تاریخ دریافت:۹۴/۰۴/۱۸ تاریخ پذیرش:۹۵/۰۲/۱۱ ص ص: ۱۹۱-۱۸۱

عامل القایی هایپوکسی یک آلفا، فاکتور رشد اندوتلیال عروق و یک جلسه تمرین شنای زیر آبی

دکتر مرضیه ثاقب جو[۱]، حامد عیدی یوسف آباد[۲]، زینب نظام دوست[۳]

چکیده

سابقه و هدف: سطوح سرمی عامل القایی هایپوکسی یک آلفا (HIF-1α) و عامل رشد اندوتلیال عروق (VEGF) به عنوان فاکتورهای مهم در فرایند رگ زایی، با فعالیت ورزشی تغییر می کنند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی پاسخ سطوح سرمی HIF-1α، VEGF و درصد اشباع اکسیژن مویرگی محیطی (SpO_2) متعاقب ۱ جلسه تمرین شنای زیر آبی در مردان جوان بود. **مواد و روش ها:** ده شناگر مرد (میانگین سن ۲/۲۶± ۲۳/۳۰ سال و شاخص توده بدنی ۳/۹۱± ۲۳/۸۰ کیلوگرم بر متر مربع)، داوطلبانه در این تحقیق شرکت کردند. تمرین شامل ۲۰ متر شنای زیر آبی بود که ۱۰ بار تکرار شد و بین هر ۲ تکرار نیز ۱ دقیقه استراحت در نظر گرفته شده بود. نمونه‌گیری خون، قبل، بلافاصله و ۲ ساعت پس از اجرای تمرین انجام شد. میزان SpO_2 قبل، بلافاصله پس از هر تکرار و ۱ دقیقه بعد از اتمام تمرین اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معناداری P<۰/۰۵ تحلیل شد. **یافته‌ها:** یک جلسه تمرین شنای زیر آبی، موجب افزایش معنادار VEGF سرم بلافاصله پس از تمرین شد (P=۰/۰۲) و ۲ ساعت پس از تمرین به حدود سطح پایه بازگشت (P=۰/۶۷). سطح سرمی HIF-1α بلافاصله پس از تمرین تغییر معناداری نداشت (P=۰/۹۹)، اما ۲ ساعت پس از تمرین کاهش معناداری داشت (P=۰/۰۱). علاوه بر آن، تغییر معناداری در میزان SpO_2 در هر ۲ زمان پس از تمرین مشاهده نشد (P=۰/۰۵). **نتیجه گیری:** به نظر می رسد تمرینات شنای زیر آبی، با کاهش سطح سرمی HIF-1α و افزایش سطح سرمی VEGF می تواند به عنوان یک عامل در شروع فرایندهای رگ زایی مشارکت داشته باشد و در جهت افزایش چگالی مویرگی در ورزشکاران مورد مطالعه قرار گیرد.

کلید واژه‌ها : شنا، آپنه، عامل القایی هایپوکسی یک آلفا، عامل رشد اندوتلیال عروق، درصد اشباع اکسیژن مویرگی محیطی

۱. دانشیار فیزیولوژی ورزش، ، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران (نویسنده مسئول)، m_saghebjoo@birjand.ac.ir
۲. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
۳. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

