

افزایش ماکروفاژهای آلوئولی و سورفکتانت ریوی رت های نر جوان پس از شش هفته تمرین تناوبی

شادمهر میردار^۱، فروغ نیستانی^۲، غلامرضا حمیدیان^۳، مهدی هدایتی^۴

۱. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران *

۲. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران

۳. استادیار بافت شناسی، دانشگاه تبریز

۴. دانشیار بیوشیمی، پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۲

چکیده

هدف این پژوهش بررسی تغییرات ماکروفاژ آلوئولی و سطوح پروتئین سورفکتانت ریوی در پی شش هفته تمرین تناوبی در رت های نر جوان بود. ۱۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سه هفته ای با میانگین وزنی $8 \pm$ گرم به طور تصادفی به گروه های پایه، کنترل و تمرین تقسیم شدند. پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و نوارگردان، شش هفته تمرین تناوبی را اجرا کردند. آزمودنی ها شش جلسه در هفته، هر جلسه ۳۰ دقیقه تمرین تناوبی را اجرا کردند. یک دقیقه فعالیت شدید با دو دقیقه استراحت فعال در ۱۰ تکرار اجرا شد. سرعت دویدن آزمودنی ها در زمان استراحت، نصف سرعت تمرین در نظر گرفته شد. اندازه گیری سطوح پروتئین سورفکتانت A با روش الایزا و درصد جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی با استفاده از روش استریولوژی بافت ریه صورت گرفت. تجزیه و تحلیل با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون LSD در سطح $P 0.05$ انجام شد. شش هفته تمرین تناوبی موجب افزایش معنی دار در سطوح سورفکتانت A نسبت به گروه پایه و کنترل به ترتیب با ۳۳،۲ و ۲۴،۲ درصد شد ($P 0.001$). همچنین درصد جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی نسبت به گروه پایه و کنترل به طور معنی داری ($P 0.001$) افزایش یافت (به ترتیب ۶۶۰ و ۱۱ برابر). با تأیید اثر تعاملی بین ماکروفاژهای آلوئولی و سورفکتانت A در مواجهه با فعالیت ورزشی، و نقش برجسته تر ماکروفاژهای آلوئولی نسبت به سورفکتانت A، نقش تنظیمی سورفکتانت A در کنترل التهاب احتمالی ناشی از ورزش و حمایت از ماکروفاژهای آلوئولی مورد انتظار است.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی، ماکروفاژهای آلوئولی، سورفکتانت، التهاب ریه، ایمنی ذاتی

مقدمه

ماکروفازهای آلوئولی یکی از عناصر هموستاز، سیستم ایمنی ذاتی و بازسازی بافت ریه تحت شرایط پایه هستند (۱) و نقش مهمی در پاتوژنز ریوی ایفا می کنند (۲). پاسخ ایمنی سلولی به برخی از ارگانیزم ها مانند باکتریها، فرآورده های باکتریایی و یا تخریب بافتی، سبب فعال شدن ماکروفازها می شوند (۱). این عناصر در دفاع میزبان افزون بر فاگوسیتوز میکروب ها، سلول های مرده میزبان را نیز به عنوان بخشی از فرایند پاکسازی بعد از عفونت یا آسیب بافتی می بلعند (۱). ماکروفازهای فعال سایتوکاین ها را ترشح می کنند و به عنوان سلول های عرضه کننده آنتی ژن، آنتی ژن ها را به لنفوسیت های T عرضه و آنها را فعال می کنند. همچنین تقویت ترمیم بافت های آسیب دیده را برعهده دارند (۳). ماکروفازهای آلوئولی بر خلاف دیگر ماکروفازهای ثابت بافتی، در یک موقعیت میکروآناتومیک خاص قرار گرفته و بر اساس تواتر تنفسی به طور مستقیم در معرض محیط خارجی هستند (۳). علاوه بر ماکروفاز آلوئولی، سورفکتانت ریوی نمایانگر رابط اولیه مواجه شده با ذرات استنشاقی خارجی است که به سطح آلوئول می رسد. سورفکتانت ترکیبی از لیپید، فسفولیپید و پروتئین است که سطح آلوئول را می پوشاند و در حفظ ثبات ساختاری آلوئول ها و تسهیل در تبادل گازهای تنفسی نقش دارد (۴). مطالعات متعدد نشان می دهد سورفکتانت با فعال نمودن برخی مکانیزم های دفاع ذاتی در حفظ ساختار و عملکرد بافت ریه نقشی حیاتی داشته (۵،۶) و در حفاظت ریه از طریق برخی سازوکارهای دفاعی میزبان ذاتی حمایت می کند (۵،۷). دو نوع پروتئین سورفکتانت ریوی شامل سورفکتانت A^۱ (فراوانترین پروتئین) و سورفکتانت D^۲ با استفاده از ساختار فضایی خود عمل شناسایی و فاگوسیتوز ذرات بیگانه را بر عهده داشته و به عنوان یک ضد التهاب و کنترل کننده فرایند التهاب عمل می کنند (۴،۸). بنابراین، بر اساس موقعیت مشترک ماکروفازهای آلوئولی و سورفکتانت در نواحی انتهایی مجاری هوایی ریه، فعل و انفعالات پیچیده ای بین این دو مولفه وجود دارد (۳،۹). به طور کلی، شواهد فراوانی در حمایت از این مفهوم وجود دارد که ماکروفازهای آلوئولی مقیم در بافت ریه به صورت جدی در متابولیسم آلوئولی سورفکتانت درگیر می شود. در مقابل، داده های تجربی کافی نیز وجود دارد که نشان می دهد سورفکتانت، و ساختار منحصر به فرد آن به شدت، رفتار ماکروفازهای آلوئول را تحت تأثیر قرار می دهد (۹). متعاقب تمرینات ورزشی تغییرات همسویی در سطوح پروتئین سورفکتانت A و درصد جمعیت ماکروفاز آلوئولی ایجاد می گردد. فعالیت ورزشی اثرات تحریکی قوی بر روی فعالیت فاگوسیتوز، فعالیت ضد توموری، اکسیژن واکنشی، متابولیسم نیتروژن و کموتاکسیک دارد. در واقع، نشان داده شده است که تمرینات ورزشی

