

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

مجتبی صادق قمی^{۱*}، مجید کاشف^۲، مجتبی صالح پور^۳

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

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

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

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

Email: Mojtabasadeghghomi@sru.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲

دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۴

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 و کنترل) تقسیم شدند. گروه تمرین ورزشی شنا هشت هفته، هر هفته ۵ روز متوالی برای ۶۰ دقیقه در آب با دمای 32 ± 2 درجه سانتی‌گراد تمرین کردند. برای اندازه‌گیری 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 $P \leq 0.05$ استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین شنا با افزایش معنا دار VEGF-A ($P = 0.002$) و FGF-2 ($P = 0.000$) 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 ($P = 0.012$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین شنا، باعث افزایش عوامل موثر در رگ‌زایی 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

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 سلول‌های اندوتلیال عروق موجود (آنژیوبلاست) است. آنژیوژنز در حالت‌های فیزیولوژیک مثل چرخه تولید مثل، بهبود زخم‌ها و رشد و نمو و همینطور در حالت‌های پاتوفیزیولوژیک مثل دیابت، روماتوئید آرتریت و سرطان نقش دارد (۳). در بدن عوامل آنژیوژنیک و آنتی‌آنژیوژنیک زیادی وجود دارند. در

در بدن انسان متعاقب تمرینات ورزشی، تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک عمده‌ای در جهت برطرف کردن شرایط استرسی ناشی از فعالیت ورزشی و بهبود عملکرد رخ می‌دهد (۱). یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های حاصله در سطح عضله اسکلتی و قلبی، افزایش چگالی مویرگی یا آنژیوژنز است. پیدایش و تکوین عروق جدید، قابلیت‌هایی برای تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیکی از طریق افزایش جریان خون محیطی و فراهمی

ذهنی و سطوح VEGF و BDNF هیپوکمپ در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار یافت (۱۹). همچنین هونگ و همکاران (۲۰۰۶) اثر سه هفته تمرین استقامتی را بر مقادیر mRNA آنژیوپوئین ۱ و ۲ 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 فاکتورهای یاد شده داشت. از طرف دیگر سکنه مغزی سومین سازه مرگ و میر در امریکا است (۲۰). همچنین بر اساس اطلاعات اپیدمیولوژیک موجود، گروهی از کارشناسان تخمین زده‌اند که امروز، ۲۴/۳ میلیون نفر از مردم دنیا به زوال عقل مبتلا هستند و ۴/۶ میلیون مورد جدید از زوال عقل در هر سال (هر ۷ ثانیه یک مورد) نیز اضافه می‌شوند. از طرفی دیگر نتایج مطالعات انجام شده در خصوص تأثیر فعالیت ورزشی مختلف بر سطوح VEGF و FGF متفاوت بوده است. یوسال و همکاران (۲۰۱۴)؛ در تحقیقی با عنوان تأثیرات فعالیت ورزشی اختیاری و غیر اختیاری بر عملکردهای ذهنی و سطوح VEGF و BDNF در رت‌های نوجوان به این نتیجه رسیدند که یادگیری در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل بهبود یافت. همچنین سطوح VEGF و BDNF هیپوکمپ در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار داشت (۱۹). در حالی که بریسیوس و همکاران (۲۰۰۸)؛ در تحقیقی ۲۱ مرد چاق ۵۰ تا ۶۰ ساله را به سه گروه، دویدن بر روی تردمیل، دوچرخه سواری و کنترل تقسیم کردند. گروه‌های تمرینی، دویدن (۶۰ دقیقه) و دوچرخه سواری (۹۰ 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 (۲۱).

همچنین به دلیل نقش تمرینات استقامتی دارای تحمل وزن مانند دویدن، طناب زدن، پیاده روی کردن در سلامت جسمانی، استفاده از این گونه تمرینات بسیار توصیه شده است، اما هر چند که این تمرینات به لحاظ متابولیکی تقاضای انرژی بالاتری نسبتاً 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 خصوصاً برای افراد عادی در جامعه کنونی می‌باشد. از این رو

