

علوم زیستی ورزشی - بهار ۱۳۹۷
دوره ۱۰، شماره ۱، ص: ۲۴ - ۱۳
تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۱۹
تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۲۰

ردیابی گیرنده عامل رشد اندوتلیال عروقی-۲ و حجم عروق ریوی پس از شش هفته تمرین تناوبی شدید

شادمهر میردار^۱ - غلامرضا حمیدیان^۲ - مهدی یادگاری^{۳*}

۱.استاد، دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران ۲. استادیار، دکتری تخصصی بافت‌شناسی، گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران ۳. دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

چکیده

گیرنده دوم فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGFR-2) قوی‌ترین پیام‌رسان آنژیوژنیک مرتبط با VEGF است که تاکنون پژوهشی در زمینه تأثیر تمرینات ورزشی بر روی آن و حجم عروقی در ریه منتشر نشده است. از این رو هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید بر بیان VEGFR-2 و حجم عروق ریوی رت‌های نر و بیستار بود. این پژوهش از جمله مطالعات تجربی بود که نمونه‌های آن را ۱۰ سر رت نر نژاد ویستار تشکیل داده بودند که به‌طور تصادفی و به‌صورت مساوی به گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند. رت‌ها طی شش هفته، برنامه تمرین تناوبی شدید را با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه شروع و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه به پایان رساندند. هر جلسه تمرین شامل ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای با مراحل استراحت ۲ دقیقه‌ای در بین دوره‌ها بود. در پایان، به‌منظور انجام آزمایش‌های ایمونوهیستوشیمیایی و استریولوژی بافت ریه خارج شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون t مستقل و ضریب همبستگی پیرسون نشان از افزایش معنادار VEGFR-2 (sig ۰/۰۰۱) و حجم عروق ریوی (sig ۰/۰۴۲) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل و همچنین وجود ارتباط مثبت و نسبتاً قوی بین تغییرات این دو شاخص با تمرین ورزشی داشت (sig ۰/۰۳۵). به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد شش هفته تمرین تناوبی شدید پتانسیل پیشبرد فرایندهای پروآنژیوژنیک ریوی را داراست.

واژه‌های کلیدی

تمرین تناوبی شدید، حجم عروقی، ریه، فاکتور رشد اندوتلیال.

مقدمه

نیاز به اختصاص زمان طولانی، خستگی روانی و تنوع کم، از دشواری‌های اجرای تمرینات استقامتی سنتی است. به همین منظور از تمرینات تناوبی شدید (HIT)^۱ به‌عنوان تمرینی جایگزین یاد می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که HIT روش بسیار مؤثری برای بهبود عملکرد استقامتی در مقایسه با تمرینات استقامتی با حجم بالا (HVT) است (۱). HIT عبارت است از دوره‌های تمرینی کوتاه و نسبتاً شدید، که با دوره‌های استراحت همراه است (۲). تأثیرات HIT در بافت‌های مختلف از جمله عضله اسکلتی، قلب و مغز بررسی شده است (۳). تأثیر این نوع تمرینات بر دستگاه تنفس اغلب در سطح عضلات تنفسی بررسی شده و تاکنون گزارشی در خصوص سازگاری‌های پارانشیم ریه در سطح سلولی - مولکولی منتشر نشده است (۴). ریه از ارگان‌هایی است که بالاترین میزان بیان عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)^۲ در سلول‌های آن رخ می‌دهد و این پروتئین تأثیرات فیزیولوژیکی بسیاری در ریه بر جای می‌گذارد (۵). VEGF عامل اصلی درگیر در فرایند رگ‌زایی است و اثر خود را از طریق فعال کردن گیرنده‌های VEGFR-1، VEGFR-2، VEGFR-3^۳ اعمال می‌کند. در بین گیرنده‌های VEGF، VEGFR-2، VEGFR-1 قوی‌ترین و فعال‌ترین گیرنده است که اغلب بر روی سلول‌های اندوتلیال عروقی قرار گرفته است. هرچند در بافت ریه بر روی سلول‌های دیگری چون نموسیت‌های نوع ۲، سلول‌های عضلات صاف دیواره عروق و مسیرهای هوایی، اپیتلیال مسیرهای هوایی، سلول‌های مزنشیمال، ماکروفاژها و نوتروفیل نیز ردیابی شده است (۵). محور VEGF-VEGFR-2 در رشد و توسعه ساختارهای ریوی در دوران جنینی و همچنین ترمیم و نگهداری ساختارهای ریوی در دوران بزرگسالی تأثیرات قوی بر جای می‌گذارد (۶). اثرات عملکردی محور VEGF-VEGFR بر روی سلول‌های اندوتلیال عروق ریوی تأثیر ویژه‌ای در بیماری‌های ریوی دارند. سیگنالینگ VEGFR-2 در ریه در شرایط مختلف، متفاوت است. به‌طور مثال در بیماری آمفیوزم می‌تواند به ترمیم و حفظ ساختارهای مطلوب در ریه منجر شود، درحالی‌که افزایش بیش‌ازحد بیان VEGF و سیگنالینگ زیاد VEGFR-2 ریه را به سمت پرفشار خونی سوق می‌دهد (۷). به‌طور کلی گزارش شده در شرایط فیزیولوژیک، افزایش عوامل پروآنژیوژنیک و حجم عروقی در بافت‌های فعال، به بهبود گردش خون، نقل‌وانتقال گازی و تغذیه بهتر بافت منجر می‌شود (۸).

