet feeding. There was a positive correlation among plasma cholesterol, homocysteine and 15-F_{21}-isoprostane in exercised groups compared with control.

Conclusion: Our results suggest that elevated homocysteine level can be considered as one of the multiple risk factors in the development of atherosclerosis. In addition, exercise may effectively reduce plasma and aorta homocysteine and 15-F_{21}-isoprostane and may be effective in prevention and attenuation of atherosclerosis.

Keywords: Exercise, Homocysteine, 15-F_{21}-isoprostane, Malondialdehyde, Atherosclerosis

[*] Coresponding Author Email: alipourmohsen@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۱ (۳)، ۱۹۹ – ۲۰۷
پاییز ۱۳۸۶

اثر ورزش هوازی با شدت متوسط بر سطوح هوموسیستئین و ۸– ایزوپروستاگلندین F_{2a} پلاسما و ائورت سینه‌ای در خرگوش‌های تغذیه شده با کلسترول بالا

محسن علیپور[۱*]، داود سهرابی[۲]، رمضان فلاح[۳]، فریدون حیدرپور[۱]، مصطفی محمدی[۳]
۱. گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۲. گروه بافت‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۳. گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۴. گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: تیر ۸۶ بازبینی: آبان ۸۶ پذیرش: آبان ۸۶

چکیده

مقدمه: ورزش و تغذیه می‌توانند بر فاکتورهای خطر ساز اترواسکلروز اثر بگذارند. اطلاعات محدود و متناقض موجود درخصوص اثر ورزش بر تغییرات غلظتهای پلاسمایی و بافتی هوموسیستئین و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} بویژه در مدلهای حیوانی، ما را بر آن داشت تا اثر ورزش متوسط را بر سطوح هوموسیستئین به عنوان یک ریسک فاکتور جدید اترواسکلروز و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} به عنوان یک شاخص جدید اکسیداسیون لیپیدها مورد بررسی قرار دهیم.

روش‌ها: این مطالعه روی ۵۶ خرگوش هلندی که به ۴ گروه ۱۴تایی شامل رژیم غذایی استاندارد با و بدون ورزش، رژیم غذایی اتروژن با و بدون ورزش تقسیم شدند انجام شد. حیوانات گروههای ورزش به مدت ۱۲ هفته، ۵ روز در هفته و با افزایش تدریجی زمان در دقیقه روی تردمیل ورزش داده شدند. پس از اخذ نمونه‌های خون وریدی، شریان آئورت جهت بررسی هیستوپاتولوژیک جدا شد. نیمرخ کلسترول، سطوح هوموسیستئین، ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} و مالوندیالدئید پلاسمایی و ائورت با روشهای آزمایشگاهی تعیین گردید.

یافته‌ها: ورزش ضایعات اترواسکلروزی تولید شده توسط رژیم اتروژن را کاهش داد که با تغییرات مثبت در کلسترول پلاسما همراه بود. بر خلاف هوموسیستئین تام و مالوندیالدئید، افزایش ۸– ایزوپروستاگلاندین F_{2a} توسط رژیم اتروژن معنی‌دار نبود. ۱۲ هفته ورزش به کاهش معنی‌دار سطوح پلاسمایی و ائورتی هوموسیستئین تام و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در حیوانات دریافت کننده رژیم استاندارد منجر شد. همچنین یک همبستگی مثبت بین کلسترول پلاسما، هوموسیستئین و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در گروههای ورزش مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: افزایش سطح هوموسیستئین احتمالا از استرس اکسیداتیو القا شده توسط کلسترول حاصل می‌شود و ورزش از طریق کاهش هوموسیستئین و ۸– ایزوپروستاگلاندین F_{2a} ، ممکن است نقش کلیدی در جلوگیری و یا تخفیف اترواسکلروزیس بازی کند.

واژه‌های کلیدی: ورزش، اتروسکلروزیس، استرس اکسیداتیو، هوموسیستئین، ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a}

مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی که اغلب با پیش‌زمینه اترواسکلروزیس شروع می‌شوند، در صدر بیماری‌های منجر به مرگ و ناتوانی در بسیاری از کشورها از جمله ایران قرار دارند [۷،۲۳] بر اساس شواهد موجود، هوموسیستئین که به عنوان یک ریسک فاکتور مستقل و تعدیل پذیر برای اترواسکلروزیس مطرح گردیده است، یک اسید امینه محتوی سولفور است که توسط دمتیلاسیون داخل سلولی متیونین تولید می‌شود [۱۹]. هوموسیستئین تام که شامل همه گونه‌های آن می‌شود، عمدتا

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: alipourmohsen@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

به شکل اکسید شده و دی سولفیدهای ترکیب شده با پروتئین‌ها وجود دارد [۳۳]. در شرایطی که تولید هوموسیستئین افزایش یابد یا متابولیسم آن دچار اختلال شود، غلظت آن در داخل سلول افزایش یافته و به مایعات خارج سلولی وارد خواهد شد [۱۵]. یکی از مکانیزم‌هایی که توسط آن هوموسیستئین اثرات پاتولوژیک خود را اعمال می‌کند ازدیاد فشار اکسایشی است که همچنین ممکن است به علل دیگر از جمله فعالیت فیزیکی در سلولها تولید شود [۱۵،۳۳]. از طرف دیگر بر اساس بعضی از مطالعات، هوموسیستئین ممکن است به عنوان یکی از پیشسازهای گلوتاتیون جهت مقابله با استرس اکسیداتیو القا شده توسط ورزش به داخل خون آزاد شود [۵]. اگر چه اثرات ورزش بر ریسک فاکتورهای سنتی اترواسکلروزیس مورد تحقیق فراوان قرار گرفته است، اما مطالعات اندک و عمدتا متناقضی بویژه در نمونه‌های بافتی و مدل‌های حیوانی، نقش ورزش را در تعدیل هوموسیستئین که اخیرا به عنوان یک ریسک فاکتور جدید بیماریهای قلبی عروقی شناسایی شده مورد بررسی قرار داده اند.