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 می‌شود و این بر هم خوردن تعادل محرک رگ زایی است (۴،۵،۶). مهم ترین فاکتورهای آنژیوژن، عامل رشدی اندوتلیالی عروق (VEGF)^۱ و عامل رشدی فیبروبلاستی (FGF)^۲ هستند (۵،۶). با توجه به مطالعات انجام شده، آنژیوژن یک سازگاری حیاتی با تمرینات ورزشی است. فعالیت ورزشی شدید باعث کاهش فشار اکسیژن داخل سلولی و در نهایت تحریک فرآیند آنژیوژن می‌شود. عاملی که باعث تحریک این پدیده به وسیله تمرینات ورزشی می‌شود، کاهش فشار سهمی اکسیژن است (۷). 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 می‌گردد (۸). همچنین با توجه به اثرگذاری VEGF و FGF در خون‌رسانی و مشاهده نقص خون‌رسانی در بیماری‌هایی همچون آلزایمر و هانگنیتون (۹،۱۰) به نظر می‌رسد که VEGF و FGF یکی از عوامل تأثیر گذار در این بیماری‌ها باشند. با توجه به اثرات تحریکی VEGF بر آکسون‌زایی (۱۱)، تحریک رشد و بقایای سلول‌های شوان در شرایط هایپوکسی (۱۲)، افزایش و تکثیر مهاجرت آستروسیت‌ها و میکروگلیاها (۱۳،۱۴)، تقویت نوروژن و اثرات تروفیکی بر نورون‌ها و گلیاها در CNS^۳ و PNS^۴ به نظر می‌رسد VEGF علاوه بر اثرات آنژیوژنی و سلامت عروق به عنوان یک عامل مهم دارای اثرات حفاظتی و تروفیکی برای نورون‌ها می‌باشد (۱۵) که به عوامل گسترده‌ای همچون هورمون‌ها، فاکتورهای رشدی و غلظت اکسیژن بستگی دارد (۱۸-۱۱،۱۶).

یوسال و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی تأثیرات فعالیت ورزشی اختیاری و اجباری را بر عملکردهای ذهنی و سطوح VEGF و BDNF^۵ هیپوکمپ در رت‌های نوجوان بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که یادگیری‌ها و عملکردهای

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

اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی وزارت علوم تهران با کد IR.SSRI.REC.1397.278 و کد ردیابی ۴۵۶۱۴ 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، ۶۰ سانتی‌متر عرض و ۱۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین ارتفاع داشت و از ۶ 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 می‌شد تا دمای آب در محدوده ۳۴-۳۰ درجه سانتی‌گراد 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 ۲۲±۲ 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 ۶۰ دقیقه رسید و در مرحله حفظ در هفته‌های هفتم و هشتم مدت تمرین شنا، ۶۰ 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 خشک کردن موش‌ها از حوله‌های خشک و تمیز و بدون دستگاه حرارتی مانند سشوار استفاده شد.

انتخاب روش تمرینی مناسب و پرنشاط که دارای مزایای سلامتی و فشار کمتر به مفاصل خصوصاً 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 نمونه‌های سالم و دارای بیماری‌های قلبی تحقیقات مختلفی صورت گرفته است (۲۸-۲۲)؛ اما اثرات تمرین ورزشی شنا بر سازگاری در بافت هیپوکمپ و میزان تاثیرگذاری آن‌ها بر VEGF-A و خصوصاً FGF-2 کمتر سنجیده شده است. بنابراین 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 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 پیش‌آزمون و پس‌آزمون انجام شد. در این تحقیق سعی شد تا تمامی متغیرهای تحقیق کنترل شود. این متغیرها 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 حیوان‌خانه دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی) 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

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

روش‌های آماری

برای توصیف داده‌ها در آمار توصیفی از میانگین، انحراف‌معیار استفاده شد. همچنین برای مشخص شدن توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو - ویلک استفاده شد. لازم به ذکر است که تعیین نرمال بودن داده‌ها به تفکیک برای گروه‌های 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 = ۰/۳۵۹) طبیعی و کنترل (statistic = ۰/۸۰۳, P = ۰/۴۷۸) 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 = ۰/۰۵۲) غیرطبیعی شد. برای تعیین تفاوت بین گروه تمرین ورزشی شنا و کنترل برای شاخص FGF-2 از آزمون تی مستقل و برای شاخص VEGF-A و شاخص لی به ترتیب از آزمون یومن ویتنی و ویکاکسون در سطح $P \leq ۰/۰۵$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