-
1. High intensity training (HIT)
 2. vascular endothelial growth factor
 3. vascular endothelial growth factor receptor-2

ساختارهای آلوئولی بخش اصلی پارانشیم ریوی هستند که بالاترین حجم بستر عروقی جهت حمایت از تبادل گازی بین دستگاه تنفس و دستگاه گردش خون را دارند. گزارش شده حجم عروقی و بیان VEGFR-2 ریوی در بیماری‌هایی چون سیستیک فیبروز و آمفیزم که با تخریب ساختارهای هوایی همراه است، کاهش و در آسم که با انسداد مسیرهای هوایی همراه است، افزایش نشان می‌دهند (۹) که کاهش کارایی واحد قلبی-تنفسی در انتقال گازی در عرض سد گازی-خونی را در پی دارد. ثابت شده افزایش حجم عروقی از عوامل مؤثر در ارتقای ظرفیت هوایی بافت و سطح سلامت عمومی است (۱۰). با توجه با نقش مهم ریه در تبادلات گازی و تأثیرات بارز آن در تعیین ظرفیت‌های فیزیولوژیکی-عملکردی مخصوصاً ظرفیت‌های هوایی، بررسی این جنبه از تأثیرات HIT ضروری به نظر می‌رسد.

مارینی^۱ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند تمرینات استقامتی پیوسته با شدت متوسط موجب افزایش حجم عروقی میوکارد و بیان فاکتورهای VEGF و VEGFR-2 می‌شود (۱۱). از سوی دیگر، دیده شده دو هفته تمرین روی نوار گردان با شدت متوسط در عضله دوقلوی رت، کاهش VEGFR-2 در روز چهارم و برگشت به سطوح پایه در روز چهاردهم را در پی داشته است (۱۲). در مطالعه‌ای دیگر افزایش و عدم تغییر سطوح VEGFR-2 عضله اسکلتی افراد غیرورزشکار، به ترتیب پس از چهار هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط و با شدت بالا گزارش شده است (۱۳). بررسی پیشینه پژوهشی نشان می‌دهد تاکنون گزارشی در مورد تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر حجم عروقی و فاکتورهای پروآنژیوژنیک ریه منتشر نشده و این جنبه از تأثیرات HIT با خلأ دانشی مواجه است. همچنین یافته‌های موجود متناقض است. با استناد به این مدعا که HIT قادر است با صرف زمان کمتر، سازگاری‌های فیزیولوژیکی برابر یا حتی بیشتری نسبت به تمرینات استقامتی سنتی ایجاد کند (۱۴)، در این پژوهش محقق به دنبال آن است تا به بررسی تغییرات بیان VEGFR-2 و حجم عروق ریوی پیرو ۶ هفته تمرینات تناوبی شدید بپردازد.

روش تحقیق

نمونه‌های پژوهش حاضر را ۱۰ سر رت نر نژاد ویستار ۴ هفته‌ای با میانگین وزنی 68 ± 9 گرم تشکیل دادند که به صورت تصادفی انتخاب و به تعداد ۵ سر در گروه‌های تمرین و کنترل ۶ هفته‌ای تقسیم شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، به مدت یک هفته برای سازگاری با محیط جدید در

دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند، سپس به مدت یک هفته با نحوه فعالیت روی نوار گردان آشنا شدند. طی پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار نمونه‌ها قرار گرفت.