مالوندیالدئید به عنوان شاخص اکسیداسیون لیپیدها، احتمالا به علت سادگی اندازه‌گیری‌اش بطور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است اما از دقت کافی برخوردار نیست [۱۲،۱۸]. نتایج مطالعات انجام شده در خصوص اثر استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش بر اکسایش لیپیدها، بر پایه اندازه‌گیری مالوندیالدئید به عنوان شاخص غیر مستقیم استرس اکسیداتیو عمدتا متناقض و مورد مناقشه هستند [۱۸،۱۲،۸]. ایزوپروستان‌ها در جریان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء توسط رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شوند. در ۱۰ سال گذشته ارتباط بعضی حالات بیماری و آزمایشگاهی با اتیولوژی‌های گوناگون با افزایش سطوح ادراری، پلاسمایی و بافتی ایزوپروستان‌ها نشان داده شده است، و در حقیقت ممکن است به عنوان اندیکاتور بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرند [۱۷]. ۸- ایزوپروستاگلاندین F_{2a} یک ایزومر پروستاگلاندین است که بصورت وابسته یا مستقل از فعالیت آنزیم سیکلو اکسیژناز در بدن سنتز می‌شود [۱۷،۲۸]. تا جایی که بررسی‌های ما نشان می‌دهد، همچون هوموسیستئین، مطالعات محدودی اثر ورزش دراز مدت را بر غلظت‌های پلاسمایی و ائورتی ۸- ایزوپروستاگلاندین F_{2a} گزارش کرده اند [۲۱،۳۰،۳۴]. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات ورزش دراز مدت با و بدون رژیم غذایی اتروژن بر سطوح پلاسمایی و ائورتی مالوندیالدئید، ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} و هوموسیستئین توتال در مدل اترواسکلروز تجربی به منظور راهیابی به یک متد و بینش دقیقتر در خصوص پیامدهای ورزش بر تغییرات پلاسمایی و بافتی اکسیداسیون لیپیدها و تاثیر آن بر تغییرات پلاسمایی و بافتی هوموسیستئین مورد بررسی قرار گرفت. مابا این فرض که پارامترهای مذکور توسط رژیم غذایی اتروژن افزایش خواهند یافت، نقش ورزش بر تعدیل این متغیرها را در جهت دستیابی به مکانیزم اثر ورزش مورد هدف و بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

تعداد ۵۶ خرگوش سفید از گونه هلندی با وزن متوسط ۱/۳ کیلوگرم از مرکز حیوانات آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شد. حیوانات در قفسهای استاندارد با چرخه نوری ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. خرگوش‌ها به گروهای: گروه شاهد که رژیم غذایی استاندارد دریافت می‌کردند.، گروه رژیم غذایی استاندارد با ورزش، گروه سوم شاهد با رژیم غذایی اتروژن (کلسترول۲٪) و گروه چهارم رژیم غذایی اتروژن با ورزش تقسیم شدند. پروتکل ورزشی ما در این مطالعه مشابه مدل استفاده شده در مطالعه قبلی بود [۱]. پس از یک هفته آشنایی حیوانات با ترد میل (ساخت کارخانه دانش یاخته تبریز)، خرگوشهای گروههای ورزش با سرعت ثابت ۱۵ متر در دقیقه و به مدت ۷/۵ دقیقه در روز برای هفته اول ورزش داده شدند. در هفته‌های بعد، زمان ورزش به میزان ۷/۵ دقیقه برای هر هفته افزایش داده شد بطوری که در هفته دوازدهم به مدت ۹۰ دقیقه در روز ورزش کردند. کل زمان ورزش ۱۲ هفته و به مدت ۵ روز در هر هفته بود. بر اساس مطالعات، شدت ورزش در این مدل تقریبا برابر ۷۰٪ حداکثر ظرفیت ورزشی میباشد [۳۶]. گروههای کنترل هیچ ورزشی دریافت نکردند. در پایان پروتکل ورزش، حیوانات بوسیله تزریق کتامین و سدیم پنتوباربیتال به ترتیب با دوزهای ۲۵ و ۲۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق ورید گوش بیهوش شدند. سپس نمونه‌های خون از ورید اجوف

تحتانی گرفته و در تیوپهای هپارینه جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی ذخیره و در دمای ۷۰ – درجه تا زمان آزمایش نگهداری گردید.

برای انجام مطالعه هیستوپاتولوژیک، بلافاصله پس از خون‌گیری، شریان آئورت سینه‌ای جدا گردید و در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. بطور خلاصه پس از مراحل پردازش بافتی، چندین برش از عروق خونی به ضخامت حدود ۶ میکرون توسط میکروتوم تهیه و بوسیله روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین رنگ آمیزی و سپس با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. وقوع ضایعات اترواسکلروزیس بوسیله یک مقیاس صفر تا ۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. قطعه‌ای از رگ که در آن هیچ ضایعه‌ای مشاهده نگردید، نمره صفر و قطعه‌ای که کاملا توسط پلاک پوشیده شده بود نمره ۵ تعلق گرفت و سپس این نواحی ضخیم شده آنتیما در حیوانات و گروههای مختلف به لحاظ آماری محاسبه و بر حسب درصد بیان گردید [۳۱].

سطح لیپوپروتئینهای پتاسمای خون شامل HDL-C، LDL-C، VLDL-C، تری گلیسرید و توتال کلسترول بوسیله آنالیزر اتوماتیک (Abbott, Alcyon 300, USA) تعیین شد. ضریب تغییرات اندازه‌گیری بین گروهی و درون گروهی برای همه فراکسیون‌های کلسترول کمتر از ۱۰٪ بود.