مقدمه

توانایی احساس و پاسخ به تغییرات غلظت اکسیژن یک نیاز اساسی برای بقای همه ارگانیسم ها است. عامل القایی هایپوکسی یک آلفا (HIF-1α)[1] تنظیم کننده کلیدی پاسخ های مولکولی به هایپوکسی و میانجی دامنه وسیعی از سازوکارهای سلولی و فیزیولوژیکی ضروری برای سازگاری با کاهش اکسیژن محسوب می شود (۱). عامل القایی هایپوکسی یک آلفا در شرایط نورموکسی (میزان اکسیژن طبیعی محیط یا اکسیژن سطح دریا) به علت قرار گرفتن در معرض تخریب پروتئازومی در مقادیر خیلی کم موجود می باشد (۲)، اما هنگامی که سلول های عضله صاف سرخرگ ریوی یا سلول های اندوتلیال، در معرض هایپوکسی حاد قرار می گیرند؛ افزایش سطح HIF-1α و اتصال آن به DNA رخ می دهد (۳). فعالیت بدنی نیز از جمله عوامل اثرگذار بر میزان HIF-1α به شمار می رود (۴). محققان نشان داده اند که با انجام فعالیت های ورزشی استقامتی، میزان بیان و فعالیت HIF-1α در عضلات اسکلتی و بافت هایی نظیر ریه افزایش می یابد (۵). مونیر[2] و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعات خود به این نتیجه دست یافتند که طی تمرینات استقامتی، رونویسی HIF-1α، اولین پاسخ سازگاری به فشارهای هایپوکسی است که واکنش های گلیکولیز و رگ زایی [3] را در پاسخ به سطوح پایین اکسیژن بافت ها تنظیم می‌کند (۶). عامل القایی هایپوکسی یک آلفا می تواند تاثیرات مضر پاتولوژیکی در شرایط ایسکمی[4] و بیماری های دیابت، آترواسکلروزیس و سرطان داشته باشد (۵). هایپوکسی با فعال کردن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی[5] (VEGF)، ماکروفاژها و نوتروفیل ها در رگ زایی مؤثر است (۷). فاکتور رشد اندوتلیال عروقی از مهم ترین تنظیم کننده های اختصاصی رگ زایی است (۸) و اغلب توسط سلول های اندوتلیال، عضلهٔ صاف، تاندون، پلاکت ها، تیموس و عضلهٔ اسکلتی ترشح می شود (۹). فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در پاسخ به محرک هایی مانند هایپوکسی و استرس برشی (نیروی همودینامیکی ناشی از اصطکاک جریان خون با دیوارهٔ عروق) از سلول های اندوتلیالی ترشح می شود (۱۰). برخی مطالعات نشان دادند فعالیت های ورزشی شامل فعالیت های ورزشی حاد مقاومتی (۱۱) و استقامتی از طریق افزایش بیان فاکتورهای رگ زایی مانند VEGF، موجب تحریک فرایند رگ زایی می شود (۱۲). همچنین افزایش سطح سرمی VEGF تحت شرایط هایپوکسی متعاقب فعالیت ورزشی دوچرخه سواری توسط سوهر[6] و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شده است (۱۳). تحقیقات زیادی نشان داده اند که محرک های زیادی مانند ایسکمی، تنش بافتی و دینامیک جریان خون (۱۴)، شدت و مدت فعالیت ورزشی (۱۵)، گونه های فعال اکسیژن[7] (ROS) (۷) و برخی از سایتوکاین ها (۶) موجب رگ زایی می شوند. اگر چه همه این عوامل در تنظیم VEGF مشارکت دارند، اما هایپوکسی مهمترین عامل تنظیم کننده رگ زایی است (۵). هایپوکسی به موقعیت های کلینیکی یا محیطی اطلاق می شود که هومئوستاز اکسیژن بافتی را به مخاطره می اندازد. در شرایط هایپوکسی، افزایش چشمگیری در فاکتورهای قابل القای هایپوکسی رخ می دهد (۱). به نظر می رسد که فعال سازی شرایط هایپوکسی، سازگاری هایی را آغاز می کند که اثرات منفی در معرض قرار گیری با هایپوکسی را کاهش می دهد. همچنین پایین آمدن فشار اکسیژن در سلول های اندوتلیال از طریق سیگنال منفی، موجب

1. Hypoxia inducible factor –1α
2. Mounier
3. Angiogenesis
۴. Ischemia
۵. Vascular endothelial growth factor
۶. Suhr
7. Reactive oxygen species