مرحله آشناسازی شامل چهار روز برنامه تمرین تناوبی با سرعت ۱۰ تا ۲۵ متر بر دقیقه مطابق الگوی برنامه تمرینی تناوبی فزاینده اجرا شد. برنامه تمرین تناوبی فزاینده به صورت ۱۰ تکرار ۱ دقیقه-ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای انجام می‌گرفت، به گونه‌ای که سرعت استراحت نصف سرعت دویدن بود و کل تمرین روزانه برای هر رت ۳۰ دقیقه طول می‌کشید. نمونه‌ها ۴ و ۵ جلسه در هفته به ترتیب در مراحل آماده‌سازی و دوره برنامه اصلی ورزشی تمرین کردند. برنامه تمرین تناوبی فزاینده با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه شروع شد و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه در پایان هفته ششم پایان پذیرفت (جدول ۱). به غیر از زمان فعالیت اصلی، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد (۱۵). برای تحریک به دویدن، شوک الکتریکی ملایمی در عقب دستگاه تعبیه شد. برای جلوگیری از اثر احتمالی شوک الکتریکی بر یافته‌های پژوهش، به روش شرطی‌سازی با صدا به حیوانات آموزش داده شد تا از نزدیک شدن و استراحت در بخش انتهایی دستگاه خودداری شود.

جدول ۱. برنامه شش هفته تمرین تناوبی شدید

هفته	آشنایی	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
سن	شش هفته						
سرعت تردمیل (متر به دقیقه)	۱۰-۲۵	۳۵-۲۵	۳۵-۴۵	۴۵-۵۵	۴۵-۵۵	۶۵-۷۰	۶۵-۷۰
زمان ست شدید (دقیقه)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
استراحت بین ست‌ها (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تعداد ست در جلسه	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تعداد جلسه در هفته	۴	۵	۵	۵	۵	۵	۵

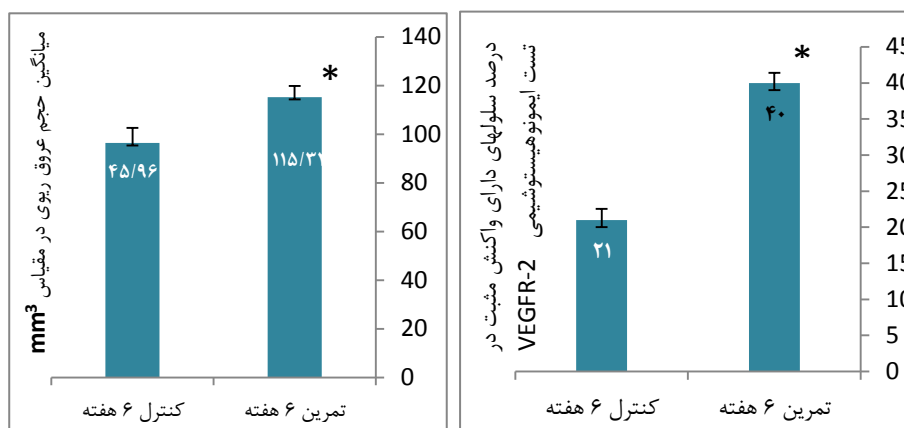
نمونه‌گیری بافتی از ریهٔ رت‌ها ۴۸ ساعت پس از اتمام دورهٔ تمرین تناوبی انجام گرفت. برای این منظور با تزریق ۳ واحد محلول کتامین^۱ (۵۰-۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین^۲ (۵-۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) رت‌ها بی‌هوش شده و بلافاصله بافت ریه خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از سپری شدن ۵ روز از زمان فیکس، به‌منظور بررسی تغییرات حجم عروقی و بیان VEGFR-2، با انجام مراحل پاساژ بافتی با استفاده از دستگاه اتوماتیک هیستوکینت مدل ۲۰۰۰ ساخت شرکت لایکا و آماده‌سازی قالب‌های پارافینی، با استفاده از دستگاه میکروتوم دورانی مدل ۸۲۰، برش‌های متوالی به ضخامت ۵ میکرومتر جهت مطالعات ایمونوهیستوشیمی و ۲۰ میکرومتر به‌منظور مطالعات استریولوژی تهیه شد. سپس به روش استاندارد و معمول با رنگ هماتوکسیلین-انوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند (۱۶). شمارش کمی عروق با استفاده از عدسی چشمی مدرج، عدسی چشمی M₄₂ چندهدفی و بیلز صورت گرفت. تکنیک ایمونوهیستوشیمی به روش انویژن و با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی VEGF Receptor-2 کد ab9530 ساخت شرکت Abcam انجام گرفت. به‌طور خلاصه پس از تهیهٔ برش‌های پارافینی و قرار دادن آنها روی لام‌های silanized کد S3003 شرکت Dako و طی مراحل پارافین‌زدایی با گزیلول و آبدهی با غلظت‌های نزولی الکل، مرحلهٔ بازبازی آنتی‌ژن (Antigen retrieval) با استفاده از بافر Tris/EDTA و مایکروویو انجام گرفت. پس از شست‌وشو و pretreatment با محلول ۳ درصد پراکسید هیدروژنه در متانول و شست‌وشو با محلول بافر فسفات و تعیین محدودهٔ برش با قلم داکو آنتی‌بادی اولیه به بافت اضافه شد و پس از تیمار با پلیمر لیبل‌شده با پراکسیداز، سطح برش با محلول کروموزن DAB و سوبسترای آن پوشانده شد. بعد از شست‌وشوی کامل و رنگ‌آمیزی افتراقی با هماتوکسیلین، اسلایدهای مونته‌شده با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند (۱۵)، (۳). سپس با استفاده از دوربین از هر اسلاید میکروسکوپیک ۵ فیلد مختلف انتخاب و تصویربرداری صورت گرفت و در نهایت تصاویر برای بررسی کیفیت واکنش با نسخهٔ ۱/۴۹ نرم‌افزار ImageJ آنالیز شدند. در نهایت بیان VEGFR-2 به‌صورت درصدی از جمعیت کل بیان شد (۱۷).

