مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین ورزشی شنا بر VEGF-A و FGF-2 بافت هیپوکمپ و شاخص لی در رت‌های نر نژاد ویستار

مجتبی صادق قمی[1*]، مجید کاشف[2]، مجتبی صالح پور[3]

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی، تهران، ایران

۲- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی، تهران، ایران

* نشانی نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی، دانشکده علوم ورزشی

Email: Mojtabasadeghghomi@sru.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲

چکیده

مقدمه و هدف: افزایش پروتئین‌های مرتبط با خون‌رسانی در بافت هیپوکمپ متعاقب تمرین ورزشی شنا احتمالاً می‌تواند از بروز بیماری‌های مغزی مانند آلزایمر جلوگیری کند. هدف تحقیق حاضر تعیین تأثیر هشت هفته تمرین ورزشی شنا بر سطوح VEGF-A و FGF-2 بافت هیپوکمپ و شاخص لی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۶ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر به طور تصادفی در ۲ گروه هشت سری (تمرین شنا وکنترل) تقسیم شدند. گروه تمرین ورزشی شنا هشت هفته، هر هفته ۵ روز متوالی برای ۶۰ دقیقه در آب با دمای ۲±۳۲ درجه سانتی‌گراد تمرین کردند. برای اندازه گیری سطوح VEGF-A و FGF-2 از روش الایزا، برای اندازه‌گیری شاخص لی از اندازه‌گیری قد و وزن و برای آزمون فرضیه‌ها از آزمون‌های تی مستقل، یومن ویتنی و ویلکاکسون در سطح P≤۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین شنا با افزایش معنا دار VEGF-A (P =۰/۰۰۲) و FGF-2 (P =۰/۰۰۰) هیپوکمپ نسبت به گروه کنترل همراه بود. به علاوه هشت هفته تمرین شنا باعث کاهش معنا دار شاخص لی و بهبود توده بدنی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی گردید (P =۰/۰۱۲).

بحث و نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین شنا، باعث افزایش عوامل موثر در رگ زایی در بافت هیپوکمپ و بهبود توده بدنی موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین ورزشی شنا، هیپوکمپ، VEGF-A، FGF-2، شاخص لی

مقدمه

در بدن انسان متعاقب تمرینات ورزشی، تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک عمده ای در جهت برطرف کردن شرایط استرسی ناشی از فعالیت ورزشی و بهبود عملکرد رخ می دهد (۱). یکی از مهم ترین سازگاری های حاصله در سطح عضله اسکلتی و قلبی، افزایش چگالی مویرگی یا آنژیوژنز است. پیدایش و تکوین عروق جدید، قابلیتی برای تنظیم پاسخ های فیزیولوژیکی از طریق افزایش جریان خون محیطی و فراهمی اکسیژن است (۱،۲). عملکرد بافت‌های مختلف به طور مستقیم به شبکه عروقی آن بافت وابسته است. آنژیوژنز به معنای رشد و تکامل عروق خونی جدید از طریق جوانه زدن سلول های اندوتلیال عروق موجود (آنژیوبلاست) است. آنژیوژنز در حالت‌های فیزیولوژیک مثل چرخه تولید مثل، بهبود زخم‌ها و رشد و نمو و همینطور در حالت های پاتوفیزیولوژیک مثل دیابت، روماتوئید آرتریت و سرطان نقش دارد (۳). در بدن عوامل آنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک زیادی وجود دارند. در

بافت‌های طبیعی عوامل آنتی‌آنژیوژنیک بیشتر از عوامل آنژیوژنیک بوده و بنابراین رگ زایی اتفاق نمی‌افتد. شرایطی مانند هایپوکسی، کاهش PH، افزایش اسید لاکتیک، پاسخ‌های ایمنی و التهابی باعث افزایش غلظت عوامل آنژیوژنیک و کاهش غلظت عوامل آنتی آنژیوژنیک می شود و این بر هم خوردن تعادل محرک رگ زایی است (٤،٥،٦). مهم ترین فاکتورهای آنژیوژنز، عامل رشدی اندوتلیالی عروق (VEGF)[1] و عامل رشدی فیبروبلاستی(FGF)[2] هستند (٥،٦). با توجه به مطالعات انجام شده، آنژیوژنز یک سازگاری حیاتی با تمرینات ورزشی است. فعالیت ورزشی شدید باعث کاهش فشار اکسیژن داخل سلولی و در نهایت تحریک فرآیند آنژیوژنز می شود. عاملی که باعث تحریک این پدیده به وسیله تمرینات ورزشی می شود، کاهش فشار سهمی اکسیژن است (٧). از طرفی دیگر مشخص گردیده است که VEGF علاوه بر تحریک رگ زایی اثرات مستقیمی بر انواع نورون‌ها از جمله سلول‌های بنیادی دارد؛ به طوری که گزارش شده است که کاهش مقادیر VEGF باعث تخریب نورونی می گردد (٨). همچنین با توجه به اثرگذاری VEGF و FGF در خون‌رسانی و مشاهده نقص خون‌رسانی در بیماری‌هایی همچون آلزایمر و هانگتینتون (٩،١٠) به نظر می رسد که VEGF و FGF یکی از عوامل تأثیر گذار در این بیماری ها باشند. با توجه به اثرات تحریکی VEGF بر آکسون‌زایی (١١)، تحریک رشد و بقایای سلول های شوان در شرایط هایپوکسی (١٢)، افزایش و تکثیر مهاجرت آستروسیت‌ها و میکروگلیاها (١٣،١٤)، تقویت نوروژنز و اثرات تروفیکی بر نورون‌ها و گلیاها در CNS[3] و PNS[4] به نظر می‌رسد VEGF علاوه بر اثرات آنژیوژنزی و سلامت عروق به عنوان یک عامل مهم دارای اثرات حفاظتی و تروفیکی برای نورون‌ها می‌باشد (١٥) که به عوامل گسترده‌ای همچون هورمون‌ها، فاکتورهای رشدی و غلظت اکسیژن بستگی دارد (١٨- ١١،١٦).