1. Pulmonary Surfactant Protein A(SP-A)
2. Pulmonary Surfactant Protein D(SP-D)

می تواند فعالیت ضد توموری ماکروفاژهای موش ها در سنین مختلف را افزایش دهد. در مجموع، همه عملکردهای گفته شده با فعالیت ورزشی افزایش یافته است (۲۰). تمرینات شنا تا مرز خستگی (۱۰،۱۱) و دویدن روی نوارگردان با شدت متوسط (۱۲) با افزایش ماکروفاژ صفاقی موش ها و ۱۵ کیلومتر دویدن در انسان با افزایش ماکروفاژهای بافت همبند و افزایش ظرفیت فاگوسیتیک، موجب افزایش فعالیت آنزیمی و عملکرد کموتاکسیک این سلول ها می شود. یک مطالعه نشان می دهد ۱۶ هفته تمرین دویدن روی نوارگردان با شدت متوسط (۱۳) باعث افزایش سمیت سلولی تومور ماکروفاژهای صفاقی^۱ و فعالیت ضد ویروسی می شود (۱۴). در مطالعه دیگری، ۲۵ روز دویدن روی نوارگردان (۱۵ متر/دقیقه، ۳۰ متر/روز) منجر به افزایش سوخت و ساز بدن و فعالیت آنزیم لیزوزومی و افزایش فعالیت فاگوسیتوز در عملکرد ماکروفاژ صفاقی موش شد (۲۰) برخی مطالعات، نشان داده است که دو دقیقه تنفس عمیق، باعث افزایش قابل توجه در ترشح سورفکتانت می گردد (۱۵). از سوی دیگر دم و بازدم عمیق و منظم در طول اجرای تمرینات بدنسازی، نیز باعث ترشح سورفکتانت و پروستاگلاندین^۲ به فضای آلوئولی شده و با افزایش کمپلانس ریوی و کاهش تون عضلات صاف نایژه ای^۳ منجر به قابلیت افزایش حجم ریه می شود (۱۶). علاوه بر این یک جلسه (۱۷) و هفت هفته (۱۸) تمرین شدید بر چرخ کارسنج سبب تغییر ترکیبات سورفکتانت ریوی می شود. مطالعات انجام شده حاکی است اثر حاد و مزمن فعالیت ورزشی، انجام تمرینات تا مرز خستگی (۱۰،۱۱)، فعالیت های ورزشی با شدت متوسط (۱۲،۱۳،۱۴،۲۰) و فعالیت ورزشی شدید (۱۰،۲۵،۲۶) افزایش ماکروفاژهای بافت های همبند انسان، و نیز بافت صفاقی و آلوئولی در موش ها را به همراه دارد (۸،۱۲-۱۴،۲۰). از طرفی برخی مطالعات پیشین افزایش سطوح سورفکتانت ریه پیرو فعالیت ورزشی حاد (۱۷-۱۵) و مزمن (۱۶،۱۷) را گزارش کردند. ولی مطالعات محدودی در زمینه تغییر سطوح سورفکتانت A در پی فعالیت ورزشی (۱۷،۱۸) انجام شده است. در این دو مطالعه تنها تغییر نسبت اجزای سورفکتانت پس از اجرای حاد و مزمن فعالیت ورزشی مورد بررسی قرار گرفته است.

با توجه به نکات یاد شده، از آنجا که سازگاری های ناشی از تمرینات ورزشی در طی دوران بالیدگی بر پاسخ ماکروفاژهای آلوئولی و نیز سورفکتانت ریوی در مطالعات پیشین به جمع بندی روشنی نرسیده است، انتظار می رود مطالعه بافتی، اطلاعات دقیق تری از پاسخ مستقیم بافت ریه به نوع تمرینات ورزشی در اختیار پژوهشگران قرار دهد. از این رو پژوهش حاضر در صدد است به این پرسش

-
1. Peritoneal Macrophage Tumor Cytotoxicity
 2. Prostaglandin
 3. Bronchial Smooth Muscle Tone

پاسخ دهد که یک دوره تمرین تناوبی چه تأثیری بر جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی و سورفکتانت A ریوی موش های صحرائی نر نژاد ویستار در طی دوران بالیدگی دارد؟

روش پژوهش

پژوهش حاضر یک پژوهش تجربی بود. در این مطالعه ابتدا ۱۵ سرموش صحرائی نر نابالغ نژاد ویستار با سن سه هفته و میانگین وزنی 68 ± 9 گرم طی یک هفته برای سازگاری با محیط جدید و نیز یک هفته با فعالیت تناوبی یک دقیقه ای بر روی نوار گردان آشنا شدند. سپس رت ها در سه گروه پنج تایی در قفس های پلی کربنات شفاف در محیط استاندارد با دمای 23 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت و دسترسی آزادانه به غذای استاندارد پلت و آب نگه داری شدند.