برای تجزیه‌وتحلیل یافته‌های پژوهش از آزمون t مستقل و ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. کلیهٔ محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS.21 و در سطح معناداری $P \leq 0/05$ انجام گرفت.

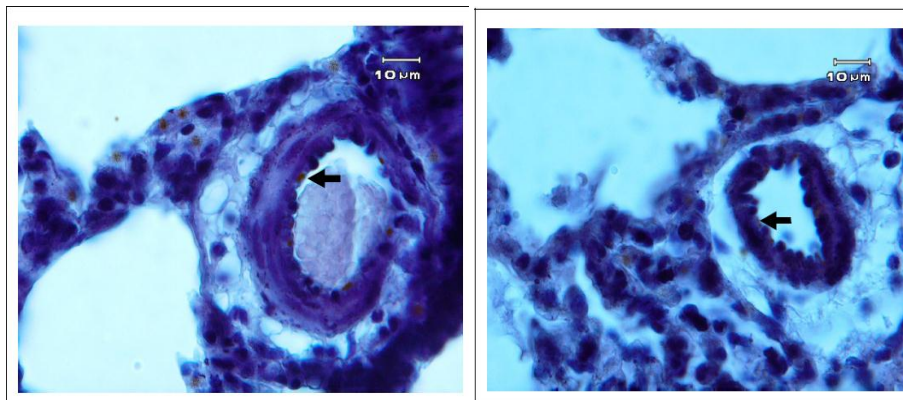
1. Ketamine
2. Xylazine

یافته‌های تحقیق

در نمودارهای ۱ و ۲ به ترتیب میانگین و انحراف استاندارد VEGFR-2 و حجم عروق ریوی گزارش شده است. براساس یافته‌های آمار استنباطی با استفاده از آزمون t مستقل، مشخص شد ۶ هفته تمرین تناوبی شدید موجب افزایش معنادار ($P= ۰/۰۴۲$) حجم عروق ریوی شد. همچنین دیده شد ۶ هفته تمرین تناوبی شدید، افزایش معنادار پروتئین VEGFR-2 را در پی دارد ($P= ۰/۰۰۱$). علاوه بر این داده‌های آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که بین تغییرات حجم عروقی و غلظت پروتئین VEGFR-2 ریوی، همبستگی معنادار و مثبت وجود دارد ($r= ۰/۵۹۵$, $P= ۰/۰۳۵$).



نمودارهای ۱ و ۲. به ترتیب از راست به چپ، نمایش شماتیک میانگین و انحراف استاندارد درصد واکنش مثبت VEGFR-2 در تست ایمونوهیستوشیمی و حجم عروق ریوی با مقیاس mm^3 . * نشانه تغییر معنادار نسبت به گروه کنترل



تصویر ۱. بیان ایمونوهیستوشیمیایی VEGFR-2 در سلول‌های اندوتلیال عروق ریوی در گروه‌های پژوهش (از راست به چپ: گروه تمرین و کنترل). افزایش حجم عروقی و بیان پروتئین VEGFR-2 در گروه تمرین نسبت به کنترل قابل مشاهده است.