یوسال و همکاران (٢٠١٤) در تحقیقی تاثیرات فعالیت ورزشی اختیاری و اجباری را بر عملکردهای ذهنی و سطوح VEGF و BDNF[5] هیپوکمپ در رت‌های نوجوان بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که یادگیری‌ها و عملکردهای ذهنی و سطوح VEGF و BDNF هیپوکمپ در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافت (١٩). همچنین هونگ و همکاران (٢٠٠٦) اثر سه هفته تمرین استقامتی را بر مقادیر mRNA آنژیوپویتین ١ و ٢ و VEGF و چگالی مویرگی در استراتوم و قشر موش‌های صحرایی سالمند نژاد ویستار سنجیدند. یافته‌های این پژوهشگران نشان از افزایش چگالی مویرگی، افزایش مقادیر پروتئین VEGF و mRNA فاکتور های یاد شده داشت .از طرف دیگر سکته مغزی سومین سازه مرگ و میر در امریکاست (٢٠). همچنین بر اساس اطلاعات اپیدمیولوژیک موجود، گروهی از کارشناسان تخمین زده‌اند که امروز، ٢٤/٣ میلیون نفر از مردم دنیا به زوال عقل مبتلا هستند و ٤/٦ میلیون مورد جدید از زوال عقل در هر سال (هر ٧ ثانیه یک مورد) نیز اضافه می شوند. از طرفی دیگر نتایج مطالعات انجام شده در خصوص تأثیر فعالیت ورزشی مختلف بر سطوح VEGF و FGF متفاوت بوده است. یوسال و همکاران(٢٠١٤) ؛ در تحقیقی با عنوان تاثیرات فعالیت ورزشی اختیاری و غیر اختیاری بر عملکرد های ذهنی و سطوح VEGF وBDNF در رت های نوجوان به این نتیجه رسیدند که یادگیری در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل بهبود یافت. همچنین سطوح VEGF وBDNF هیپوکمپ در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت (١٩). در حالی که بریسیوس و همکاران (٢٠٠٨)؛ در تحقیقی ٢١ مرد چاق ٥٠ تا ٦٠ ساله را به سه گروه ، دویدن بر روی تردمیل، دوچرخه سواری و کنترل تقسیم کردند. گروه‌های تمرینی، دویدن (٦٠ دقیقه) و دوچرخه سواری (٩٠ دقیقه) را با شدت دو تا چهار میلی مول لاکتات، سه روز در هفته به مدت شش ماه انجام دادند. بعد از تمرینات مقادیر VEGF و bFGF پلاسما در هر سه گروه تغییر چندانی نکرد، اما مقادیر اندوستاتین پلاسما در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافت (٢١).

همچنین به دلیل نقش تمرینات استقامتی دارای تحمل وزن مانند دویدن، طناب زدن، پیاده‌روی کردن در سلامت جسمانی، استفاده از این‌گونه تمرینات بسیار توصیه شده است، اما هر چند که این تمرینات به لحاظ متابولیکی تقاضای انرژی بالاتری نسبتا به تمرینات استقامتی عدم تحمل وزن مانند شنا دارند، یکی از دلایل اصلی نپرداختن به این تمرینات استقامتی دارای تحمل وزن، خسته کننده بودن و فشار بیشتر به مفاصل خصوصا برای افراد عادی در جامعه کنونی می‌باشد. از این رو

1. Vascular Endothelial growth factor
2. Fibroblast Growth factor
3. Central nervous system
4. Peripheral nervous system
6. Brain Derived Neurotrophic Factor

انتخاب روش‌تمرینی مناسب و پر نشاط که دارای مزایای سلامتی و فشار کمتر به مفاصل خصوصا برای بافت مغز باشد، مورد توجه متخصصان علوم ورزشی قرار گرفته است. هرچند که بر اثرگذاری تمرینات مختلف بر VEGF و FGF سرم و بافت عضله اسکلتی نمونه های سالم و دارای بیماری های قلبی تحقیقات مختلفی صورت گرفته است (۲۸-۲۲)؛ اما اثرات تمرین ورزشی شنا بر سازگاری در بافت هیپوکمپ و میزان تاثیرگذاری آن ها بر VEGF-A و خصوصا FGF-2 کمتر سنجیده شده است. بنابراین هدف تحقیق حاضرتعیین تأثیر هشت هفته تمرین ورزشی شنا بر سطوح VEGF-A و FGF-2 بافت هیپوکمپ و شاخص لی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار بود.