مرحله آشنایی شامل چهار جلسه تمرین تناوبی (پنج تکرار، سرعت ۱۰ تا ۲۵ متر بر دقیقه) و شیب صفر درصد به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه، مطابق با الگوی برنامه ی تمرینی تناوبی اجرا شد. برنامه تمرینی تناوبی فزاینده، به صورت ۱۰ تکرار یک دقیقه ای و استراحت فعال دو دقیقه ای اجرا شد، به گونه ای کل زمان تمرین روزانه ۳۰ دقیقه طول می کشید. برنامه تمرین تناوبی با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه از پنج هفتگی شروع و در پایان دوره تمرینی به ۷۰ متر بر دقیقه رسید. تمرین تناوبی به صورت یک دقیقه فعالیت و دو دقیقه استراحت فعال با ۵۰ درصد شدت تمرین اصلی اجرا شد (جدول یک). علاوه بر زمان فعالیت اصلی، پنج دقیقه برای گرم کردن و پنج دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد. این برنامه به مدت شش هفته و هر هفته نیز جز در هفته اول در شش جلسه اجرا شد (۱۹).

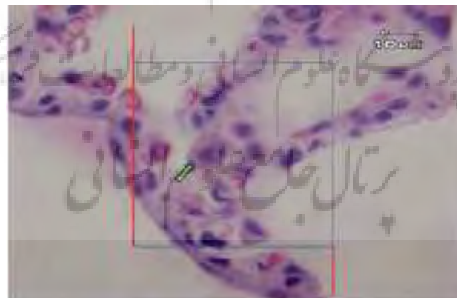
وزن تمام گروه ها دو بار در هفته قبل از شروع تمرین و در صبح ها با ترازوی آزمایشگاهی سارتریوس بی آی ۱۱۵۰۰ با دقت ۰/۰۰۱ اندازه گیری می شد.

جدول ۱- برنامه تمرینی ۶ هفته تناوبی فزاینده (۱۹)

هفته	آشنایی	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
سرعت تمرین (متر در دقیقه)	۱۰-۲۵	۲۵-۳۵	۳۰-۴۵	۴۵-۵۵	۵۰-۶۵	۶۰-۷۰	۶۵-۷۰
سرعت استراحت (متر در دقیقه)	۱۰	۱۰-۲۰	۱۵-۲۵	۲۵-۳۰	۲۵-۳۵	۳۰-۳۵	۳۰-۳۵
مدت تمرین (دقیقه)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مدت استراحت بین تکرار (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تعداد ست	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۷
تعداد جلسه در هفته	۴	۵	۶	۶	۶	۶	۶

نمونه گیری از بافت ریه رت ها قبل و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین پس از بیهوشی با کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم) انجام شد. تعیین سطوح سورفکتانت A ریه با استفاده از کیت^۱ ساخت کشور چین به روش الایزا با ضریب تغییر ۶/۸ و حساسیت ۰/۷۸ انجام شد. برای این منظور، ابتدا بافت ریه با استفاده از مایع نیتروژن پودر و سپس در محلول بافر هموژنیزه به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت آزمایشگاه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول به دست آمده برای سنجش شاخص مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد.

ریه سمت چپ حیوانات نیز به طور کامل خارج و جهت انجام مطالعات بافتی و استریولوژیک در فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از تثبیت بافت ها ابتدا با استفاده از تکنیک اورینتاتور^۲ و رعایت اصول IUR برش هایی از بافت ریه تهیه و با انجام مراحل پاساژ و آماده سازی قالب های پارافینی، با استفاده از دستگاه میکروتوم دورانی برش های متوالی به ضخامت پنج میکرومتر تهیه شد. به منظور تعیین اولین مقطع و حداقل فواصل بین مقاطع از نتایج مطالعه پایلوت استفاده گردید. در تمامی مراحل بررسی استریولوژیک، اصل نمونه گیری تصادفی یکنواخت منظم در نظر گرفته شد. در نهایت برش ها به روش استاندارد و معمول با رنگ هماتوکسیلین اتوزین^۳ مورد رنگ آمیزی قرار گرفته و زیر میکروسکوپ نوری متصل به دوربین و سیستم تمام دیجیتال^۴ مورد بررسی و تجزیه و تحلیل استریولوژیک قرار گرفتند (شکل یک). در نهایت داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و به کارگیری آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD در سطح P 0/05 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.



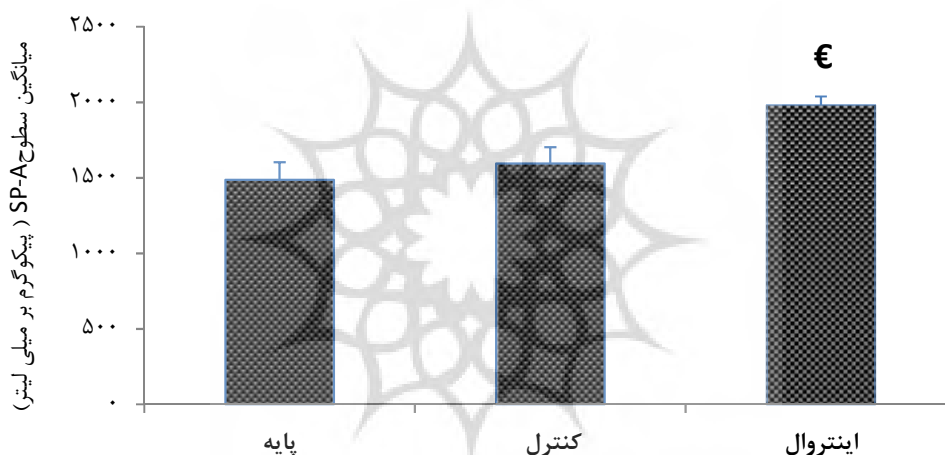
شکل ۱- نمای میکروسکوپی ماکروفاژ و نحوه قرار گیری قاب شمارش برای ارزیابی استریولوژیک در گروه کنترل (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰)