تکثیر و مهاجرت سلول های اندوتلیال می شود و بیان VEGF سرمی را افزایش می دهد (۱۶). مدت و شدت تمرین در شرایط هایپوکسی با نیمرخ بیان HIF-1α در سطح سلولی در انسان ها همبسته است. نیمه عمر واکنش به هایپوکسی بین ۱۳-۱۲ دقیقه است (۱۷). اما بزرگی این پاسخ به طور تصاعدی با درجه هایپوکسی متفاوت است (۱۸). این مشاهدات لزوم تعیین حداقل مدت، شدت و نوع تمرین هایپوکسی در برنامه تمرین در هایپوکسی برای کاهش فشار اکسیژن در عضله فعال را تقویت می کنند، تا پاسخ مناسب HIF-1α حاصل شود (۱۹). پژوهش ها نشان می دهد شنای زیر آبی (آپنه ای) علاوه بر ایجاد شرایط هایپوکسی در بدن، منجر به سازگاری های شناخته شده در پاسخ متابولیک می گردد. به عنوان مثال این نوع تمرین علاوه بر افزایش مدت زمان آپنه و حجم ریه (۲۰)، به کاهش ضربان قلب، کاهش اسیدوز خون و استرس اکسیداتیو منجر می شود (۲۱). شنای زیر آبی با ایجاد شرایط هایپوکسی و فشار کم اکسیژن بافتی، می تواند یک پیام بازخوردی مهم برای آغاز رگ زایی باشد (۲۲).

با وجودی که هایپوکسی به عنوان یک محرک مهم، باعث افزایشVEGF می شود (۱۴)، تحقیقات نشان می دهد علاوه بر هایپوکسی عوامل مختلفی مانند آسیب بافتی (۷)، متابولیت ها (۶) و همچنین عبور خون با فشار از درون رگ ها باعث ایجاد رگ زایی می شود (۵). با وجود تحقیقات وسیع صورت گرفته، هنوز معلوم نیست که هر کدام از این عوامل چه سهمی در فرایند رگ زایی دارند (۱۶).

با توجه به پتانسیل تاثیر شنای آپنه ای با ایجاد شرایط هایپوکسی بر فعالیت رگ زایی (۱۵) و از طرفی نقش تنظیمی HIF-1α (۶) و VEGF (۱۶) در شروع فرایند رگ زایی، این پژوهش در نظر دارد پاسخ سطح سرمی HIF-1α و VEGF به یک جلسه شنای تناوبی زیر آبی در مردان جوان را مورد بررسی قرار دهد. اثرات مثبت رگ زایی در فعالیت های ورزشی، خصوصا در شرایط دسترسی کمتر اکسیژن، معقول به نظر می رسد. از آنجایی که در شنای زیرآبی میزان اکسیژن کمتری در اختیار شناگر می باشد و کمبود اکسیژن، محرکی برای فاکتورهای رگ زایی تلقی می گردد، لذا استنتاج منطقی، تغییر سطوح فاکتورهایی از قبیل HIF-1α و VEGF در شنای زیرآبی است.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی با طرح پیش و پس آزمون بود. از آنجا که VEGF یکی از مهمترین فاکتورهایی است که تفاوت‌های فردی در آن تأثیر دارد (۲۲)، از این رو به منظور کنترل تفاوت های فردی، این تحقیق با یک گروه تجربی اجرا شد. جامعه آماری تحقیق حاضر، دانشجویان پسر شناگر دانشگاه بیرجند، با میانگین سنی ۲/۲۶ ± ۲۳/۳۰ سال بودند. منظور از شناگر، فردی بود که به ۴ نوع شنا مسلط و در ۶ ماه قبل از تحقیق، دارای حداقل هفته‌ای ۱ جلسه تمرین شنا باشد. در ابتدا از بین دانشجویان مذکور، ۱۲ شناگر به صورت داوطلبانه و هدفمند انتخاب شدند، که در نهایت ۱۰ شناگر که رکورد ورودی ۵۰ متر کرال سینه آنها مشابه یکدیگر بود، به عنوان نمونه تحقیق انتخاب شدند. ملاک‌های انتخاب آزمودنی‌ها، نداشتن سابقه بیماری‌های قلبی ـ عروقی، تنفسی، دیابت، صرع، کم خونی و عدم مصرف سیگار یا هر نوع داروی خاصی بود. این اطلاعات از طریق پرسشنامه‌ای که در اختیار آنها قرار گرفت، به دست آمد. پس از تشریح اهداف تحقیق و چگونگی مراحل انجام آن برای آزمودنی‌ها، آنها رضایت نامه کتبی مبنی بر حضور داوطلبانه و آگاهانه در این تحقیق را تکمیل