روش‌شناسی

تحقیق حاضر به لحاظ هدف توسعه‌ای، به لحاظ روش تجربی و به لحاظ شیوه اجرا آزمایشگاهی و با مدل حیوانی بوده و در یک طرح دوگروهی با پیش آزمون و پس آزمون انجام شد. در این تحقیق سعی شد تا تمامی متغیر های تحقیق کنترل شود. این متغیر ها شامل آب و غذای یکسان، دما و رطوبت نگهداری یکسان (۳±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۵۵٪)، چرخه خواب و روشنایی یکسان (۱۲:۱۲، ۸ شب تا ۸ صبح)، جنسیت و وضعیت سلامتی یکسان (همگی نر و سالم)، زمان تمرین یکسان (بعد از ظهر ساعت ۱۷-۱۵) و نیز محل نگهداری یکسان (قفس‌های پلی‌کربناتی در حیوان خانه دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی) بودند. بدین منظور تعداد ۱۶ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۷/۱۷±۲۳۷/۱۹ گرم و میانگین سنی ۱±۷/۵ هفته خریداری شدند. بعد از خریداری، موش‌ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه برای سازگاری با محیط قرار گرفتند و پس از تعیین شدن همگنی واریانس وزن موش‌ها با آزمون لوین، به طور تصادفی در دو گروه مساوی ۸ سری ، شامل گروه تمرین ورزشی شنا و کنترل تقسیم شدند. کلیه مراحل تمرین و اجرای تحقیق مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی وزارت علوم تهران با کد IR.SSRI.REC.1397.278 و کد ردیابی ٤٥٦١٤ درباره تغذیه، مراقبت، بهداشت و تشریح موش‌های بزرگ آزمایشگاهی انجام گردید.

پروتکل برای گروه تمرین ورزشی شنا شامل ۲ فاز بود. فاز اول، سازگاری با محیط تمرین یا آشنا سازی با تمرین بود و فاز دوم تمرین اصلی برای موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار بود. موش‌های گروه تمرین ورزشی شنا در آب، به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس القایی آب و سازگاری با محیط تمرین بعد از یک هفته سازگاری با محیط نگهداری، در هفته دوم به استخر شنا مخصوص حیوانات آزمایشگاهی منتقل شدند و برای ۵ جلسه متوالی در یک هفته و هربار به مدت ۱۰ دقیقه به تمرین پرداختند. استخر شنای مخصوص موش بزرگ آزمایشگاهی با ابعاد کلی ۹۰ سانتی‌متر طول، ٦٠ سانتی‌متر عرض و ۱۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین ارتفاع داشت و از ٦ محفظه ۳۰ ×۳۰ تشکیل می‌شد که با ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از کف استخر از آب پر می‌شد و یک موتور متصل به جریان الکتریسیته برای ایجاد تلاطم با شدت ثابت در کف هر محفظه قرار داشت. این محفظه‌ها با استفاده از شیشه ۵ میلی‌متری و بست مخصوص و چسب آکواریوم تشکیل شده بودند. برای گرم کردن آب استخر، از گرم کننده مخصوص استخر استفاده می شد تا دمای آب در محدوده ٣٤-٣٠ درجه سانتی گراد حفظ گردد. در شروع هفته سوم موش‌ها برای مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ روز و هر روز به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آب ۲±۳۲ درجه سانتی‌گراد به تمرین اصلی شنا پرداختند و مدت تمرین شنا برای اعمال اصل اضافه بار به تدریج افزایش یافت به طوری که در ابتدای هفته ششم به ٦٠ دقیقه رسید و در مرحله حفظ در هفته‌های هفتم و هشتم مدت تمرین شنا، ٦٠ دقیقه بود. در ابتدا و انتهای هر جلسه ۵ دقیقه گرم و سرد کردن برای موش‌های بزرگ آزمایشگاهی با موتور خاموش در نظر گرفته شد (۲۹). برای خشک‌کردن موش‌ها از حوله‌های خشک و تمیز و بدون دستگاه حرارتی مانند سشوار استفاده شد.

جدول ۱. پروتکل تمرین در آب

کل دوره تمرین	تواتر در هفته	گرم کردن (دقیقه)	مدت تمرین (دقیقه)	سرد کردن (دقیقه)	دمای آب (درجه سانتی‌گراد)
۸ هفته	۵ روز متوالی	۵ دقیقه	۶۰-۱۵	۵ دقیقه	۳۲±۲

موش‌های گروه کنترل بدون هیچ تمرین ۸ هفته را پشت سر گذاشتند. در طول این مدت موش‌های گروه کنترل استرس دست تمرین‌دهنده را برای یکسان شدن با گروه تمرین ورزشی شنا دریافت می‌کردند. برای اثبات کفایت تمرین و تأثیر آن، متغیر تثبیت‌کننده شاخص لی[1] در ابتدا و انتهای ۸ هفته برای گروه تمرین ورزشی شنا اندازه گیری شد. منظور از شاخص لی ریشه سوم وزن بر حسب گرم تقسیم بر فاصله پوزه تا بینی موش بزرگ آزمایشگاهی بر حسب میلی‌متر ضربدر ۱۰ است که بیانگر ترکیب بدنی در موش‌های صحرایی است و میزان طبیعی آن ۰/۳ است (۳۰).

$$Lee\ index = \frac{\sqrt[3]{body\ weight(g)}}{\text{Naso} - \text{Anal distance}(mm)} \times 10$$

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، برای از بین رفتن پاسخ آخرین جلسه تمرین موش‌ها نمونه‌گیری شدند. به این صورت که ابتدا هر حیوان با استفاده از گاز CO در محفظه مخصوص بیهوشی، بیهوش و پس از خون‌گیری از قلب، جمجمه آنها شکافته و بافت هیپوکمپ دو نیمکره از ناحیه سوپریور خارج گردید. هیپوکمپ‌های جداشده بلافاصله وارد کرایوتیوب می‌شدند و سریعا داخل تانک ازت قرار می‌گرفتند. دلیل آنکه موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در ۱۲ ساعت قبل از تشریح همگی در ناشتایی کامل قرار گرفتند و فقط آب برای آنها گذاشته شد، این بود که گرسنگی و هیپوگلیسمی روی میزان VEGF اثر دارد و آن را افزایش می دهد. در این تحقیق سعی شد که تمامی رت‌ها با حداقل درد و آزار بیهوش و قربانی شوند. بافت‌های منجمد شده برای سنجش‌های عوامل مورد نظر به فریزر با دمای ۷۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای اندازه‌گیری غلظت VEGF-A و FGF-2 بافت هیپوکمپ، از روش سنجش ایمنی آنزیم‌دار (ELISA)[2] با تکنیک الایزای ساندویچی استفاده شد. برای سنجش VEGF-A، از Rat VEGF ELISA Kit ,Zellbio GmbH(Germany),cat.No:ZB-10659S-R9648 با حساسیت ۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر و CV<%10 و برای سنجش FGF-2 از Rat FGF-2 ELISA Kit ,Zellbio GmbH(Germany) ,cat.No:ZB-10852S-R9648 با حساسیت ۱۲/۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و CV<%10 استفاده شد.