1. Wuhan Huamei Biotech
2. Orientator
3. Haematoxylin and Eosin Stain (H&E Stain)
4. Stereo Investigator Software Version 9

نتایج

یافته های پژوهش نشان داد میانگین وزن آزمودنی های گروه های کنترل ($192/4 \pm 2/84$ گرم) و تمرین ($150 \pm 1/52$ گرم) پس از شش هفته به طور معنی دار و مشابهی از گروه پایه ($68/9 \pm 9$ گرم) بیشتر بود ($P=0.001$).

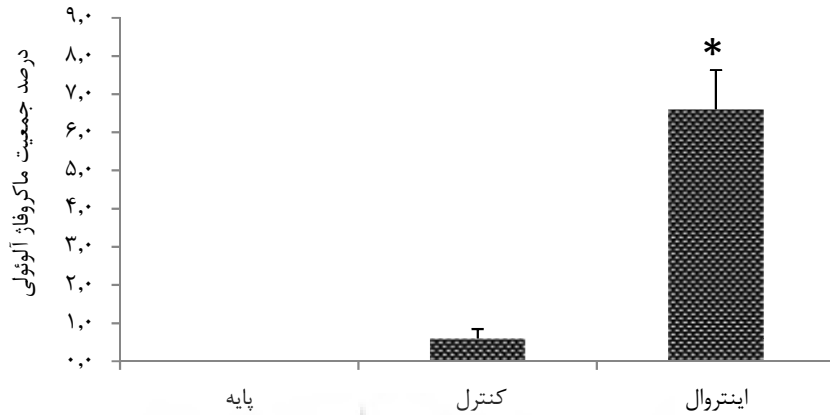
با بررسی تغییرات در گروه کنترل، به ترتیب افزایش ۷,۳ درصدی و ۶۰ برابری در سطوح سورفکتانت A و درصد جمعیت ماکروفاژهای آلوئول ریوی در طی دوران بالیدگی مشاهده شد که هیچکدام از این تغییرات معنی دار نبودند ($P > 0.05$).



شکل ۲- سطوح سورفکتانت A ریه رت ها (میانگین و خطای استاندارد).

€ نشانه معنی داری نسبت به گروه کنترل و پایه

یافته های پژوهش حاکی است در پی شش هفته تمرین تناوبی در طی دوران بالیدگی سطوح سورفکتانت A افزایش ۳۳/۲ درصدی نسبت به گروه پایه و ۲۴/۲ درصدی نسبت به گروه کنترل داشت که این تغییرات معنی دار بود ($P < 0.001$) (شکل دو). از سوی دیگر درصد جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی دچار تغییرات بیشتری نسبت به سورفکتانت A شد به طوری که افزایش معنی دار ($P < 0.001$) و ۶۶۰ و ۱۱ برابری را به ترتیب نسبت به گروه پایه و کنترل داشتند (شکل سه).



شکل ۳- درصد جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی رت ها (میانگین و خطای استاندارد).

* نشانه معنی داری نسبت گروه پایه و کنترل

نمودار لگاریتمی (شکل چهار) در راستای تغییرات متغیرهای پژوهش (شکل دو و سه) تنظیم شده است تا میزان تغییر هر یک از متغیرها را در کنار هم نشان دهد. همانطور که مشاهده می شود، شیب تغییرات ماکروفاژهای آلوئولی تندتر است. بنابراین اگرچه تمرین تناوبی فزاینده در طی بالیدگی افزایش هر دو ماکروفاژهای آلوئولی و سورفکتانت A ریه را به دنبال داشت ولی سطح بالاتر ماکروفاژهای آلوئولی نسبت به سورفکتانت A ریه نمایانگر حضور بیشتر ماکروفاژهای آلوئولی پس از تمرین تناوبی فزاینده در ریه است.



شکل ۴- ماتریکس لگاریتمی سطوح SP-A و ماکروفاژهای آلوئولار (میانگین و خطای استاندارد)

بحث و نتیجه گیری

هدف این پژوهش بررسی اثر شش هفته تمرین تناوبی بر تغییرات ماکروفاژهای آلوئولی و سطوح پروتئین سورفکتانت ریوی رت های نر جوان بود. اجرای این پروتکل تمرینی سبب افزایش ۱۱ برابری جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی نسبت به گروه پایه شد که این یافته هم سو با برخی پژوهش های پیشین بود (۸،۱۲،۱۳،۲۰). داده های پژوهش حاضر نشان داد تمرینات ورزشی ممکن است بر عملکرد ماکروفاژها تأثیر بگذارد. یک مطالعه در این زمینه حاکی است در انسان و موش، یک جلسه فعالیت ورزشی درمانده ساز تنها فعالیت فاگوسیتوز و آنزیمی ماکروفاژهای بافت همبند انسان، و نیز صفاقی و آلوئولی را افزایش می دهد (۱۲). میچنا^۱ و همکاران (۱۹۹۸) مشاهده کردند پس از یک جلسه فعالیت ورزشی شدید، عملکرد ماکروفاژهای مهاجر موش و انسان در پاسخ به عامل کموتاکسیک افزایش می یابد (۲۱). علاوه بر این، سیتواستاتیک^۲ ماکروفاژهای صفاقی موش هایی که تا مرز خستگی دویدند، افزایش یافته است (۲۲). در مطالعه ای که اثر سن بر عملکرد فاکروفاژ بررسی شد، در شرایط آزمایشگاهی، ماکروفاژهای آلوئول موش های پیر به طور کلی نیتريت اکسید بیشتری در مقایسه با همتایان جوان خود تولید کردند (۲۳). سازوکار های مسئول تغییرات ناشی از ورزش در عملکرد ماکروفاژها تا حدود زیادی ناشناخته است، اما ممکن است اثرات تمرینات ورزشی بر عملکرد ماکروفاژها به واسطه تغییرات ناشی از ورزش در دستگاه عصبی سمپاتیک و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال باشد (۲۰).