بحث

هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید بر بیان پروتئینی VEGFR-2 و حجم عروق ریوی رت‌های نر ویستار بود. در پژوهش حاضر مشاهده شد پس از ۶ هفته تمرین تناوبی شدید، میزان VEGFR-2 و حجم عروقی ریوی به‌طور معناداری افزایش یافت. همچنین تغییرات این متغیرها دارای همبستگی مثبت و نسبتاً بالایی بود. در این زمینه نتایج برخی گزارش‌ها همسو یا غیرهمسو با پژوهش حاضر است، اما در ادبیات پژوهش، تاکنون سازگارهای پرو آنژیوژنیک ریوی با تمرینات تناوبی شدید بررسی نشده است. به عبارتی بافت‌های مورد استفاده در مطالعات گذشته اغلب قلب، عضله اسکلتی یا در سطح سرمی بوده است و در مورد بافت ریه اطلاعاتی در دسترس نیست. با توجه به تفاوت در درصد استفاده از منابع سوختی، تفاوت در نحوه واکنش به هایپوکسی، تفاوت در آستانه شروع پاسخ‌های هایپوکسیک، تفاوت در نوع سلول‌های تشکیل‌دهنده و همچنین سیستم گردش خون متفاوت بین ریه و سایر ارگان‌های متابولیک، بررسی پاسخ‌های حاد و مزمن آنژیوژنیک ریوی به HIT ضروری به‌نظر می‌رسد (۲۰-۱۸).

همسو با نتایج پژوهش حاضر، مارینی^۱ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند ۱۰ هفته دویدن بر روی تردمیل با شدت ۶۰٪ VO₂max افزایش حجم عروقی بطن چپ و افزایش معنادار بیان ژنی VEGF، KDR/VEGF-R2 و HIF-1 را در پی دارد. محققان عنوان کردند تحریک ناشی از تمرینات ورزشی قادر به پیشبرد فرایندهای پرو آنژیوژنیک و ساخت عروق جدید در قلب است (۱۱). همچنین لمیتسو^۲ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که تراکم عروق مویرگی در رت‌های پیر تمرین‌کرده به‌طور چشمگیری از رت‌های تمرین‌نکرده بیشتر است. علاوه بر این سطح mRNA و پروتئین VEGF، VEGFR-1 و VEGFR-2 در رت‌های تمرین‌کرده سالمند بالاتر از رت‌های تمرین‌نکرده بود. این محققان خاطر نشان کردند تمرین ورزشی قادر است سرعت تنظیم کاهشی فرایندهای آنژیوژنیک مرتبط با سن در قلب را

1. Marini
2. Iemitsu

کاهش دهد و با فعال‌سازی آبشارهای درون سلولی با محوریت VEGF-VEGFR، آنژیوژنز را فعال کند (۲۱).

در تفسیر یافته‌های پژوهش حاضر، می‌توان به مکانیسم‌های احتمالی مختلفی اشاره کرد. محرک‌های آنژیوژنیک مجموعه‌ای از عوامل هستند که سبب بیان فاکتورهای پروآنژیوژنیک، تحریک نفوذپذیری، مهاجرت، بقا و تکثیر سلولی می‌شوند. عوامل مختلفی زمینه‌ساز این رخدادها در بافت‌های فعال هنگام تمرینات ورزشی می‌شوند. مهم‌ترین این عوامل هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیک‌ها، اتساع‌دهنده‌های عروق، انقباض عضلانی، برخی از سایتوکاین‌ها و انواع کشش‌ها هستند. تمرینات ورزشی شدید توانایی القای هایپوکسی موضعی در بافت فعال را دارند (۲۲). از طرفی فعالیت RTKs (گیرنده‌های تیروزین کینازی VEGF) به وسیله میزان در دسترس بودن لیگاندها تنظیم می‌شود. از ویژگی‌های مهم VEGF این است که بیان ژنی آن در شرایط هایپوکسی به‌طور چشمگیری دچار تنظیم افزایشی می‌شود. به‌طور مشابه بیان VEGFR-2 نیز در طول هایپوکسی دچار تنظیم مثبت می‌شود (۲۳). گیرنده‌های فسفریله‌شده موجب فراخوانی پروتئین‌ها و تحریک فعال‌سازی مسیرهایی می‌شوند که توسط پیامبران ثانویه درون سلولی به پیش برده می‌شوند. در تأیید این یافته‌ها گزارش شده هایپوکسی می‌تواند بیان هر دو گیرنده تیروزین کینازی VEGFR-1 و VEGFR-2 را افزایش دهد (۲۴). با توجه به شدت بالای مراحل کار در تمرین تناوبی پژوهش حاضر، به‌نظر می‌رسد هایپوکسی موضعی در سلول‌های فعال رخ داده باشد.