مالوندیالدئید پلاسما به روش اسپکتروفتومتری توسط اندازه‌گیری تیو باربیتوریک اسید در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین شد. همه مواد و معرف‌های مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شد. بطور خلاصه، ml15/0 پلاسما به3 ml اسید فسفریک ۱٪، ml1 تیو باربیتوریک اسید ۶۰٪ و ml15/0 هیدروکس تولئن بوتیله ۲۰٪ افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در بن مری جوش حرارت داده شدند و پس از سرد شدن ml4 بوتانل (۱–بوتانل) به آنها اضافه گردید. سپس فاز بوتانل توسط سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد و جذب نوری در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت مالوندیالدئید بر حسب µM بیان شد [۲۵].

غلظت ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در پلاسما و آئورت سینه‌ای، با استفاده از کیت‌های تجاری تهیه شده از شرکت (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). به روش الایزا و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. حجم نمونه استفاده شده µl50 بود. جذب نوری در ۴۰۵ نانومتر توسط (USA STAT FAX 2100,) اندازه‌گیری شد و سپس غلظت ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} با استفاده از منحنی استاندارد نیمه لگاریتمی که بر اساس نمونه‌های استاندارد در مقابل میزان جذب نوری نمونه‌های خاص رسم شد محاسبه گردید و نتایج بر حسب pg/ml بیان شد. ضریب تغییرات اندازه‌گیری بین گروهی و درون گروهی کمتر از ۸٪ بود. حساسیت sensitivity و specificity روش اندازه‌گیری ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} به ترتیب ۱۰۰٪ و pg/ml 5 بود. (Cayman Chemical) Ann Arbor, MI, USA Ann).

غلظت هوموسیستئین همانند ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} توسط کیت و بر اساس دستورالعمل همراه با آن (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) و به روش الایزا و با حجم نمونه µl50 در طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد نیمه لگاریتمی که بر اساس نمونه‌های استاندارد در مقابل میزان جذب نوری نمونه‌ها رسم شد محاسبه گردید. ضریب تغییرات اندازه‌گیری درون گروهی کمتر از ۸٪ و حساسیت روش سنجش توتال هوموسیستئین µM2 بود.

برای آماده سازی ائورت سینه‌ای جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی، شریان آئورت سینه‌ای بعد از جدا کردن و تمیز نمودن بافت‌های اضافی اطراف آن، خشک و وزن شد و در ۱۰ – ۵ حجم فسفات بافر با PH برابر ۷/۴ در ۴ درجه سانتیگراد برای مدت ۳۰ ثانیه با استفاده از یک پلی ترون هموژنایزر هموژنیزه شد و سپس بوسیله یک پارچه نخی نازک به عنوان صافی فیلتره گردید و فیلترای حاصله به مدت ۱۰ دقیقه و با دور g1500 سانتریفیوژشد. محلول بالایی حاصل از سانتریفیوژ (supernatant) برای اندازه‌گیری مالوندیالدئید، ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} وتوتال هوموسیستئین مورد استفاده قرار گرفت [۲۰].

برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۰ استفاده شد. مقادیر متوسط متغیرهای مختلف در بین چهار گروه بوسیله آنالیز واریانس دو طرفه مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت. اختلافات کمتر از ۰۵/ معنی دار در نظر گرفته شد. تست Tukey برای تعیین اختلافات معنی دار مورد استفاده قرار گرفت. نتایج به صورت mean ± SD بیان شدند.

جدول ۱: تاثیر ۱۲ هفته ورزش متوسط با و بدون رژیم هیپرکلسترول بر لیپوپروتئین‌های پلاسمای خون در خرگوش.

متغیرها	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
کلسترول تام(mg/dl)	۷۶/۷± ۲/۸	۶۲/۲±۳ †	۱۹۵۳± ۶۹/۲*	۱۹۸۸± ۹۶/۳•
LDL-C (mg/dl)	۳۱/۱۸±۲/۶	۱۶/۶۴±۲ †	۱۶۴۳± ۴۵/۲*	۱۴۹۷±۴۹/۳#•
HDL-C (mg/dl)	۲۸/۴±۲/۸	۴۰/۳±۲/۳ †	۳۱۵/۵±۴۳*	۴۲۸/۶± ۴۲ #•
VLDL (mg/dl)	۱۹/۲±۳/۵	۱۶/۸±۳	۴۹/۶±۱۲ *	۳۵±۱۰ #•
TG (mg/dl)	۹۰±۱۶/۱	۷۴±۱۴ †	۲۵۹±۶۷*	۱۶۶±۱۳ #•
HDL/LDL	۱/۱۴±۰/۱۹	۱/۹۴±۰/۳۲ †	۰/۱۸۵/±۰/۰۳	۰/۲۶۷±۰/۰۵

داده‌ها به صورت mean ±SD بیان شده اند. تعداد نمونه‌ها برای هر گروه برابر۱۴ بود. اختلافات کمتر از۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شدند. † گروه ۲ (رژیم استاندارد همراه با ورزش) در برابر گروه ۱(رژیم استاندارد و بدون ورزش). * گروه ۳ (رژیم اتروژن) در برابر گروه ۱ و ۲ • گروه ۴ (اتروژن همراه با ورزش) در برابر گروه ۱ و ۲ # گروه ۴ در برابر گروه ۳ می‌باشد. LDL-C: لیپووپروتئین‌های با دانسیته پایین، HDL-C: لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا VLDL-C: لیپوپروتئین‌های با دانسیته خیلی پایین، TG: تری گلیسرید