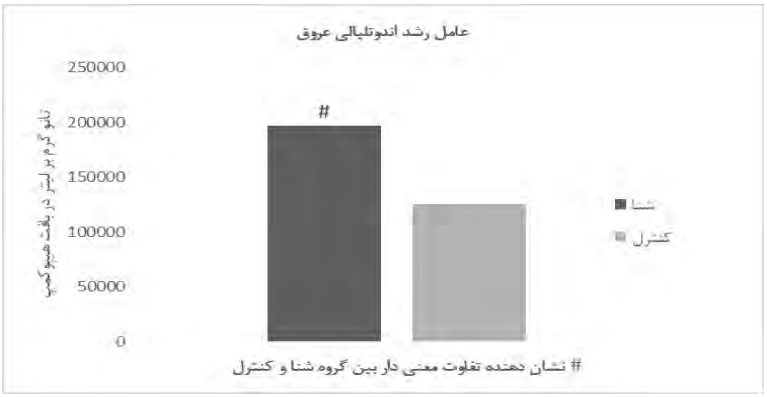
1. Lee´s Index
2. Enzyme-linked immunosorbent

روش‌های آماری

برای توصیف داده‌ها در آمار توصیفی از میانگین، انحراف‌معیار استفاده شد. همچنین برای مشخص شدن توزیع نرمال داده ها از آزمون شاپیرو – ویلک استفاده شد. لازم به ذکر است که تعیین نرمال بودن داده ها به تفکیک برای گروه های تمرین و کنترل و برای شاخص‌های VEGF-A،FGF-2 و شاخص لی به طور جداگانه انجام گردید. پس از آن، توزیع داده‌ها برای شاخص FGF-2 در هر دو گروه تمرین (statistic =۰/۹۲۶، P =۰/۴۷۸) و کنترل (statistic = ۰/۸۰۳، P =۰/۳۵۹) طبیعی و برای شاخص‌های VEGF-A در هر دو گروه تمرین (statistic =۰/۸۵۲، P = ۰/۰۴۱) و کنترل (statistic =۰/۸۴۲، P =۰/۰۲۵) غیرطبیعی شد. همچنین توزیع داده‌ها برای شاخص لی در پیش‌آزمون (statistic=۰/۷۴۶، P=۰/۰۵۸) و پس‌آزمون (statistic=۰/۸۴۵، P=۰/۵۲) غیرطبیعی شد. برای تعیین تفاوت بین گروه تمربن ورزشی شنا و کنترل برای شاخص FGF-2 از آزمون تی‌مستقل و برای شاخص VEGF-A و شاخص لی به ترتیب از آزمون یومن ویتنی و ویکاکسون در سطح P≤۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

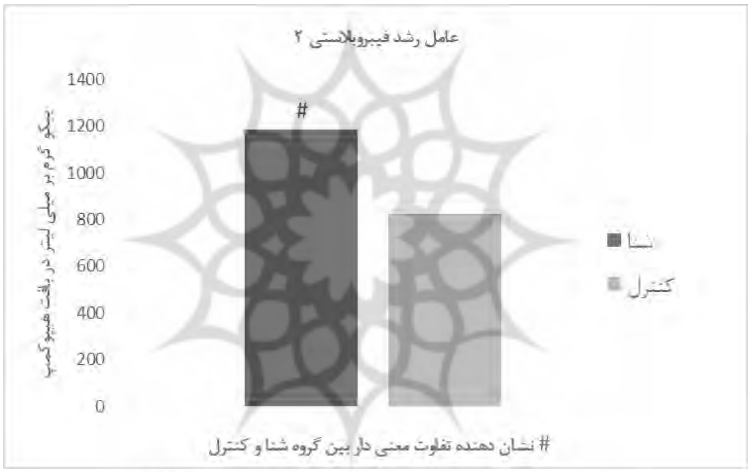
یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمون یو من ویتنی برای VEGF-A که توزیع غیر طبیعی داشت، نشان داد که پس از هشت هفته فعالیت ورزشی شنا در آب میزان پروتئین آنژیوژنزی VEGF-A نسبت به کنترل افزایش معنی‌دار دارد که در شکل ۱ نشان داده شده است (P=۰/۰۰۲ ، T = -۳/۰۴۶) . همچنین نتایج آزمون تی مستقل برای FGF-2 که توزیع طبیعی داشت، نشان داد که هشت هفته فعالیت ورزشی شنا در آب باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین FGF-2 نسبت به گروه کنترل می شود که در شکل ۲ نشان داده شده است (P=۰/۰۰۰۱ ، T = ۵/۷۷۹). علاوه بر این نتایج آزمون ویلکاکسون برای شاخص لی که مشخص‌کننده تفاوت درون گروهی موش‌های گروه تمرین ورزشی شنا بود، نشان داد که هشت هفته فعالیت ورزشی شنا در آب باعث کاهش معنی‌دار شاخص لی (بهبود توده بدنی) در موش‌های این گروه می‌شود که در شکل ۳ نشان داده شده است (P=۰/۰۱۲، T=-۲/۵۲۱).