از ویژگی‌های برنامه تمرینی پژوهش حاضر، شدت بالای اجرا بود. گزارش شده است تمرینات ورزشی به نسبت شدت اجرا، سبب افزایش سرعت جریان خون از ۳ تا ۷ برابر می‌شوند (۲۵). به‌عبارتی هرچه شدت تمرین ورزشی بیشتر باشد، سرعت جریان خون نیز بالاتر می‌رود و موجب القای فشار برشی بیشتری می‌شود. فشار برشی نیروی هیدرودینامیکی موازی با جداره عروق است که از اصطکاک جریان خون با جداره عروق حاصل می‌شود. نیروهای برشی به‌طور عمده سبب آرتریوژنز و آنژیوژنز می‌شوند (۲۶). نیروهای برشی از طریق فعال‌سازی کانال‌های یونی به‌ویژه کانال‌های پتاسیمی، تولید نیتریک اکساید را در پی دارند. این تغییرات سبب فعال‌سازی گیرنده‌های رشدی به‌ویژه VEGFR-2 می‌شود (۲۷). در تأیید این گزارش‌ها، گوتو^۱ و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که هرچه شدت اجرای

تمرینات ورزشی بیشتر باشد، نیروهای برشی وارده بر دیواره عروقی بیشتر می‌شود و افزایش قطر عروقی بزرگ‌تری رخ می‌دهد (۲۸).

گزارش شده گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در غلظت‌های پایین به‌عنوان میانجی در فرایندهای پروآنژیوژنیک درگیر می‌شوند (۲۹). تمرینات تناوبی شدید با ایجاد هایپوکسی لحظه‌ای ناشی از انقباضات شدید در بافت‌های متابولیک و خون‌رسانی مجدد در دوره برداشته شدن بار، شرایط افزایش رادیکال‌های آزاد را فراهم می‌آورند. همچنین هنگام اجرای تمرینات ورزشی، لایه‌های پوششی دستگاه تنفس به‌طور مستقیم در معرض هوای بیرون قرار می‌گیرند و پرتیوهای و دم و بازدم‌های شدید، فشار مکانیکی بر این بافت‌ها وارد می‌کند که موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و بیان اینترلوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود. به‌نظر می‌رسد تعامل متقابلی میان استرس اکسایشی و استرس التهابی وجود دارد (۳۰). بنابراین ممکن است که رادیکال‌های آزاد، آنژیوژنز ناشی از ورزش در ریه را میانجی‌گری کنند. در این زمینه گزارش شده رادیکال‌های آزاد مستقیماً بیان گیرنده VEGFR-2 را افزایش می‌دهند (۳۱).

در پژوهش حاضر دیده شد حجم عروق ریوی پس از دوره تمرین تناوبی شدید افزایش معنادار یافت. در میان گیرنده‌های VEGF، VEGFR-2 بیشترین سیگنالینگ مربوط به VEGF را حمایت می‌کند. در خصوص نقش VEGFR-2 در پیشبرد فرایندهای پروآنژیوژنیک و رگ‌زایی گزارش‌های متعددی وجود دارد. پس از اتصال لیگاند، VEGFR-2 با دیمره شدن خود شرایط را برای کمپلکس و آبخار سیگنالینگ درون‌سلولی فراهم می‌آورد و در نهایت تأثیرات ویژه خود را بر جای می‌گذارد. تکثیر سلولی ناشی از عملکرد VEGFR-2 با فعال‌سازی مسیر Erk انجام می‌گیرد و با کاده‌رین^۲ اندوتلیال عروقی مرتبط است. این تعامل سبب انتقال کاتنین-β به هسته و رونویسی ژنی فاکتور القایی افزایشنده لنفوئیدی می‌شود. کاتنین-β و در نتیجه مسیر Wnt نقش مهمی در آنژیوژنز ایفا می‌کند (۳۲). راه‌اندازی مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز/Akt ناشی از پیام‌رسانی VEGFR-2 بقای سلول‌های اندوتلیال، خاموش کردن کاسپاز-۹ و پروتئین آپوپتوتیک Bad و همچنین افزایش تولید NO به‌وسیله سلول‌های اندوتلیال است (۳۳). اتصال لیگاند به VEGFR-2 همچنین زمینه را برای فعال‌سازی کیناز مرکزی، p38 MAPK و پاکسیلین^۳ فراهم می‌آورد، از این‌رو امکان مهاجرت سلول‌های اندوتلیال فراهم می‌آید (۳۴). علاوه بر این تعامل VEGFR-2 با src و تیروزین کیناز- مثبت، شرایط نفوذپذیری عروقی ناشی از