یافته‌ها

۱۲ هفته رژیم غذایی اتروژن (کلسترول۲٪) باعث تولید ضایعات اترواسکلروزی و ضخیم شدن انتیما در شریانهای ائورت سینه‌ای در مقایسه با گروههای دریافت کننده رژیم استاندارد با و بدون ورزش که هیچگونه ضایعه‌ای در هیچکدام از شریانهای آئورت نشان ندادند، گردید (صفر در برابر۰/۱۷± ۳/۹). ضایعات اترواسکلروزی تولید شده توسط رژیم اتروژن که بطور به طور متوسط ۷۸٪ بود، بعد از ۱۲ هفته ورزش به ۴۶٪ رسید که به میزان ۳۲٪ کاهش نشان داد (۳۰ /۰± ۲/۳ در برابر ۰/۱۷± ۳/۹). بعد از ۱۲ هفته رژیم غذایی اتروژن، غلظت پلاسمایی همه فراکسیونهای لیپوپروتئینی شامل LDL-C, HDL-C, VLDL-C، تری گلیسرید و توتال کلسترول به طور معنی داری در مقایسه با کنترل افزایش یافت. این مشاهدات نشان دادند که در حقیقت کلسترول ۲٪ باعث القای هیپرکلسترولمی در این مدل تجربی شد. ۱۲ هفته ورزش کاهش معنی دار سطوح پلاسمایی LDL-C و تری گلیسرید را در گروههای ورزش به همراه داشت. غلظت کلسترول تام پلاسما توسط ورزش فقط در حیوانات دریافت کننده رژیم استاندارد کاهش معنی دار نشان داد. یک یافته مهم این مطالعه افزایش غلظت HDL-C و یا افزایش نسبت HDL-C به LDL-C بود که بطور قابل توجهی در پاسخ به ورزش افزایش یافت. (جدول ۱). همچنین یک همبستگی مثبت بین کلسترول پلاسما، هوموسیستئین و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در گروههای ورزش مشاهده شد.

بر اساس نتایج ما، رژیم غذایی دارای کلسترول۲٪ باعث افزایش غلظت تام هوموسیستئین و مالوندیالدئید در پلاسما و ائورت سینه‌ای شد، همچنین یک همبستگی معنی دار بین تغییرات غلظت هوموسیستئین آئورتی و پلاسمایی (r. /۶۸ =) و مالوندیالدئید آئورت و پلاسما (r. /۷۶=) وجود داشت. اگر چه ۸ – ایزوپروستاگلاندی F_{2a} توسط رژیم غذایی دارای کلسترول ۲٪ افزایش آماری معنی دانشان نداد، اما الگوی تغییرات آن در آئورت و پلاسما یکسان بود (r=./۷۷). ورزش دراز مدت (۱۲ هفته) کاهش معنی دار غلظت پلاسمایی و آئورتی هوموسیستئین تام و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} را در حیوانات دریافت کننده رژیم غذایی استاندارد در پی داشت. ضریب همبستگی در مورد کاهش غلظت پلاسمایی و آئورتی دو پارامتر مذکور به ترتیب برابر ۵۹/. و ۶۶/. بود اما این تغییرات اگر چه در گروه دریافت کننده رژیم اتروژن تمایل به کاهش داشت، ولی به لحاظ آماری معنی دار نبود. غلظت پلاسمایی و آئورتی مالوندیالدئید در پاسخ به ورزش با و بدون رژیم غذایی اتروژن (کلسترول۲٪) تفاوت معنی دار نشان نداد (جدول ۲ و ۳). مقایسه تغییرات غلظت پلاسمایی هوموسیستئین تام و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} و همچنین مقایسه تغییرات غلظت آئورتی هوموسیستئین تام و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در پاسخ به رژیم غذایی، همراه با ورزش و بدون ورزش به ترتیب از یک همبستگی مثبت با میانگین۷۰/. و ۶۸/. برخوردار بود.

جدول ۲- تاثیر ۱۲ هفته ورزش متوسط با و بدون رژیم هیپرکلسترول بر غلظت‌های پلاسمایی مالوندیالدئید، ۸- ایزوپروستاگلاندین F_{2a} و هوموسیستئین تام در خرگوش.

متغیرها	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
مالوندیالدئید (μM)	۰/۳۹±۰/۰۴	۰/۴۱±۰/۰۸	۰/۷۷±۰/۰۶*$	۰/۷۵±۰/۰۸•
۸- ایزوپروستاگلاندین $F_{2\alpha}$ (pg/ml)	۳۹/۶±۴/۴	۳۱/۲±۳/۸†	۴۲±۵/۳*	۴۰/۷±۶/۷•
هوموسیستئین تام (μM)	۷/۵۶±۱/۴۶	۵/۸۸±۱/۹۲†	۸/۸۷±۱/۲۵*	۷/۴۰±۱/۵۴

داده‌ها به صورت mean ±SD بیان شده اند. تعداد نمونه‌ها برای هر گروه برابر۱۴ بود. اختلافات کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شدند. † گروه ۲ (رژیم استاندارد همراه با ورزش) در برابر گروه ۱ (رژیم استاندارد و بدون ورزش) * گروه ۳ (رژیم اتروژن) در برابر گروه ۲ $ گروه ۳ در برابر گروه ۱ • گروه ۴ (روژیم اتروژن همراه با ورزش) در برابر گروه ۱ و ۲ # گروه ۴ در برابر گروه ۳