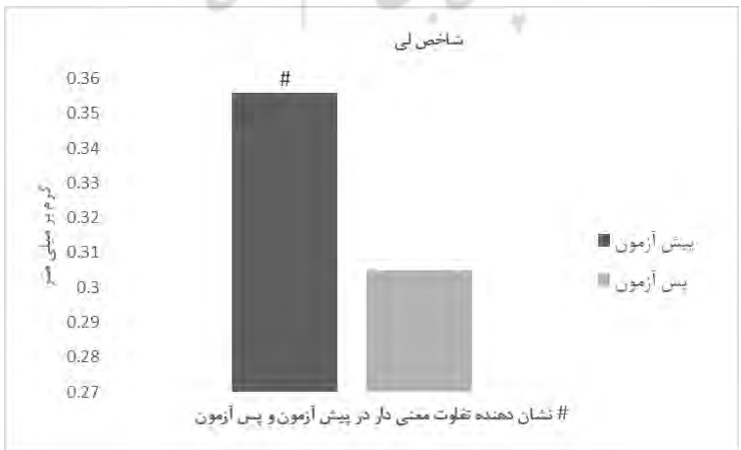
شکل ۱. تفاوت معنی‌دار VEGF-A در گروه تمرین ورزشی شنا و کنترل

هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث افزایش معنی‌دار VEGF-A بافت هیپوکمپ نسبت به گروه کنترل شد (P =۰/۰۰۲).



شکل ۲. تفاوت معنی‌دار FGF-2 در گروه تمرین ورزشی شنا و کنترل

هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث افزایش معنی‌دار FGF-2 بافت هیپوکمپ نسبت به گروه کنترل شد (P =۰/۰۰۰).



شکل ۳. تفاوت معنی‌دار شاخص لی در گروه تمرین ورزشی شنا در پیش آزمون وپس آزمون

هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث کاهش معنی‌دار شاخص لی نسبت به گروه کنترل شد (P =۰/۰۱۲).

بحث

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که پس از هشت هفته فعالیت ورزشی شنا در آب میزان پروتئین آنژیوژنزی VEGF-A و FGF-2 نسبت به کنترل افزایش معنی‌دار دارد. علاوه بر این نتایج نشان داد که هشت هفته فعالیت ورزشی شنا در آب باعث کاهش معنی‌دار شاخص لی (بهبود توده بدنی) در موش‌های این گروه می شود. نتایج تحقیق حاضر با مطالعه رجبی و همکاران (۱۳۹۸) که تأثیر هشت هفته تمرین هوازی را بر بیان ژن HIF1α و VEGF و آنژیواستاتین هیپوکمپ موش‌های صحرایی نژاد ویستار بررسی کردند، همسو بود (۳۱). نتایج تحقیق حاضر با تحقیق یوسال و همکاران (۲۰۱٤) که تاثیرات فعالیت ورزشی اختیاری و اجباری را بر عملکرد های ذهنی و سطوح VEGF و BDNF هیپوکمپ در رت های نوجوان بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که یادگیری ها و عملکرد های ذهنی و سطوح VEGF و BDNF هیپوکمپ در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار می یابد؛ هم سو بود (۱۹). علاوه بر این نتایج تحقیق حاضر با تحقیق هونگ و همکاران (۲۰۱۲) که اثر سه هفته تمرین استقامتی را بر مقادیر mRNA آنژیوپویتین ۱ و ۲ و VEGF و چگالی مویرگی در استراتوم و قشر موش‌های صحرایی سالمند نژاد ویستار سنجیدند، هم‌سو بود. یافته های این پژوهشگران نشان از افزایش چگالی مویرگی، افزایش مقادیر پروتئین VEGF و mRNA فاکتور های یاد شده داشت (۳۲). مشابه با نتایج تحقیق حاضر، افزایش سطح VEGF در بخش قشری و هیپوکمپ مغز در موش‌های کوچک میانسال (۱۳-۱۱ ماهه) پس از ٦ هفته دویدن روی چرخ دوار (۳۳) و همچنین افزایش بیان ژن VEGF در موش‌های کوچک ۲۱ ماهه پس از ۸ هفته تمرین شدید با شدت بالاتر از آستانه لاکتات (۳٤) توسط محققین دیگر تایید شد. در ادامه، نتایج تحقیق حاضر با تحقیق رضایی و همکاران (۱۳۹٤) که تأثیر هشت هفته تمرین تداومی و تناوبی شدید را بر مقادیر VEGFA و VEGFR2 بافت مغز موش‌های صحرایی نر ویستار را بررسی کردند؛ همسو بود. در تحقیق رضایی و همکاران، هشت هفته تمرین تداومی استقامتی باعث افزایش معنی‌دار VEGFA در هیپوکمپ رت ها نسبت به گروه کنترل شد. همچنین میزان VEGFR2 در هر دو گروه تمرین تداومی و تناوبی شدید در ناحیه هیپوکمپ و استراتوم بیشتر از گروه کنترل بود (۳۲). در تحقیقی دیگر مهری و همکاران (۱۳۹۵) تأثیر پنج هفته تمرین مقاومتی دایره ای را بر برخی از عوامل رشد عروقی دانشجویان غیر فعال بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که تمرین مقاومتی دایره ای باعث افزایش معنی‌دار VEGF در گروه تمرین مقاومتی نسبت به کنترل می شود؛ در حالی که در مقادیر bFGF در دو گروه تفاوت معنی داری مشاهده نشد (۷). نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق مهری و همکاران در شاخص bFGF ناهمسو بود که این ناهمسویی را می توان به دلیل تفاوت در نوع آزمودنی و همچنین تفاوت در مدت تمرین، شدت، نوع و شرایط مختلف تمرین دانست و با توجه با این که مقادیر bFGF در پس آزمون تحقیق مهری و همکاران افزایش داشت، ولی این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود؛ به نظر می رسد برای افزایش bFGF به شدت تمرینی بیشتر نیاز باشد. اگرچه چگونگی و مکانیزم اثر و تفاوت های روش های تمرینی مختلف بر رگ زایی بافت مغز هنوز کاملا ناشناخته است، اما به نظر می رسد که یکی از عوامل موثر، تغییرات جریان خون مغزی و نیاز سلول های مغز با توجه به افزایش شدت تمرین باشد. مشخص شده است که با افزایش شدت فعالیت ورزشی، نیاز سوخت و سازی سلول های مغزی به اکسیژن و دیگر فرآورده های سوخت و سازی افزایش می یابد؛ در حالی که جریان خون مغزی متناسب با این افزایش نیست. در این مورد چیری روکس و همکاران (۲۰۱۰) در مروری سیستماتیک خود به این نتیجه رسیدند که با افزایش شدت فعالیت ورزشی، مقادیر اکسیژن دار شدن مغز، تا سطوح متوسط فعالیت ورزشی (بین ۳۰ تا ٦۰ درصد VO_2 اوج) افزایش و سپس این مقدار تا نزدیک به VO_2 اوج بدون تغییر باقی می ماند. اما این مقادیر با افزایش شدت به بالاتر از VO_2 اوج افت می کند. از آنجایی که در تحقیق حاضر شدت تمرین برای گروه تمرین ورزشی شنا به تدریج تا هفته هشتم افزایش می یافت، باعث افزایش مقادیر VEGF-A و FGF-2 نسبت به گروه کنترل گردید. افزایش عوامل التهابی از جمله: IL-1، IL-6 ، IL-10 و TNF-α می تواند دلیلی برای افزایش معنی‌دار VEGF-A هیپوکمپ درگروه تمرین ورزشی شنا در مقایسه با گروه کنترل باشد. در همین خصوص اسکولز و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که پس از بروز آسیب های سلول های عضلانی و تاندونی ناشی از فعالیت ورزشی، همبستگی مثبتی بین ترشح اینترلوکین-۱ ،اینترلوکین-٦ ، عامل نکروز دهنده آلفا با عامل رشدی