1. Reactive oxygen species
2. Cadherin
3. paxillin

VEGF را فراهم می‌آورد (۹). تمام مسیرهای درون سلولی مذکور که با سیگنالینگ VEGFR-2 راه‌اندازی می‌شوند، مقدماتی برای رشد و افزایش چگالی عروقی هستند که احتمالاً می‌تواند توجیه‌کننده همبستگی مثبت و نسبتاً قوی بین VEGFR-2 و حجم عروقی مشاهده‌شده در پژوهش حاضر باشد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی تناوبی به خصوص اگر با شدت متوسط به بالا اجرا شوند، قادرند فعالیت‌های پروآنژیوژنیک گسترده‌ای را در ریه راه‌اندازی کنند. این سازگاری‌ها احتمالاً از طریق محرک‌هایی چون ایجاد هایپوکسی در بافت‌های فعال و غیرفعال، بر هم زدن شارژ انرژی، فعال‌سازی پیامبرهای ثانویه، القای نیروهای همودینامیک و فیزیکی به جداره عروق و بافت‌های تحت کشش ایجاد می‌شوند. در پژوهش حاضر نیز افزایش معنادار VEGFR-2، حجم عروق ریوی و وجود ارتباط مثبت بین این دو شاخص با اجرای ۶ هفته تمرین تناوبی شدید دیده شد که این تغییرات احتمالاً با افزایش ظرفیت هوازی واحد قلبی- تنفسی و ارتقای Vo_{2max} همراه است.

منابع و مآخذ

1. Jung ME, Bourne JE, Beauchamp MR, Robinson E, Little JP. High-intensity interval training as an efficacious alternative to moderate-intensity continuous training for adults with prediabetes. *Journal of diabetes research*. 2015;2015.
2. Milanović Z, Sporiš G, Weston M. Effectiveness of high-intensity interval training (HIT) and continuous endurance training for VO 2max improvements: a systematic review and meta-analysis of controlled trials. *Sports Medicine*. 2015;45(10):1469-81.
3. Yadegari M, Mirdar S, Hamidian G. The effect of high-intensity interval training on lung parenchymal and non-parenchymal structural changes. *Daneshvar Medicine Journal* 2016;23(124):56-60.
4. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011;300(6):R1303-R10.
5. Voelkel NF, Vandivier RW, Tuder RM. Vascular endothelial growth factor in the lung. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2006;290(2):L209-L21.
6. Maeda S, Suzuki S, Suzuki T, Endo M, Moriya T, Chida M, et al. Analysis of intrapulmonary vessels and epithelial-endothelial interactions in the human developing lung. *Laboratory investigation*. 2002;82(3):293.
7. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine reviews*. 2004;25(4):581-611.
8. Keong CC, Singh HJ, Singh R. Effects of palm vitamin E supplementation on exercise-induced oxidative stress and endurance performance in the heat. *Journal of sports science & medicine*. 2006;5(4):629.