مطالعه حاضر مبین تغییرات ناشی از ورزش بر جمعیت ماکروفاژها و سطح پروتئین سورفکتانت ریوی است. بر اساس یافته های این پژوهش، تمرین تناوبی فزاینده موجب افزایش ۳۳/۲ درصدی سطح پروتئین سورفکتانت A نسبت به گروه پایه شد. با توجه به مطالعات محدود در خصوص اثر فعالیت ورزشی بر سطح اجزای سورفکتانت ریوی، یافته های این پژوهش مطالعات محدود پیشین در این زمینه را مورد تأیید قرار می دهد. تنها در دو تحقیق در دسترس در سال های ۱۹۹۴ و ۲۰۰۰، اثر فعالیت ورزشی بر ترکیبات سورفکتانت مورد بررسی قرار گرفت. بر پایه این یافته ها یک جلسه فعالیت شدید بر چرخ کارسنج به مدت ۳۰ ثانیه با شدت ۹۰ درصد ضربان قلب که در مردان سالم اجرا شد ارتباط بین کلسترول و سورفکتانت A و D مورد تأیید قرار گرفت. بر این اساس نسبت کلسترول به سورفکتانت A و D و نیز سورفکتانت A به D بلافاصله بعد از این فعالیت شدید تغییر یافت (۱۷). علاوه بر این در مطالعه دیگر، با اجرای پروتکل یاد شده در طی هفت هفته با افزایش ۲۲ درصدی بار

-
1. Michna
 2. Cytostatic

تمرین ، نسبت های سورفکتانت A و B به D، و سورفکتانت A و B به کلسترول مایع لاواژ ؛ بلافاصله بعد از ورزش افزایش معنی داری را نشان داد (۱۸).

از طرفی داده های پژوهش حاضر در مورد دو متغیر سیستم ایمنی ذاتی (ماکروفاژ آلوئولار و سورفکتانت A) از "فرضیه U معکوس" حمایت می کند که فعالیت ورزشی با شدت متوسط ممکن است پاسخ ایمنی را افزایش دهد، در حالی که فعالیت های ورزشی سنگین و یا حتی کم تحرکی بروز عفونت های ویروسی دستگاه تنفسی فوقانی را افزایش می دهد (۸،۲۴،۲۵). مطالعات تجربی، در انسان و حیوانات، نشان می دهد که تمرینات ورزشی، بر طیف گسترده ای از پارامترهای ایمنی تأثیر می گذارد و به نظر می رسد این ممکن است یک مکانیسم احتمالی پیرو حساسیت به عفونت باشد (۲۶). تمرینات ورزشی حاد و مزمن می تواند بر بسیاری از جنبه های زیست شناختی ماکروفاژ تأثیر بگذارد و اثرات تحریکی قوی بر روی فعالیت فاگوسیتوز، فعالیت ضد توموری، مهار اکسیژن واکنشی، متابولیسم نیتروژن و کموتاکسیک داشته باشد یافته های فوق این پیشنهاد را مطرح کرده است که تمرینات ورزشی و برخی استرس های احتمالی، ماکروفاژها را برای عملکردهای موثر فعال می کنند (۲۰). مطالعاتی در حمایت از یک تعامل پویا میان ماکروفاژهای آلوئولار و سورفکتانت ریوی در هر دو وضعیت سلامت و بیماری وجود دارد که این ارتباط ممکن است پیامدهای مهمی برای مدیریت و درمان بیماری های مختلف ریه داشته باشد (۹).

نمودار لگاریتمی سطح سورفکتانت A و ماکروفاژهای آلوئولی آزمودنی های پژوهش (شکل ۴) حاکی از افزایش بیشتر درصد جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی در مقایسه با سطح سورفکتانت A بود که ممکن است با دو سازوکار احتمالی زیر مرتبط باشد. نخست اینکه علاوه بر فاگوسیتوز و خواص ایمنی ذاتی ماکروفاژهای آلوئولی در بخش انتهایی هوایی و نیز درون فضای آلوئولی، شواهد قوی در حمایت از نقش ماکروفاژهای آلوئولی مقیم بافت ریه در حفظ هموستاز سورفکتانت آلوئولی وجود دارد. در ریه سالم، اندازه مخزن و عملکرد سورفکتانت ریوی از طریق فرآیندهایی شامل سنتز، ترشح، بازجذب، بازیافت و کاتابولیسم، حفظ می شود. شواهد فراوانی در حمایت از نقش ماکروفاژهای آلوئولی مقیم بافت ریه در کمک به از بین بردن مداوم اجزای سورفکتانت از مجاری هوایی وجود دارد (۹،۲۷). نتایج مطالعات پیشین نشان می دهد که عدم وجود کاتابولیسم سورفکتانت توسط ماکروفاژهای آلوئولی یکی از عوامل اصلی در افزایش اندازه مخزن سورفکتانت است (۲۸). شواهد بیشتر با استفاده از یک القای درون تراشه دیکلرو-متیلن-دیفسفونات^۱ لیپوزومها در موش ها نشان داد که جمعیت ماکروفاژهای آلوئولی منجر به افزایش نه برابری مخزن سورفکتانت ریوی در طی هفت روز شد (۳).