اندوتلیالی عـروق وجـود دارد. امـا ایـن همبسـتگی بـا FGF-2 وجود ندارد (۳۵). یکی دیگر از علت هـای احتمـالی افـزایش عوامل آنژیژنزی می تواند افزایش میزان ترشح هورمـون رشـد باشد. چرا که فعالیت ورزشی شنا میزان ترشح GH در مقایسـه با گروه کنترل را افزایش می دهد. اما در این تحقیـق میـزان آن اندازه گیری نشد که می تواند یکی از محدودیت هـای تحقیـق حاضر باشد. به دنبال تمرین ورزشی و افزایش مقادیر هورمـون های رشدی از جمله GH، محور GH-IGF-1 فعال می شـود و میزان فاکتور های رگ زایی افـزایش مـی یابـد (۳۶). همچنـین هورمون رشد عاملی برای فعال سازی و تبدیل eNOS بـه NO است که این مسیر نیز می تواند از طریـق رگ گشـایی، عـاملی برای رگ زایی باشد (۳۷). در ورزشکاران هایپوکسی موضـعی، افزایش بیان VEGF ناشی از فعالیت ورزشی را از چنـد مسـیر امکان پذیر می سازد. در شرایط هایپوکسی و ایسکمی ناشی از فعالیت ورزشی، فاکتور القـا کننـده هایپوکسـی (HIF) افـزایش می‌یابد (۳۹، ۳۸) و این فاکتور با اثر گذاری بر ناحیه پیش برنده ژن VEGF، باعث افزایش بیان آن می‌شود. همچنین با افـزایش شدت فعالیت، تجمـع لاکتـات و آدنـوزین افـزایش مـی یابـد. لاکتات و آدنوزین از طریق فعـال سـازی گیرنـده A2 موجـب افـزایش غلظـت cAMP و افـزایش سـطوح mRNA VEGF می‌شوند (٤٠). همچنین گزارش شده است که آدنوزین در آزاد شدن VEGF سلولی نقش مستقیمی دارد. پژوهش‌هـای انـدکی در خصوص FGF-2 یا همان bFGF انجام شده که نتایج متفاوت و متناقضی را نشان می‌دهند. این تناقض ها را می‌توان در مدت زمان کلی تمرین، شدت، نوع و شرایط مختلف تمرین جستجو کرد. شاید دلیل افزایش FGF-2 در تحقیق حاضر، ارتبـاط بـین ترشح FGF-2 با جراحت در سارکوپلاسم باشد. از آنجا کـه بـا تمرین ورزشی جراحت هایی در سارکوپلاسم ایجاد می شـود، به تبع از آن افزایش ترشح FGF-2 را به دنبال دارد. در تحقیـق که کلارک و فیبک (۲۰۰٤) انجام دادند، ثابت شد کـه تحریـک مکانیکی و جراحت سارکولومی و میانجی شدن ترشح FGF-2 یک مکانیزم اتوکراین مهم برای هدایت تحریکات مکانیکی بـه سوی پاسخ رشد عضله اسکلتی و افزایش خون رسـانی اسـت (۳٦). افزایش ترشح FGF-2 به همراه افزایش محیطی IGF-1 و همچنین تسهیل عبور از مایع خونی–مغـزی مـی توانـد باعـث افزایش تحریک آنژیوژنزی در بافت مغز شود (٤٣ –٤١). با این وجود به تحقیقـات بیشـتری بـرای مشـخص شـدن سـازوکار افزایش FGF-2 بافت هیپوکمپ در پاسخ به یـک دوره فعالیـت ورزشی نیاز است.