بحث

بر اساس یافته‌های این مطالعه، ۱۲ هفته ورزش با شدت متوسط به اصلاح هیپرکلسترولمی و کاهش ضایعات اترواسکلروزی القا شده توسط رژیم اتروژن منجر شد. بر خلاف مالوندیالدئید و هوموسیستئین تام که بوسیله رژیم اتروژن افزایش یافتند، ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} تغیر معنی داری نشان نداد. ورزش فقط در حیواناتی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کرده بودند کاهش هوموسیستئین تام و ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} را در پلاسما و آئورت به همراه داشت. سطوح پلاسمایی و آئورتی مالوندیالدئید بوسیله رژیم هیپرکلسترول افزایش یافت اما در پاسخ به ورزش با و بدون رژیم هیپرکلسترول تغیر معنی داری نشان نداد. مطالعات گسترده اما عمدتا متناقضی در ارتباط با اثرات ورزش بر غلظت‌های پلاسمایی و بافتی مالوندیالدئید به عنوان یک شاخص آسیب اکسیداتیو انجام شده است [۲،۶،۲۲،۲۱،۸] و بعضی از آنها با نتایج ما در یک راستا می‌باشند [۲،۱۸]. از طرف دیگر اگر چه اندازه‌گیری مالوندیالدئید بر مبنای تیوباربیتوریک اسید یک روش معمول برای ارزیابی اکسیداسیون لیپیدها است، اما یک روش غیر اختصاصی است و ممکن است همیشه نشان دهنده مقادیر حقیقی مالوندیالدئید در پلاسما و نمونه‌های بافتی نباشد [۱۲]. مطالعات اخیر بر روی ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} متمرکز شده است. ۸- ایزوپروستاگلاندین F_{2a} به لحاظ شیمیایی یک ترکیب ویژه و پایدار است و به عنوان شاخص قابل اعتماد اکسیداسیون لیپیدها پیشنهاد شده است [۱۷،۲۸،۳۰]. در این مطالعه بر عکس افزایش مالوندیالدئید توسط رژیم اتروژن، در غلظت ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} پلاسمایی و آئورتی تغیر معنی داری مشاهده نشد و این در توافق با مطالعاتی است که نشان داده اند ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} تحت تاثیر محتوای لیپیدی رژیم قرار نمیگیرد [۲۸،۳۰]. مطالعات محدودی در رابطه با اثرات ورزش بر روی ایزوپروستانها بویژه در مدلهای حیوانی موجود است و تا جایی که بررسی‌های ما نشان می‌دهند هیچ مطالعه‌ای در خصوص اثر ورزش بر محتوی عروقی ایزوپروستانها صورت نگرفته است. اما در مطالعات انسانی عدم تغییر (F2) - ایزوپروستانهای پلاسما در پاسخ به ورزش شدید منجر به ناتوانی [۲۱]، کاهش (F2) ایزوپروستانهای سرم بعد از ۷ روز ورزش [۱۰]، افزایش معنی دار ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} بعد از یک ورزش شدید و کوتاه مدت [۳۴] و همچنین بعد از ۲/۵ ساعت ورزش روی تردمیل گزارش شده است [۳۲]. ما برای اولین بار تغییرات ۸ - ایزوپروستاگلاندین F_{2a} و هوموسیستئین تام را در

جدول ۳- تاثیر ۱۲ هفته ورزش متوسط با و بدون رژیم هیپرکلسترول بر غلظت‌های مالوندیالدئید، ۸- ایزوپروستاگلاندین F_{2a} و هوموسیستئین تام در آئورت سینه‌ای خرگوش.

متغیر ها	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ۴
مالوندیالدئید (μM)	۰/۱۳±۰/۰۵	۰/۱۴±۰/۰۸	۰/۲۶±۰/۰۷*$	۰/۲۷±۰/۰۸•
۸- ایزوپروستاگلاندین $F_{2\alpha}$(pg/ml)	۸/۶±۲/۲	۵/۲±۳/۱†	۹/۲±۳/۳*	۸/۵±۴/۱•
هوموسیستئین تام (μM)	۳/۳۵±۰/۵۶	۲/۱۷±۰/۴۱†	۵/۹۷±۱/۹۳*	۵/۲۰±۱/۲•

داده‌ها به صورت mean ±SD بیان شده اند. تعداد نمونه‌ها برای هر گروه برابر۱۴ بود. اختلافات کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شدند. † گروه ۲ (رژیم استاندارد همراه با ورزش) در برابر گروه ۱(رژ۰یم استاندارد و بدون ورزش) گروه ۳ (رژیم اتروژن) در برابر گروه ۲ $ گروه ۳ در برابر گروه ۱ • گروه ۴ (رژیم اتروژن همراه با ورزش) در برابر گروه ۱ # گروه ۴ در برابر گروه ۳