یافته‌ها

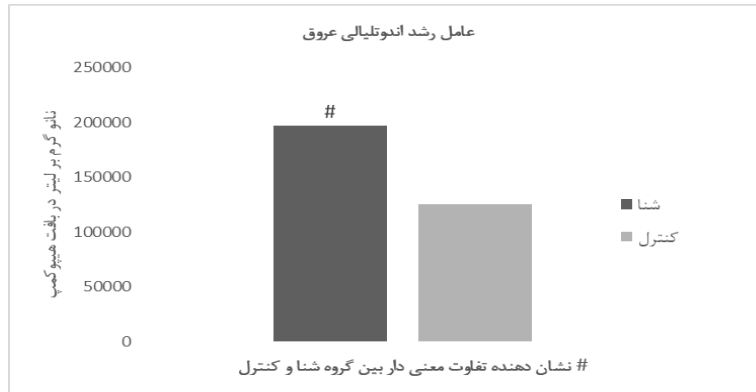
نتایج حاصل از آزمون یومن ویتنی برای VEGF-A که توزیع غیر طبیعی داشت، نشان داد که پس از هشت هفته فعالیت ورزشی شنا در آب میزان پروتئین آنژیوژنزی VEGF-A نسبت به کنترل افزایش معنی‌دار دارد که در شکل ۱ نشان داده شده است (statistic = -۳/۰۴۶, P = ۰/۰۰۲). همچنین نتایج آزمون تی مستقل برای FGF-2 که توزیع طبیعی داشت، نشان داد که هشت هفته فعالیت ورزشی شنا در آب باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین FGF-2 نسبت به گروه کنترل می‌شود که در شکل ۲ نشان داده شده است (statistic = ۵/۷۷۹, P = ۰/۰۰۰۱). 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 (statistic = -۲/۵۲۱, P = ۰/۰۱۲).

موش‌های گروه کنترل بدون هیچ تمرین ۸ هفته را پشت سر گذاشتند. در طول این مدت موش‌های گروه کنترل استرس دست‌تمرین‌دهنده را برای یکسان شدن با گروه تمرین ورزشی شنا دریافت می‌کردند. برای اثبات کفایت تمرین و تأثیر آن، متغیر تثبیت‌کننده شاخص لی^۱ در ابتدا و انتهای ۸ هفته برای گروه تمرین ورزشی شنا اندازه‌گیری 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).

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

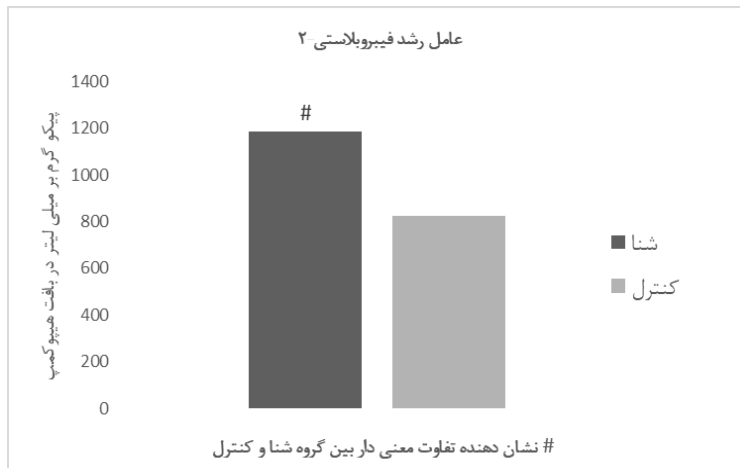
۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، برای از بین رفتن پاسخ آخرین جلسه تمرین موش‌ها نمونه‌گیری شدند. به این صورت که ابتدا هر حیوان با استفاده از گاز CO در محفظه مخصوص بیهوشی، بیهوش و پس از خون‌گیری از قلب، جمع‌هم آنها شکافته و بافت هیپوکمپ دو نیمکره از ناحیه سوپریور خارج گردید. هیپوکمپ‌های جداشده بلافاصله وارد کرایوتیوب می‌شدند و سریعاً 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 می‌دهد. 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)^۲ با تکنیک الیزای 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