نتیجه‌گیری

یافته های حاصل از این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث افزایش معنی‌دار عوامـل مـوثر در رگ زایـی بافت هیپوکمپ موش‌ها و متعاقـب آن خـون رسـانی بهتـر بـه بافت هیپوکمپ در مقایسه با گروه کنترل می شود، کمـا اینکـه باعث بهبود توده بدنی موش‌های تمـرین کـرده در مقایسـه بـا موش‌های کنترل می شود.

منابع

1. Gavin T, Drew J, Kubik C, Pofahl W, Hickner R. Acute resistance exercise increases skeletal muscle angiogenic growth factor expression. *Acta physiol*. 2007;191(2):139-46.
2. Rehn M, Veikkola T, Kukk-Valdre E, Nakamura H, Ilmonen M, Lombardo CR, et al. Interaction of endostatin with integrins implicated in angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci* . 2001;98(3):1024-9.
3. Fox SB, Gasparini G, Harris AL. Angiogenesis: pathological, prognostic, and growth-factor pathways and their link to trial design and anticancer drugs. *Lancet oncol*. 2001;2(5):278-89.
4. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *cell*. 1996;86(3):353-64
5. Otrock ZK, Mahfouz RA, Makarem JA, Shamseddine AI. Understanding the biology of angiogenesis: review of the most important molecular mechanisms. *Blood Cells Mol Dis*. 2007;39(2):212-20.
6. Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors. *Blood Cells Mol Dis*. 2007;38(3):258-68.
7. Mehri Alvar Y, Sayevand Z, Erfani Adab F, Heydari Moghadam R, Samavat Sharif MA, Karami S. The effects of five weeks' resistance training on some vascular growth factors in sedentary men. *J Exerc Physiol*.2015;29.15-30. [In Persian]
8. Oosthuyse B, Moons L, Storkebaum E, Beck H, Nuyens D, Brusselmans K, et al. Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat genet*. 2001;28(2):131.
9. Kalaria RN. Small vessel disease and Alzheimer's dementia: pathological considerations. *Cerebrovasc Dis*. 2002;13(2):48-52.
10. Deckel AW, Duffy JD. Vasomotor hyporeactivity in the anterior cerebral artery during motor activation in Huntington's disease patients. *Brain Res*. 2000;872(1-2):258-61.
11. Levy AP, Levy NS, Wegner S, Goldberg MA. Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia. *J Biol Chem*. 1995;270(22):13333-40.