ائورت سینه‌ای خرگوش اندازه‌گیری کردیم. الگوی تغییرات اما با مقادیر کمتر مشابه پلاسما بود. افزایش غلظت‌های پلاسمایی و آئورتی ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} و مالوندیالدئید در حیوانات گروه سوم ممکن است به حساسیت بالای خرگوش به تولید رادیکالهای آزاد تولید شده توسط رژیم اتروژن قابل استناد باشد و کاهش ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در حیوانات دارای رژیم استاندارد همراه با ورزش پیشنهاد کننده بهبود استرس اکسیداتیو و عملکرد اندوتلیوم توسط ورزش می‌باشد که ممکن است به قابلیت دسترسی به اکسید نیتریک که احتمالا ناشی از افزایش تولید و یا کاهش تجزیه آن توسط رادیکالهای آزاد است مربوط باشد [۳۰،۲۴]. علاوه بر این، کاهش هوموسیستئین به طوری که در مطالعه حاضر مشاهده شد، افزایش آنزیمهای آنتی اکسیدان، ظرفیت آنتی اکسیدان تام و احتمالا کلیرانس اکسیداتیو لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها ممکن است در کاهش اکسیداسیون لیپیدها و بهبود اترواسکلروزیس دخالت داشته باشند [۱]. با توجه به نقش هوموسیستئین در بیماریهای قلبی عروقی، شناسایی عوامل تاثیر گذار بر آن حایز اهمیت است. افزایش غلظت هوموسیستئین در پلاسما و آئورت با هیپرکلسترولمی حاصل از رژیم اتروژن هماهنگ بود. همچنین تغییرات ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} با هوموسیستئین در گروهای ورزش هماهنگی مثبت نشان داد. اگر چه هوموسیستئین به عنوان یک ریسک فاکتور بیماریهای قلبی عروقی تقسیم‌بندی می‌شود، اما نقش آن در توسعه اترواسکلروزیس مورد مناقشه است. بعضی مطالعات اپیدمیولوژیک عدم ارتباط یا ارتباط ضعیفی بین هوموسیستئین پلاسما و اترواسکلروزیس گزارش کرده اند. از طرف دیگر بر اساس تجربیات آزمایشگاهی هوموسیستئین تولید کلسترول را در هپاتوسیتها تحریک می‌کند [۳۷] و از این رو افزایش سطوح آئورتی و پلاسمایی هوموسیستئین ممکن است به دخالت کلسترول مربوط باشد. به عبارت دیگر متابولیسم کلسترول و هوموسیستئین ممکن است موکول به هم باشند و هوموسیستئین از طریق پیوند با سایر ریسک فاکتورها از جمله کلسترول در شروع و توسعه آترواسکلروزیس اعمال اثر نماید [۳۷،۷]. آسیب سلولهای اندوتلیال، فعال شدن پلاکتی، اثرات مضره بر بیان ترومبومودولین، فعال شدن پروتئین C، افزایش اکسیداسیون LDL-C و استرس اکسیداتیو به عنوان مکانیسم قابل امکان اعمال اثرهوموسیستئین و توسعه آترواسکلروزیس مطرح شده‌اند [۱۹،۹،۷]. پیشنهاد شده که هوموسیستئین به عنوان یک تیول دستخوش اتواکسیداسیون و اکسیداسیون با سایر تیول‌ها شده و سپس گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده، هیدروژن پراکسید و آنیون سوپر اکسید تولید استرس اکسیداتیو می‌کند [۳۳،۲۷]. نشان داده شده که کاهش هوموسیستئین پلاسما پیشرفت اترواسکلروزیس را به تاخیر انداخته و در مردانی که بیماری شریان کرونر دارند اصلاح عمل اندوتلیال را سبب می‌شود [۳۹]. لذا معقول به نظر می‌رسد که کاهش هوموسیستئین توسط ورزش منظم، بطوری که در مطالعه ما مشاهده شد، ممکن است یکی از فاکتورهایی باشد که به اثرات مفید ورزش بر روی عملکرد اندوتلیال منجر می‌شود. اگر چه در بعضی مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباط معکوسی بین سطح فعالیت فیزیکی و هوموسیستئین تام گزارش شده [۲۴]، اما در مطالعات تجربی نتایج مبهمی در خصوص اثرات ورزش حاد و مزمن بر روی هوموسیستئین حاصل شده است [۳۵ ،۲۹،۲۴]. بر عکس نتایج ما، مطالعات انسانی نشان داده‌اند که ۶ ماه ورزش غلظت سرمی هوموسیستئین تام را افزایش می‌دهد [۹]. افزایش هوموسیستئین تام در خون اسب در پاسخ به فعالیت فیزیکی زیر حداکثر مشاهده شده است [۵]. در حالی که نتایج بعضی مطالعات حاکی از عدم ارتباط یا ارتباط ضعیف بین ورزش و هوموسیستئین تام می‌باشند [۷]. عدم تغییر در غلظت هوموسیستئین بعد از ورزش حاد [۳۹]، بعد از یک دوره کوتاه بالا رفتن از پله در زنان [۴] و بعد از یک سال سبک زندگی همراه با فعالیت فیزیکی گزارش گردیده است [۱۴]. گر چه ورزش حاد بر سطوح هوموسیستئین اثر نمی‌گذارد، اما ۴ هفته فعالیت ورزشی در افراد سالم [۳] و ۶ ماه راه رفتن سریع در زنانی که اضافه وزن همراه با تخمدان پلی کیستیک داشته‌اند به کاهش سطوح هوموسیستئین پلاسما منجر شده است [۲۹]. علاوه بر این یک ارتباط معکوس بین غلظت پلاسمایی هوموسیستئین و ورزش مقاومتی در افراد میانسال نشان داده شده است [۱۱]. که مشابه یافته‌های ما در این مطالعه می‌باشد. تناقضات ذ کر شده در مطالعات مختلف ممکن است منعکس کننده اختلاف در نوع مطالعه، فرکانس، شدت و مدت ورزش و حد اکثر دریافت اکسیژن (VO_2max) و همچنین روشهای مورد استفاده جهت ارزیابی باشد. ورزش انتخاب شده در این مطالعه، ورزش منظم، متوسط و پیشرونده بود. اطلاعات