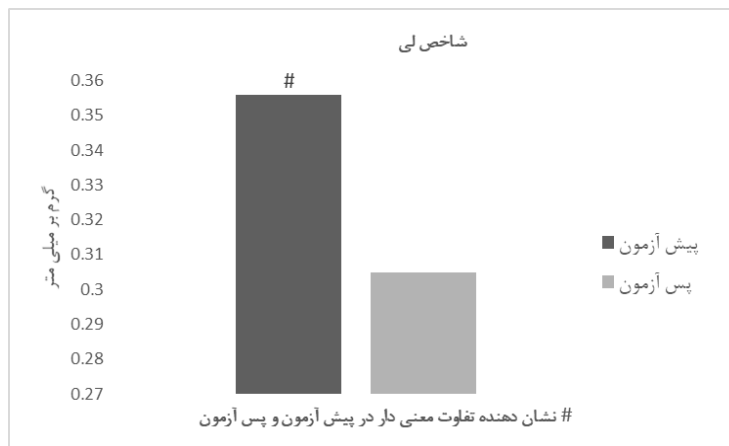
شکل ۱. تفاوت معنی دار VEGF-A در گروه تمرین ورزشی شنا و کنترل

هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث افزایش معنی دار VEGF-A بافت هیپوکمپ نسبت به گروه کنترل شد ($P=0/002$).



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

هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث افزایش معنی دار FGF-2 بافت هیپوکمپ نسبت به گروه کنترل شد ($P=0/000$).



شکل ۳. تفاوت معنی دار شاخص لی در گروه تمرین ورزشی شنا در پیش آزمون و پس آزمون

هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث کاهش معنی دار شاخص لی نسبت به گروه کنترل شد ($P=0/012$).

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 می‌شود. نتایج تحقیق حاضر با مطالعه رجیبی و همکاران (۱۳۹۸) که تأثیر هشت هفته تمرین هوازی را بر بیان ژن HIF1 α و VEGF و آنژیواسانتین هیپوکمپ موش‌های صحرایی نژاد ویستار بررسی کردند، همسو بود (۳۱). نتایج تحقیق حاضر با تحقیق یوسال و همکاران (۲۰۱۴) که تأثیرات فعالیت ورزشی اختیاری و اجباری را بر عملکرد های ذهنی و سطوح VEGF و BDNF هیپوکمپ در رت‌های نوجوان بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که یادگیری‌ها و عملکرد های ذهنی و سطوح VEGF و BDNF هیپوکمپ در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار می‌یابد؛ 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 آنژیوپوئین ۱ و ۲ و VEGF و چگالی مویرگی در استراتوم و قشر موش‌های صحرایی سالمند نژاد ویستار سنجیدند، هم‌سو بود. یافته‌های 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 ۶ 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 (۳۴) توسط محققین دیگر تایید شد. در ادامه، نتایج تحقیق حاضر با تحقیق رضایی و همکاران (۱۳۹۴) 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 رت‌ها 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 می‌شود؛ در حالی که در مقادیر bFGF در دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (۷). نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق مهری و همکاران در شاخص bFGF ناهمسو بود که این ناهمسویی را می‌توان 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 پس‌آزمون تحقیق مهری و همکاران افزایش داشت، ولی این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود؛ به نظر می‌رسد برای افزایش bFGF به شدت تمرینی بیشتر نیاز باشد. اگرچه چگونگی و مکانیزم اثر و تفاوت‌های روش‌های تمرینی مختلف بر رگ‌زایی بافت مغز هنوز کاملاً ناشناخته است، اما به نظر می‌رسد 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 می‌یابد؛ 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 ۶۰ درصد VO₂ اوج) افزایش و سپس این مقدار تا نزدیک به VO₂ اوج بدون تغییر باقی می‌ماند. اما این مقادیر با افزایش شدت به بالاتر از VO₂ اوج افت می‌کند. از آنجایی که در تحقیق حاضر شدت تمرین برای گروه تمرین ورزشی شنا به تدریج تا هفته هشتم افزایش می‌یافت، 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 می‌تواند دلیلی برای افزایش معنی‌دار VEGF-A هیپوکمپ در گروه 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-۶، عامل نکروز دهنده آلفا با عامل رشدی

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، ارتباط بین ترشح FGF-2 با جراحی در سارکوپلاسما باشد. از آنجا که با تمرین ورزشی جراحی‌هایی در سارکوپلاسما ایجاد می‌شود، به تبع از آن افزایش ترشح FGF-2 را به دنبال دارد. در تحقیق که کلارک و فیک (۲۰۰۴) انجام دادند، ثابت شد که تحریک مکانیکی و جراحی سارکولومی و میانجی شدن ترشح FGF-2 یک مکانیزم اتوکراین مهم برای هدایت تحرکات مکانیکی به سوی پاسخ رشد عضله اسکلتی و افزایش خون‌رسانی است (۳۶). افزایش ترشح FGF-2 به همراه افزایش محیطی IGF-1 و همچنین تسهیل عبور از مایع خونی-مغزی می‌تواند باعث افزایش تحریک آنژیوژنزی در بافت مغز شود (۴۳-۴۱). با این وجود به تحقیقات بیشتری برای مشخص شدن سازوکار افزایش FGF-2 بافت هیپوکمپ در پاسخ به یک دوره فعالیت ورزشی نیاز است.