12. Lundborg G, Kanje M.Sondell M. Vascular endothelial growth factor has, neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci*. 1999;19(14):5731-40.
13. Silverman W, Krum J, Mani N, Rosenstein J. Vascular, glial and neuronal effects of vascular endothelial growth factor in mesencephalic explant cultures. *J Neurosci*. 1999;90(4):1529-41.
14. Krum J, Mani N, Rosenstein J. Angiogenic and astroglial responses to vascular endothelial growth factor administration in adult rat brain. *J Neurosci*. 2002;110(4):589-604.
15. Storkebaum E, Carmeliet P. VEGF: a critical player in neurodegeneration. *J Clin Invest*. 2004;113(1):14-8.
16. Forsythe, JA. Jiang, BH, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol cell biol*. 1996;16(9):4604-13.
17. Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells: identification of a 5′ enhancer. *Circ Res*. 1995;77(3):638-43.
18. Wittko-Schneider IM, Schneider FT, Plate KH. Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2 two unequal brothers in mind. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70(10):1705-25.
19. Uysal N, Kiray M, Sisman A, Camsari U, Gencoglu C, Baykara B, et al. Effects of voluntary and involuntary exercise on cognitive functions, and VEGF and BDNF levels in adolescent rats. *Biotec Histochem*. 2015;90(1):55-68.
20. Peggie W. Exercise for special populations.2011.
21. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50–60 years. *Br J sports Med*. 2008;42(2):126-9.
22. Kobayashi T, Kamata K. Short-term insulin treatment and aortic expressions of IGF-1 receptor and VEGF mRNA in diabetic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283(5): 1761-1768.
23. Kraus RM, Stallings HW 3rd, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J Appl Physiol*. (1985). 2004;96(4):1445-1450.
24. DA Silva ND Jr, Fernandes T, Soci UP, Monteiro AW, Phillips MI, DE Oliveira EM. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA-126 expression and angiogenesis. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44(8):1453-62.
25. Suzuki J. L-arginine supplementation causes additional effects on exercise-induced angiogenesis and VEGF expression in the heart and hind-leg muscles of middle-aged rats. *J Physiol Sci*. 2006;56(1):39-44.
26. Gustafsson T, Puntschart A, Kaijser L, Jansson E, Sundberg CJ. Exercise-induced expression of angiogenesis-related transcription and growth factors in human skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1999;276(2): 679-685.
27. Birot OJ, Koulmann N, Peinnequin A, Bigard XA. Exercise-induced expression of vascular endothelial growth factor mRNA in rat skeletal muscle is dependent on fibre type. *J Physiol*. 2003. 1;552(1):213-221.
28. Fiorito C, Balestrieri ML, Crimi E, Giovane A, Grimaldi V, Minucci PB, Servillo L, D'Armiento FP, Farzati B, Napoli C. Effect of L-arginine on circulating endothelial progenitor cells and VEGF after moderate physical training in mice. *Int J Cardiol*. 2008.6;126(3):421-423.
29. Habibian, M. Saghafi,M.R. Farzanegi, P. The effect of regular swimming exercise on the levels of renal matrix mettaloproteinase-2 and transforming growth factor-β1 in rats with diabetes. *J Kerman Uni Med Sci*.2016. 23(4): 446-456. [in Persian]
30. Bernardis, L. Patterson, B . Correlation between'Lee index'and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol* .1968. 40(4): 527-528.
31. Zarezadehmehrizi A, Rajabi H, Gharakhanlou R, Naghdi N, Azimidokht S M A. Effect of 8 weeks of Aerobic Training on Genes Expression of Hypoxia Inducible Factor HIF-1α, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Angiostatin in Hippocampus of Male Rats with Wistar Model. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci*. 2020; 27(11) :2063-2075. [in Persian]
32. Rezae R,Noorshahi M,Bigdeli MR,Khodagholi F,Haghparast A. Effect of eight weeks continues and HIIT exercises on VEGF-A and VEGFR-2 levels in stratum, hippocampus and cortex of wistar rat brain. *J Sports Exerc physiol* .2014;16.1213-1221. [in Persian]
33. Latimer CS, Searcy JL, Bridges MT, Brewer LD, Popović J, Blalock EM, et al. Reversal of glial and neurovascular markers of unhealthy brain aging by exercise in middle-aged female mice. *PloS one*. 2011;6(10): 26812.
34. Lezi E, Burns JM, Swerdlow RH. Effect of high-intensity exercise on aged mouse brain mitochondria, neurogenesis, and inflammation. *Neurobiol aging*. 2014;35(11):2574-83.
35. Schulze-Tanzil G, Al-Sadi O, Wiegand E, Ertel W, Busch C, Kohl B, Pufe T. The role of pro-inflammatory and immunoregulatory cytokines in tendon healing and rupture: new insights. *Scand J Med Sci Sports*. 2011;21(3):337-51.
36. Poulaki V, Joussen AM, Mitsiades N, Mitsiades CS, Iliaki EF, Adamis AP. Insulin-like growth factor-I plays a pathogenetic role in diabetic retinopathy. *Am J Patholo*. 2004;165(2):457-69.
37. Thum T, Tsikas D, Frölich JC, Borlak J. Growth hormone induces eNOS expression and nitric oxide release in a cultured human endothelial cell line. *FEBS lett*. 2003;555(3):567-71.
38. Lin J, Zhou J, Xu W, Hong Z, Peng J. Qianliening capsule inhibits benign prostatic hyperplasia angiogenesis via the HIF-1α signaling pathway.*Exp Ther Med*. 2014;8(1):118-24.
39. Roozbahani P, Mirzae B.Effect of high interval training in normobaric and normoxi hypoxia conditions on IL-6 serum values and It,s relationship with glucose in anathletes youngs. *J Exerc Physiol*.2013.6(24).15-30. [In Persian]
40. Höffner L, Nielsen JJ, Langberg H, Hellsten Y. Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in human skeletal muscle interstitium. *J Physiol*. 2003;550(1):217-25
41. Caraci F, Battaglia G, Bruno V, Bosco P, Carbonaro V, Giuffrida ML, et al. TGF-β1 pathway as a new target for neuroprotection in Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther*. 2011;17(4):237-49
42. Cotman CW, Berchtold NC, Christie L-A. Exercise builds brain health: key rolesof growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*. 2007;30(9) 464-472
43. Carro E, Trejo JL, Busiguina S, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *J Neurosci*. 2001;21(15):84-88.

Effect of eight weeks swimming exercise training on VEGF-A and FGF-2 of hippocampus tissue and Lee's index in male wistar rats

Mojtaba Sadegh Ghomi[1*], Majid Kashef [2], Mojtaba Salehpour[3]

1. Ph.D Candidate, Department of Exercise Physiology, Shahid Rajaee Teacher Training University
2. Professor, Department of Exercise Physiology, Shahid Rajaee Teacher Training University
3. Assist Professor, Department of Exercise Physiology, Shahid Rajaee Teacher Training University

Received: 2022/07/15 **Accepted:** 2022/08/24

∗Correspondence:
Email:
MojtabaSadeghghomi
@sru.ac.ir

Abstract

Introduction and purpose: The increase of proteins related to blood supply in the hippocampus tissue following swimming exercise can probably prevent the occurrence of brain diseases such as Alzheimer's. The aim of the present study was to determine the effect of eight weeks swimming exercise training on VEGF-A and FGF-2 levels of hippocampus tissue and Lee's Index in male Wistar Rats.

Materials and methods: 16 male Rats, divided randomly into 2 groups (swimming exercise training and control). Swimming training group exercised for 8 weeks, 5 consecutive days per week for 60 minutes in water with 32±2˚C of temperature. for evaluation of VEGF-A and FGF-2 Levels used from Elisa Method, To measure Lee's index from height and weight measurements and for hypothesizes test used from Independent T Student, Mann - Whitney U and Wilcoxon tests in level of p≤0.05.

Results: Results show that eight weeks swimming training cause significant increase in VEGF-A (P=0.002) and FGF-2 (P=0.000) in hippocampus tissue compare to control group. Furthermore Eight weeks Swimming training cause significant decrease in Lee's index and improvement of mass index in Rats (P=0.012).

Discussion and Conclusion: Results of this study show that eight weeks swimming exercise training cause increase on effective angiogenic factors in hippocampus tissue and improvement of mass index in male Wistar Rats.

Key words: Swimming exercise training, Hippocampus, VEGF-A, FGF-2, Lee's index