9. Keglwich L, Borger P. The three A's in asthma—airway smooth muscle, airway remodeling & angiogenesis. *The open respiratory medicine journal*. 2015;9:70.
10. Kasahara Y, Tudor RM, Taraseviciene-Stewart L, Le Cras TD, Abman S, Hirth PK, et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(11):1311-9.
11. Marini M, Falcieri E, Margonato V, Treré D, Lapalombella R, Di Tullio S, et al. Partial persistence of exercise-induced myocardial angiogenesis following 4-week detraining in the rat. *Histochemistry and cell biology*. 2008;129(4):479-87.
12. Pryor JS, Montani J-P, Adair TH. Angiogenic growth factor responses to long-term treadmill exercise in mice. *Indian journal of physiology and pharmacology*. 2010;54(4):309.
13. Hoier B, Passos M, Bangsbo J, Hellsten Y. Intense intermittent exercise provides weak stimulus for vascular endothelial growth factor secretion and capillary growth in skeletal muscle. *Experimental physiology*. 2013;98(2):585-97.
14. Helgerud J, Høydal K, Wang E, Karlsen T, Berg P, Bjerkaas M, et al. Aerobic high-intensity intervals improve $\dot{V}O_2\text{max}$ more than moderate training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2007;39(4):665-71.
15. Yadegari M Riahi S, Mirdar S, Hamidian G, Mosadegh zavaragh P. Effect of the *Adiantum capillus Veneris* Extract on Bax and Bcl2 Apoptotic Markers of Lung Modulation in Trained Rats and Exposed to Hypoxic Stress. *Journal of Medicinal Plants*. 2018;4(64):162-71.
16. Yadegari M, Riahi S, Mirdar S, Hamidiyan GH, yousefpour M, Riyahi F. Immunohistochemical detection of apoptotic factors Bax and Bcl-2 in the lung alveoli, followed by six weeks of high intensity exercise training. *Daneshvar Medicine*. 2016;24(129):31-40.
17. Di Cataldo S, Ficarra E, Acquaviva A, Macii E. Automated segmentation of tissue images for computerized IHC analysis. *Computer methods and programs in biomedicine*. 2010;100(1):1-15.
18. GILANI K, Vafakhah M. Hypoxia: a review. 2010.
19. Heusner AA. Body size, energy metabolism, and the lungs. *Journal of Applied Physiology*. 1983;54(4):867-73.
20. ROBB GP, Steinberg I. Visualization of the chambers of the heart: the pulmonary circulation and the great blood vessels in man: summary of methods and results. *Journal of the American Medical Association*. 1940;114(6):474-80.
21. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2006;291(3):H1290-H8.
22. Bailey SJ, Winyard P, Vanhatalo A, Blackwell JR, DiMenna FJ, Wilkerson DP, et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O_2 cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*. 2009;107(4):1144-55.
23. Nilsson I, Rolny C, Wu Y, Pytowski B, Hicklin D, Alitalo K, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-3 in hypoxia-induced vascular development. *The FASEB Journal*. 2004;18(13):1507-15.
24. Tudor RM, Flook BE, Voelkel NF. Increased gene expression for VEGF and the VEGF receptors KDR/Flk and Flt in lungs exposed to acute or to chronic hypoxia. Modulation of gene expression by nitric oxide. *The Journal of clinical investigation*. 1995;95(4):1798-807.
25. Hudlicka O, Brown MD. Adaptation of skeletal muscle microvasculature to increased or decreased blood flow: role of shear stress, nitric oxide and vascular endothelial growth factor. *Journal of vascular research*. 2009;46(5):504-12.

26. Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2009;457(5):963.
27. Lee HJ, Koh GY. Shear stress activates Tie2 receptor tyrosine kinase in human endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003;304(2):399-404.
28. Chikara Goto R, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, et al. Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilation in Humans. 2003.
29. Zhao W, Zhao T, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y. Reactive oxygen species promote angiogenesis in the infarcted rat heart. *International journal of experimental pathology*. 2009;90(6):621-9.
30. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic medicine*. 2009;8(1):1.
31. Kim Y-W, Byzova TV. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. *Blood*. 2014;123(5):625-31.
32. Skurk C, Maatz H, Rocnik E, Bialik A, Force T, Walsh K. Glycogen-synthase kinase3 β / β -catenin axis promotes angiogenesis through activation of vascular endothelial growth factor signaling in endothelial cells. *Circulation research*. 2005;96(3):308-18.
33. Cardone MH, Roy N, Stennicke HR, Salvesen GS, Franke TF, Stanbridge E, et al. Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation. *Science*. 1998;282(5392):1318-21.
34. Cross MJ, Dixelius J, Matsumoto T, Claesson-Welsh L. VEGF-receptor signal transduction. *Trends in biochemical sciences*. 2003;28(9):488-94.

Tracking of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 and Pulmonary Vascular Volume after 6 Weeks of High Intensity Interval Training

Shadmehr Mirdar¹ - Gholamreza Hamidian² - Mehdi Yadegari^{1*3}

1. Associate Professor, PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran 2. Assistant Professor, PhD of Comparative Histology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran 3. PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

(Received: 2016/2/8; Accepted: 2016/7/10)

Abstract

The vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR-2) has the most potent angiogenic signaling associated with VEGF. So far no research has been published on the effect of training on VEGFR-2 and the vascular volume in the lungs. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of high intensity interval training on VEGFR-2 expression and pulmonary vascular volume in male Wistar rats. In this experimental study, the sample included 10 male Wistar rats and were randomly and equally divided into training and control groups. The rats started the training program with the speed of 25 meters per minute and finished with 70 meters per minute during 6 weeks. Each training session included 10 one-min. repetitions with 2-min. rest intervals. In the end, lung tissue was extracted for stereological and immunohistochemistry tests. Statistical analysis with independent t test and Pearson correlation coefficient showed a significant increase in VEGFR-2 (sig: 0.001) and pulmonary vascular volume (sig: 0.042) in the training group compared with the control group, and a positive and almost strong relationship between changes in these two indicators and training (sig: 0.035). In general, it seems that 6 weeks of high intensity interval training has the potential to promote of lung pro-angiogenic processes.

Keywords

high intensity interval training, lung, vascular endothelial growth factor, vascular volume.

* Corresponding Author: Email: mehdi.sport313@yahoo.com, Tel: +989387677501