در مجموع، این داده‌ها اهمیت ماکروفاژهای آلوئولی را در حفظ اندازه مخزن سورفکتانت طبیعی نشان می‌دهد که در راستای پژوهش حاضر است. نکته حائز اهمیت دیگر وضعیت نسبتاً پایدار جمعیت آلوئولی ماکروفاژها در شرایط پایه است. با این حال، تعداد ماکروفاژها در مجاری هوایی تمایل به افزایش قابل توجهی تحت شرایط شش هفته تمرین تناوبی فزاینده داشت. به طور کلی، افزایش در تعداد ماکروفاژها از طریق فرخوانی مونوسیت‌های محیطی از گردش خون و متعاقب آن تمایز این سلول‌ها به ماکروفاژهای ثابت بافت ریه در فضاهای آلوئولی رخ می‌دهد. همچنین نفوذ ماکروفاژهای مقیم ریه از بافت بینابینی منجر به افزایش جمعیت ماکروفاژهای مجزا در فضای آلوئولی می‌شود، که هر کدام نقش خاصی را در طول واکنش التهابی حاد و رفع آسیب بافت ریه ایفا می‌کنند. در طول مراحل از بین بردن التهاب، این ماکروفاژهای فراخوان شده دست‌خوش کاهش آپوپتوز موضعی^۱ با بیان سطح بالایی از گیرنده سطحی مرگ محدود^۲ می‌شوند (۲۹).

مطالعاتی از این دست نشان می‌دهد که در تنظیم پاسخ التهابی حاد، ماکروفاژهای آلوئولی مقیم بافت ریه و نیز فراخوانی ماکروفاژهایی از نواحی دیگر به درون مجاری هوایی ممکن است نقش مستقلی را در هر دو فاز حاد و برطرف سازی آسیب و التهاب ناشی از آن بازی کنند (۹،۳۰). اگر چه مشارکت بالقوه سورفکتانت در این فرآیند گسترده است، اما مطالعات محدودی اثرات افتراقی سورفکتانت در مقابل ماکروفاژهای آلوئولی بافت ریه را مورد بررسی قرار داده‌اند. از طرفی سیستم سورفکتانت نقش پیچیده‌ای در روندهایی دارد که منجر به بروز فنوتیپ منحصر به فرد ماکروفاژ آلوئولی می‌شود. در این راستا، به طور گسترده پروتئین سورفکتانت A و D مورد مطالعه قرار گرفته است (۳۱). هر دو شرایط آزمایشگاهی و طبیعی نشان داده‌اند که هر دو سورفکتانت به عنوان اپسینین^۳ها عمل می‌کنند و در نتیجه باعث افزایش فاگوسیتوز پاتوژن استنشاقی می‌شوند (۳۲). همچنین سورفکتانت A در انسان قادر است ماکروفاژها را از طریق مسیر سیگنالینگ فسفوااینوسیتید/کلسیم^۴ فعال کند (۳۳) و افزایش فاگوسیتوز را تنظیم کند (۳۴). سورفکتانت A در موش صحرایی، سگ و انسان می‌تواند فعالیت اکسیداتیو در ماکروفاژها و افزایش تکثیر لنفوسیت را تحریک کند (۳۵). این ترکیب همچنین می‌تواند باعث انفجار تنفسی در ماکروفاژهای موش و انسان شده و کموتاکسی ماکروفاژهای فعال شده را نیز افزایش دهد (۳۶).

ماکروفاژهای آلوئولی موش‌های آزمایشگاهی با اجرای تمرینات ورزشی مزمن، ترشح سایتوکاین‌ها و نیتریک اکساید را افزایش می‌دهند (۲۳). نیتریک اکساید ترشح شده توسط ماکروفاژها، نقش‌های

-
1. Local Apoptotic
 2. Surface Death Receptor
 3. Opsonin
 4. Phosphoinositide/Calcium Signaling

تعدیل کننده متعددی در التهاب دارد (۳۷). همچنین نشان داده شده است، سورفکتانت A انسان و موش با افزایش تولید نیتریک اکسید موجب افزایش ماکروفاژهای آلوئول ها موش می شود (۳۸). همچنین سورفکتانت A، انتشار واسطه های التهابی توسط ماکروفاژهای آلوئولی را تنظیم کرده و در نتیجه بر واکنش های التهابی ذاتی در داخل ریه تأثیر می گذارد (۵).