موجود حاکی از افزایش متابولیسم هوازی به عنوان منبع استرس اکسیداتیو در جریان ورزش است که بیانگر نقش محوری سیستم‌های حساس به اکسیداسیون در اختلال عملکرد سلولهای اندوتلیال و اترواسکلروزیس می‌باشد [۲۴]. تصور می‌شود بر عکس ورزش با فرکانس و شدت بال، ورزش با شدت پایین و متوسط و مدت بیشتر به کاهش غلظت هوموسیستئین منجر می‌شود. به عبارت دیگر با توجه به نوع ورزش و سایر ریسک فاکتورهای مربوطه، یک اختلاف پتانسیل در توانایی ورزش جهت تعدیل ریسک فاکتورهای بیماریهای قلبی عروقی از جمله هوموسیستئین وجود دارد [۹]. آداپتاسیون پیشرونده به ورزش ممکن است استرس اکسیداتیو سیستمیک را کاهش داده و بدینوسیله عملکرد عروقی را اصلاح نماید [۲۴]. این مکانیزم‌های حفاظتی شامل افزایش دفاع آنتی اکسیدان، کاهش تولید اکسیدان‌ها و کاهش نشت رادیکالها در جریان فسفریلاسیون اکسیداتیو می‌باشد [۲۴،۱]. استرس اکسیداتیو ملایم که با ورزش تدریجی و فزاینده حاصل می‌شود ممکن است مسئول اثرات مفید آن در کاهش غلظت هوموسیستئین، بهبود عملکرد عروقی و اترواسکلروزیس از طریق القای پاسخ‌های شریانی باشد. آنتی اکسیدانها ممکن است اکسید نیتریک را در برابر تخریب اکسیداتیو محافظت کنند و بدینوسیله فعالیت بیولوژیک آنرا افزایش دهند و این ممکن است برای تقویت دفاع آنتی اکسیدان و لذا کاهش غلظت هوموسیستئین تام در حیواناتی که ورزش کرده‌اند مورد نیاز باشد. در این مطالعه اگر چه الگوی تغییرات غلظت هوموسیستئین در خرگوش‌های دارای رژیم استاندارد و اتروژن مشابه بود اما کاهش غیر معنی دار آن در حیوانات دارای رژیم اتروژن ممکن است به استرس اکسیداتیو اضافی تحمیل شده به بافتها، کاهش ظرفیت دفاع آنتی اکسیدان، محدودیت در فعالیت بیولوژیکی اکسید نیتریک و همچنین تغییر در الاستیسیته عروق توسط کلسترول بالا نسبت داده شود [۲۴،۱۶،۱۵].

یافته‌های ما نشان دادند که ۱۲ هفته رژیم اتروژن (کلسترول ۲٪) باعث القای ضایعات اترواسکلروزی در آئورت سینه‌ای همراه با هیپرکلسترولمی و افزایش معنی دار در غلظت‌های پلاسمایی و آئورتی مالوندیالدئید ۸ – ایزوپروستاگلندین F_{2a} و هوموسیستئین تام شد. ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} می‌تواند به عنوان یک شاخص قابل اعتماد تر نسبت به مالوندیالدئید جهت آسیب اکسیداتیو و اکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته شود. اگر چه سطوح هوموسیستئین و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در همه گروهها در محدوده نرمال قرار داشتند، اما ما دریافتیم که ورزش متوسط و فزاینده ضایعات اترواسکلروزی تولید شده توسط رژیم اتروژن در آئورت سینه‌ای را کاهش داد که همراه با کاهش غلظت‌های پلاسمایی و آئورتی هوموسیستئین و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در حیوانات دریافت کننده رژیم استاندارد بود که ممکن است به تقویت دفاع آنتی اکسیدان و فعالیت بیولوژیکی نیتریک اکسید قابل استناد باشد. بخشی از محدودیت اثر ورزش بر روی غلظت‌های پلاسمایی و آئورتی هوموسیستئین و ۸ – ایزوپروستاگلاندین F_{2a} در حیوانات دریافت کننده رژیم اتروژن که با کاهش غیر معنی دار آنها همراه بود ممکن است ناشی از تغییر توانایی آنها در جهت آداپتاسیون به استرس اکسیداتیو تجمعی القا شده در اثر ورزش و کلسترول باشد.

منابع

[1] Alipour M, Mohammadi M, Zarghami N, Ahmadiasl N, Influence of chronic exercise on red cell antioxidant defense, plasma MDA and TAC in hypercholesterolemic rabbits. ***J Sport Sci Med*** 5 (2006) 682-691.

[2] Atalay M, Laaksonen DE, Diabetes, oxidative stress and physical exercise. ***J Sport Sci Med*** 1(2002) 1-14.

[3] Bailey DM, Davies B, Baker J, Training in hypoxia: modulation of metabolic and cardiovascular risk factors in men. ***Med Sci Sport Exer*** 32 (2000) 1058-1066.

[4] Boreham CA, Kennedy RA, Murphy MH, Tully M, Young I, Training effects of short bouts of stair climbing on cardiorespiratory fitness, blood lipids, and homocysteine in sedentary young women**. *Brit J Sport Med*** 39 (2005) 590-593.

[5] Chiaradia E, Gaiti A, Terracina L, Avellini L, Effect of submaximal exercise on horse homocysteinemia: Possible implications for immune cells. ***Res Vet Sci*** 7 (2005) 9-14.

[6] Clarkson PM, Thompson HS, Antioxidants what they role do they play in physical activity and health. ***Am J Clin Nutr*** 72 (2000) 637s-646s

[7] De Bree A, Monique Versehuren WM, Kromhout D,

Kluijtmans LAJ, Blom HJ, Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. ***Pharmacol Rev*** 54 (2002) 599-618.

[8] Deaton CHM, Marlin DJ, Exercise-associated oxidative stress. ???***Clin Tech Equine Practice*** 2 (2003) 278-291.

[9] Duncan GE, Perri MG, Anton SD, Limacher MC, Martin AD, Lowenthal DT Arning E, Bottiglieri T, Stacpoole Pw. Effects of exercise on emerging and traditional cardiovascular risk factors. ***Prev Med*** 39 (2004) 894-902.

[10] Galassetti PR, Namet D, Pescatello A, Rose-Gottron C, Larson J, Cooper DM, Exercise, caloric restriction, and systemic oxidative stress. ***J Inves Med*** 54 (2006) 67-75.

[11] Gaume V, Mougin F, Figard H, Simon-Rigaud ML, N'Guven UN, Callier J Kantlip Jp, Berthelot A. Physical training decreases total plasma homocysteine and cysteine in middle aged subjects. ***Ann Nutr Metab*** 49 (2005) 125-131.