نمودند. طی مراحل اخذ رضایت نامه آگاهانه کتبی، به شرکت کنندگان توضیح داده شد که شرکت آنان داوطلبانه می باشد و این حق برای آنان محفوظ است که در هر مرحله از تحقیق، انصراف دهند. هر گونه آسیب در مرحله گرم کردن، در مرحله مداخله اصلی و یا عدم تمایل می توانست سبب خروج اختیاری شرکت کنندگان باشد. خوشبختانه مورد خروج از مطالعه در این تحقیق وجود نداشت. لازم به ذکر است پروتکل این تحقیق در کمیته بررسی طرح های تحقیقاتی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه بیرجند، به لحاظ مسایل اخلاقی مورد تایید قرار گرفت.

قبل از اجرای پروتکل تحقیق، قد، وزن و شاخص توده بدنی اندازه‌گیری شد و توان هوازی بیشینه نیز با استفاده از آزمون میدانی هوازی بیشینه شاتل ران[1] ارزیابی شد (۲۳). در جدول ۱ ویژگی‌های فردی آزمودنی‌ها ارائه شده است.

جدول ۱. ویژگی های فردی آزمودنی ها

متغیر	میانگین و انحراف معیار
سن (سال)	۲۳/۳۰ ± ۲/۲۶
قد (سانتی متر)	۱۷۸/۱۰ ± ۷/۳۵
وزن (کیلوگرم)	۷۵/۳۵ ± ۱۱/۶۵
شاخص توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۳/۸۰ ± ۳/۹۱
توان هوازی بیشینه (میلی لیتر بر کیلوگرم در دقیقه)	۴۵/۱۱ ± ۵/۸۸

سپس نحوه اجرای تمرین شنا برای شناگران توضیح داده شد. هفتاد و دو ساعت پس از اندازگیری‌های اولیه، آزمودنی‌ها به استخر مراجعه نمودند. به افراد توصیه شده بود که در مدت این ۷۲ ساعت از انجام هرگونه فعالیت شدید خودداری نمایند. تغذیه شب قبل و صبح روز آزمون، میزان خواب و زمان ناشتایی در ساعت اجرای آزمون نیز بین تمام آنها همسان شد. لازم به ذکر است که تمام آزمودنی‌ها هنگام خون‌گیری پیش آزمون و اجرای تمرین، در وضعیت ناشتایی ۴ ساعته بودند. به منظور کنترل دقیق شرایط، تمرین در بازه زمانی ۱۰/۳۰ الی ۱۳ انجام گرفت. دمای آب، دمای محیط و رطوبت استخر به ترتیب ۳۱ و ۳۷ درجه سانتی گراد و ۶۲ درصد تنظیم شد. آزمودنی‌ها پس از ۱۰ دقیقه شنا با شدت پایین (به منظور گرم کردن)، تمرین تناوبی شنا را اجرا نمودند: این تمرین شامل ۱۰ تناوب شنای زیر آبی در مسافت ۲۰ متر بود. برای به کارگیری این روش، پس از استارت از لبه استخر، با الگویی مشابه با شنای قورباغه با حداکثر سرعت در زیر آب شنا کردند. بین هر ۲ تناوب شنای ۲۰ متری، یک دقیقه استراحت در نظر گرفته شده بود. لازم به ذکر است که پس از اجرای تمرین، میانگین سرعت، حدود ۹۲ سانتی متر بر ثانیه و مدت اجرای تمرین اصلی حدود ۱۲ دقیقه به دست آمد که با احتساب زمان گرم کردن در مجموع ۲۲ دقیقه به طول انجامید. به منظور کنترل شدت تمرین، ضربان قلب قبل از اجرای تمرین، بلافاصله پس از هر تکرار و ۱ دقیقه بعد از اتمام تمرین، در حالی‌که شناگر در لبه استخر ایستاده بود، با ضربان سنج پولار (Polar F6 TM Black Coal، ساخت کشور فنلاند) اندازه‌گیری شد. به محض این که شناگر به لبه