یافته های پژوهش حاضر حاکی از اثر تعاملی ماکروفاژهای آلوئولی و پروتئین سورفکتانت ریوی در مواجهه با شش هفته تمرین تناوبی فزاینده است، به طوری که ماکروفاژهای آلوئولی نقش برجسته تری نسبت به پروتئین سورفکتانت A ایفا کرده اند و سورفکتانت A با توجه به نقش تنظیمی مهم خود در سیستم ایمنی ذاتی و التهاب احتمالی ناشی از ورزش نقش موثری بر عملکرد ماکروفاژهای آلوئولی داشته است. با توجه به افزایش ماکروفاژهای آلوئولی و پروتئین سورفکتانت A، به عنوان شاخص های التهابی، به کارگیری تمرینات تناوبی با شدت بالا در مرحله بالیدگی نیازمند تأمل جدی است. پیشنهاد می شود در مطالعات آینده، تمرینات ورزشی با شدت های مختلف در دوره های سنی متفاوت بر عناصر سورفکتانت ریوی و ماکروفاژهای آلوئولی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1. Wang J, Nikrad MP, Travanty EA, Zhou B, Phang T, Gao B, et al. Innate immune response of human alveolar macrophages during influenza A infection. *PLoS One*. 2012;7(3): 29879.
2. Holian A, Scheule R. Alveolar macrophage biology. *Hospital practice (Office ed)*. 1990;25(12):53-62.
3. Forbes A, Pickell M, Foroughian M, Yao L-J, Lewis J, Veldhuizen R. Alveolar macrophage depletion is associated with increased surfactant pool sizes in adult rats. *Journal of Applied Physiology*. 2007;103(2):637-45.
4. Kishore U, Bernal AL, Kamran MF, Saxena S, Singh M, Sarma PU, et al. Surfactant proteins SP-A and SP-D in human health and disease. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis-english edition*. 2005;53(5):399.
5. Khubchandani KR, SNYDER JM. Surfactant Protein A (SP-A): the alveolus and beyond. *The Faseb Journal*. 2001;15(1):59-69.
6. Voelker DR, McCormack FX, Beharka LSAA, Gaynor CD, Kang BK. Pulmonary Surfactant Protein A. *J Immunol*. 2002; 169: 3565-73.
7. McCormack FX, Whitsett JA. The pulmonary collectins, SP-A and SP-D, orchestrate innate immunity in the lung. *Journal of Clinical Investigation*. 2002;109(6):707-12.
8. Davis J, Kohut M, Colbert L, Jackson D, Ghaffar A, Mayer E. Exercise, alveolar macrophage function, and susceptibility to respiratory infection. *Journal of Applied Physiology*. 1997;83(5):1461-6.
9. Yamashita C, Veldhuizen R, Gill S. Alveolar macrophages and pulmonary surfactant—more than just friendly neighbours. 2013.

10. Ortega E, Rodriguez M, Barriga C, Forner M. Corticosterone, prolactin and thyroid hormones as hormonal mediators of the stimulated phagocytic capacity of peritoneal macrophages after high-intensity exercise. *International journal of sports medicine*. 1996;17(2):149-55.
11. Ortega E. Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: physiological implications. *Exerc Immunol Rev*. 2003;9(1):70-93.
12. Fehr H, Lötzerich H, Michna H. The influence of physical exercise on peritoneal macrophage functions: histochemical and phagocytic studies. *International journal of sports medicine*. 1988;9(1):77-81.
13. Lu Q, Ceddia M, Price E, Ye S-M, Woods J. Chronic exercise increases macrophage-mediated tumor cytolysis in young and old mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1999;276(2): 482-9.
14. Murphy E, Davis J, Brown AS, Carmichael MD, Mayer EP, Ghaffar A. Effects of moderate exercise and oat β -glucan on lung tumor metastases and macrophage antitumor cytotoxicity. *Journal of Applied Physiology*. 2004;97(3):955-9.
15. Sivakumar G, Prabhu K, Baliga R, Pai MK, Manjunatha S. Acute effects of deep breathing for a short duration (2-10 minutes) on pulmonary functions in healthy young volunteers. 2011.
16. Hiremath S, Bidare C, Karne SL, Puranik N. Does Bodybuilding Affect the Pulmonary Function Tests? 2012.
17. Doyle IR, Jones ME, Barr HA, Orgeig S, Crockett AJ, McDonald CF, et al. Composition of human pulmonary surfactant varies with exercise and level of fitness. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1994;149(6):1619-27.
18. Doyle IR, Morton S, Crockett AJ, Barr HA, Davidson KG, Jones MJ, et al. Composition of alveolar surfactant changes with training in humans. *Respirology*. 2000;5(3):211-20.
19. Mirdar sh, Arab E, Hedayati, M. (In Persian) The effect of 6 weeks of interval training on the levels of HIF-1 lungs are mature rats. *Sport physiology , Research on sports sciences*. 2014; 6 (23): 125-136.
20. Woods J, Lu Q, Lowder T. Exercise-induced modulation of macrophage function. *Immunology and cell biology*. 2000;78(5):545-53.
21. Michna H. The human macrophage system: activity and functional morphology. *Bibliotheca anatomica*. 1987 (31):1-84.
22. Lötzerich H, Fehr H, Appell H. Potentiation of cytostatic but not cytolytic activity of murine macrophages after running stress. *International journal of sports medicine*. 1990;11(1):61-5.
23. Kohut ML, Senchina DS, Madden KS, Martin AE, Felten DL, Moynihan JA. Age effects on macrophage function vary by tissue site, nature of stimulant, and exercise behavior. *Experimental gerontology*. 2004;39(9):1347-60.
24. Martin SA, Pence BD, Woods JA. Exercise and respiratory tract viral infections. *Exercise and sport sciences reviews*. 2009;37(4):157.