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین ورزشی شنا باعث افزایش معنی‌دار عوامل موثر در رگ‌زایی بافت هیپوکمپ موش‌ها و متعاقب آن خون‌رسانی بهتر به بافت هیپوکمپ در مقایسه با گروه کنترل می‌شود، کما اینکه باعث بهبود توده بدنی موش‌های تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های کنترل می‌شود.

اندوتلیالی عروق وجود دارد. اما این همبستگی با FGF-2 وجود ندارد (۳۵). یکی دیگر از علت‌های احتمالی افزایش عوامل آنژیوژنزی می‌تواند افزایش میزان ترشح هورمون رشد باشد. چرا که فعالیت ورزشی شنا میزان ترشح GH در مقایسه با گروه کنترل را افزایش می‌دهد. اما در این تحقیق میزان آن اندازه‌گیری نشد که می‌تواند یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر باشد. به دنبال تمرین ورزشی و افزایش مقادیر هورمون‌های رشدی از جمله GH، محور GH-IGF-1 فعال می‌شود و میزان فاکتورهای رگ‌زایی افزایش می‌یابد (۳۶). همچنین هورمون رشد عاملی برای فعال‌سازی و تبدیل eNOS به NO است که این مسیر نیز می‌تواند از طریق رگ‌گشایی، عاملی برای رگ‌زایی باشد (۳۷). در ورزشکاران هایپوکسی موضعی، افزایش بیان VEGF ناشی از فعالیت ورزشی را از چند مسیر امکان‌پذیر می‌سازد. در شرایط هایپوکسی و ایسکمی ناشی از فعالیت ورزشی، فاکتور القاکننده هایپوکسی (HIF) افزایش می‌یابد (۳۸، ۳۹) و این فاکتور با اثرگذاری بر ناحیه پیش‌برنده ژن VEGF، باعث افزایش بیان آن می‌شود. همچنین با افزایش شدت فعالیت، تجمع لاکتات و آدنوزین افزایش می‌یابد. لاکتات و آدنوزین از طریق فعال‌سازی گیرنده A2 موجب افزایش غلظت cAMP و افزایش سطوح VEGF mRNA می‌شوند (۴۰). همچنین گزارش شده است که آدنوزین در آزاد شدن VEGF سلولی نقش مستقیمی دارد. پژوهش‌های اندکی در خصوص FGF-2 یا همان bFGF انجام شده که نتایج متفاوت

منابع

- 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.
- Rehn M, Veikkola T, Kukkk-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.
- 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.
- Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *cell.* 1996;86(3):353-64
- 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.
- Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors. *Blood Cells Mol Dis.* 2007;38(3):258-68.
- 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]
- Oosthuysen 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.
- Kalaria RN. Small vessel disease and Alzheimer's dementia: pathological considerations. *Cerebrovasc Dis.* 2002;13(2):48-52.
- 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.
- 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. Pegg 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, Puntchart 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 metalloproteinase-2 and transforming growth factor- β 1 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. Zarezahehmehrzi 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-1 α , 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, Khodaghali F, Haghparsat A. Effect of eight weeks continuous 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, Jousseaume AM, Mitsiades N, Mitsiades CS, Iliaki EF, Adamis AP. Insulin-like growth factor-I plays a pathogenetic role in diabetic retinopathy. *Am J Pathol.* 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-1 α signaling pathway. *Exp Ther Med.* 2014;8(1):118-24.
39. Roozbahani P, Mirzae B. Effect of high interval training in normobaric and normoxia hypoxia conditions on IL-6 serum values and its relationship with glucose in athletes young. *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- β 1 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 roles of 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 Kashef², Mojtaba Salehpour³

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

Received: 2022/07/15

Accepted: 2022/08/24

Abstract

*Correspondence:

Email:

MojtabaSadeghghomi@sru.ac.ir

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 $32\pm 2^{\circ}\text{C}$ 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 $p\leq 0.05$.

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