[12] Gul M, Laaksonen DE, Atalay M, Vider L, Hanninen O, Effects of endurance training on tissue glutathione and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Scand J Med Sci Spor*** 12 (2002) 163-70.

[13] Hayward R, Ruangthai R, Karnilaw P, Chicco A, Strange R, McCarty H Westerlind Kc. Attenuation of homocysteine-induced endothelial dysfunction by exercise training. ***Pathophysiology*** 9 (2003) 207-214.

[14] Husemoen LL, Thomsen TF, Fenger M, Jorgensen T, Changes in lifestyle and total homocysteine in relation to MTHFR (C677T) genotype: the enter 99 study. ***Eur J Clin Nutr*** 60 (2006) 614-622 (Abstract).

[15] Jacobsen DW, Hyperhomocysteinemia and oxidative stress: real time for check? ***Arterioscler Thromb Vasc Biol*** 20 (2000) 1182-1188.

[16] Jeferson JA, simoni J, EscuderoE, Swenson ER, Hurtado ME, Johnson RJ, Hurtado A, Increased Oxidative Stress following acute and Chronic high altitude exposure. Hight All Med Biol 5 (2004) 61-9.

[17] Janssen LJ, Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology. ***Am J Physiol-Lung C*** 280 (2001) L1067-L1082.

[18] Ji LL, Antioxidants and oxidative stress in exercise. ***Exp Biol Med*** 222 (1999) 283-92.

[19] Lawrence de Koning AB, Werstuck GH, Zhou J, Austin RC, Hyperhomocysteinemia and its role in the development of atherosclerosis. ***Clin Biochem*** 36 (2003) 431-441.

[20] Ling WH, Cheng QX, Ma J, Wang T, Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits***. J Nutr*** 131 (2001) 1421-25.

[21] McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Utter AC, Dumke CL, Effect of resistance exercise and carbohydrate ingestion on oxidative stress. ***Free Radical Res*** 39 (2005) 1219-1224.

[22] Meilhac O, Ramachandran S, Chiang K, Santanam N, Parthasarathy S, Role of arterial wall antioxidant defense in beneficial effects of exercise on atherosclerosis in mice. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol*** 21 (2001) 1681-8.

[23] Meraji S, Abuja PM, Hayn M, Kostner GM, Morris R, Oraii S, Tatzber F, Wonisch W, Zechner R, Gey Kf, Relationship between classic risk factors, plasma antioxidant and indicators of oxidant stress in angina pectoris in Tehran. ***Atherosclerosis*** 50 (2000) 403-12.

[24] Napoli C, Ignarro SW, Nigris F, Lerman LO, Rossi L, Guarino C, Mansueto G, Tuoro FD, Pignalosa O, Rosa GD, Sica V, Ignarro LJ, Long-term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. ***Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America*** 101(2004) 8797-8802.

[25] Nourooz-zadeh J, Tajaddini J, MaCarty S, Betteridge DJ, Elevated levels of authentic plasma hydro peroxides in NIDDM. ***Diabetes*** 44 (1995) 1054-1058.

[26] Perna AF, Ingrosso D, Santo NG, Homocysteine and oxidative stress. ***Amino Acids*** 25 (2003) 409-417.

[27] Powers RW, Majors AK, Lykins DL, Sims CJ, Lain KY, Roberts JM, Plasma homocyateine and Malondialdehyde are correlated in an age-and gender-specific manner. ***Metabolism*** 51 (2001) 1433-1438.

[28] Pratico D, Lawson JA, Rokach J, FitzGerald GA, The isoprostanes in biology and medicine. ***Trends Endocr Met*** 12 (2001) 243-247.

[29] Randeva HS, Lewandowski KC, Drzewoski J, Brooke-Wavell K, Callaghan CO, Czupryniak L, Hillhouse EW, Prelevic GM, Exercise decreases plasma total homocysteine in overweight young women with polycystic ovary syndrome. ***Clin Endocrinol Metab*** 87 (2002) 4496-4501.

[30] Roberts CK, Vaziri ND, Barnard RJ, effect of diet and exercise intervention on blood pressure, insulin,

oxidative stress and nitric oxide availability. ***Circulation*** 106 (2002) 2530-32.

[31] Simonet S, Bailliencourt JPD, Descombes JJ, Mennecier Ph, Laubie M, Verbeuren TJ, Hypoxia causes an abnormal contractile response in the atherosclerotic rabbit aorta. ***Circul Res*** 72 (1993) 616-20.

[32] Steensbera A, Marrow J, Toft AD, Bruunsqaard H, Pedersen BK, Prolonged exercise, lymphocyte apoptosis and F2-isoprostanes. ***Eur Appl physiol*** 87 (2002) 38-42.

[33] Voutilatilainen S, Marrow JD, Roberts LJ, Alfthan G, Alho H, Nyyssonen K, Salonen JT, Enhanced in vitro lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol*** 19 (1999) 1263-1266.

[34] Warina WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR, Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. ***Clin Sci*** 105 (2003) 425-430.

[35] Wright M, Francis K, Cornwell P, Effect of acute exercise on plasma homocysteine. ***J Sport Med Phys Fit*** 3 (1998) 262-265.

[36] Yang AL, Chen HI, Chronic exercise reduces adhesion molecules/iNOS expression and partially reverses vascular responsiveness in hypercholesterolemic rabbit aorta. ***Atherosclerosis*** 169 (2003) 11-7.

[37] Zulli A, Hare DL, Buxton BF, Black MJ, High dietary methionine plus cholesterol exacerbate atherosclerosis formation in the left main coronary artery of rabbits. ***Atherosclerosis*** 176 (2004) 83-89.