25. Nieman DC, Johanssen LM, Lee J, Arabatzis K. Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *J Sports Med Phys Fitness*. 1990;30(3):316-28.
26. Woods JA, Davis JM, Mayer EP, Ghaffar A, Pate RR. Exercise increases inflammatory macrophage antitumor cytotoxicity. *Journal of Applied Physiology*. 1993;75(2):879-86.
27. Wright JR, Dobbs LG. Regulation of pulmonary surfactant secretion and clearance. *Annual review of physiology*. 1991;53(1):395-414.
28. Trapnell BC, Whitsett JA. GM-CSF regulates pulmonary surfactant homeostasis and alveolar macrophage-mediated innate host defense. *Annual review of physiology*. 2002;64(1):775-802.
29. Janssen WJ, Barthel L, Muldrow A, Oberley-Deegan RE, Kearns MT, Jakubzick C, et al. Fas determines differential fates of resident and recruited macrophages during resolution of acute lung injury. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011;184(5):547-60.
30. Maus UA, Janzen S, Wall G, Srivastava M, Blackwell TS, Christman JW, et al. Resident alveolar macrophages are replaced by recruited monocytes in response to endotoxin-induced lung inflammation. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2006;35(2):227-35.
31. Haagsman HP, Hogenkamp A, Van Eijk M, Veldhuizen EJ. Surfactant collectins and innate immunity. *Neonatology*. 2008;93(4):288-94.
32. Pikaar JC, Voorhout WF, van Golde LM, Verhoef J, Van Strijp JA, van Iwaarden JF. Opsonic activities of surfactant proteins A and D in phagocytosis of gram-negative bacteria by alveolar macrophages. *Journal of Infectious Diseases*. 1995;172(2):481-9.
33. Ohmer-Schrock D, Schlatterer C, Plattner H, Schlepper-Schafer J. Lung surfactant protein A (SP-A) activates a phosphoinositide/calcium signaling pathway in alveolar macrophages. *Journal of cell science*. 1995;108(12):3695-702.
34. Gaynor CD, McCormack FX, Voelker DR, McGowan SE, Schlesinger LS. Pulmonary surfactant protein A mediates enhanced phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis* by a direct interaction with human macrophages. *The Journal of Immunology*. 1995;155(11):5343-51.
35. Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nature Reviews Immunology*. 2005;5(1):58-68.
36. Van Iwaarden F, Welmers B, Verhoef J, Haagsman HP, van Golde LM. Pulmonary surfactant protein A enhances the host-defense mechanism of rat alveolar macrophages. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 1990;2(1):91-8.
37. Ikezumi Y, Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ. Interferon- γ augments acute macrophage-mediated renal injury via a glucocorticoid-sensitive mechanism. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2003;14(4):888-98.

38. Borron P, McIntosh JC, Korfhagen TR, Whitsett JA, Taylor J, Wright JR. Surfactant-associated protein A inhibits LPS-induced cytokine and nitric oxide production in vivo. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2000;278(4): 840-7.

ارجاع دهی

میردار شادمهر، نیستانی فروغ، حمیدیان غلامرضا، هدایتی مهدی. افزایش ماکروفاژهای آلوئولی و سورفکتانت ریوی رت های نر جوان پس از شش هفته تمرین تناوبی. *فیزیولوژی ورزشی*. زمستان ۱۳۹۶؛ ۹(۳۶): ۵۹-۷۲. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2018.2114.1281

Mirdar Sh, Naiestany F, Hamidian Gh, Hedayati M. Increment of Alveolar Macrophages and Pulmonary Surfactant of Young Male Rats after Six Weeks Interval Training. *Sport Physiology*. Winter 2018; 9(36): 59-72. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2018.2114.1281

Increment of Alveolar Macrophages and Pulmonary Surfactant of Young Male Rats after Six Weeks Interval Training

Sh. Mirdar¹, F. Naiestany², Gh. Hamidian³, M. Hedayati⁴

1. Associate Professor of Sport Physiology, University of Mazandaran*
2. M.Sc. Student in Sport Physiology, University of Mazandaran
3. Assistant Professor of Histology, University of Tabriz
4. Associate Professor of Biochemistry, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences

Received: 2016/02/01

Accepted: 2016/10/29

Abstract

This study aims to investigate changes of Alveolar macrophage and protein levels of pulmonary surfactant due to the six weeks of interval training on young male rats. Fifteen male Wistar rats strain in age by 3-weeks with average weight of 68 ± 9 g, were randomly divided into three experimental of basic, control and training groups. Progressive interval training was performed for six weeks after 2 weeks of familiarity with the lab and the treadmill. Exercises were performed for six days a week, 30-min during each interval training session. Training was carried out 1-min of arduous exercise with 2-min active rest interval in ten repetitions. Half of the training speed was considered for treadmill running speeds of trained rates in period of rest time. Surfactant protein A (SP-A) levels was measured by ELISA method and also Alveolar macrophages population percentages were measured by using Stereology of lung tissue method before and after the training program. Data were analyzed by ANOVA and LSD test at $P < 0.05$. Six weeks of progressive interval training significantly increased SP-A ($P < 0.001$) compared to the basic and control groups (32.2 and 24.2 percent respectively). Moreover, these trains significantly increased Alveolar macrophage population percentage than the basic and control groups at $P < 0.001$ (660 and 11- fold respectively). Physical activities confirmed the interaction effect of Alveolar macrophage and SP-A while, Alveolar macrophage had a more prominent role than the SP-A. It is expected that SP-A had a regulatory role in controlling inflammation and protection of the alveolar macrophage.

Keywords: Alveolar Macrophage, Interval Training, Surfactant, Lung Inflammation, Innate Immune

*Corresponding Author

Email: sh.mirdar@umz.ac.ir