1.Shuttle run

استخر می‌رسید؛ ضربان سنج به حسگر نصب شده روی قفسه سینه شناگر، نزدیک می شد و پس از حدود ۳ ثانیه، اولین عددی که روی نمایشگر ضربان سنج ظاهر می گردید، به عنوان ضربان قلب شناگر ثبت گردید. پس از اجرای تمرین، میانگین ضربان قلب در هنگام تمرین، حدود ۱۳۵ ضربه در دقیقه ثبت گردید. میزان SpO2 آزمودنی‌ها قبل از اجرای پروتکل، بلافاصله پس از هر تکرار و ۱ دقیقه بعد از اتمام پروتکل، در حالی‌که شناگر در لبه استخر ایستاده بود؛ با پالس اکسی متری زیکلاس مد[۲] (مدل CMS50D1، ساخت کشور چین) اندازه گیری شد. به محض این که شناگر به لبه استخر می‌رسید؛ بلافاصله انگشت اشاره دست راست او توسط آزمونگر خشک می گردید و گیره پالس اکسی متری به آن متصل می‌شد، پس از حدود ۵ ثانیه، عددی که دستگاه به طور ثابت نمایش می‌داد، به عنوان میزان SpO2 ثبت می گردید. نمونه گیری خون نیز در ۳ مرحله قبل (متعاقب ۴ ساعت ناشتایی)، بلافاصله و ۲ ساعت بعد از اجرای پروتکل انجام گرفت. از آن‌جا که در ترمیم زخم و التهاب، عوامل رشدی و رگ‌زایی همچون عامل رشد اندوتلیال عروق و عامل رشد مشتق از پلاکت‌ها[۳] تجمع می‌یابند (۲۵،۲۴)، لذا نمونه‌گیری خون در مراحل مختلف، به طور متناوب از وریدهای هر ۲ دست صورت گرفت. در هر مرحله خون گیری، ۵ میلی لیتر خون از هر آزمودنی گرفته شد. نمونه‌های خون به ۲ قسمت تقسیم شد. بخش اول نمونه ها به منظور جداسازی سرم، در لوله‌های آزمایشی بدون ماده ضد انعقادی ریخته شد. به منظور کاهش زمان ماندن نمونه در شرایط آزمایشگاهی، طی ۵ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط و تشکیل لخته، بلافاصله نمونه ها سانتریفیوژ شده (۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) و محلول سرم از لخته جدا شد و تا زمان انجام آزمایشات (اندازه گیری سطوح VEGF و HIF-1α) در دمای منفی ۸۰ درجه نگهداری شدند. سطح سرمی VEGF به روش ایمونواسی آنزیمی[۴] و با استفاده از کیت تحقیقاتی نمونه های انسانی (ساخت کمپانی کازابیو[۵] چین، تهیه شده از شرکت پادگین طب، تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. حساسیت کیت ۷/۸ پیکوگرم در میلی لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی ۷/۲ درصد بود. سطح سرمی HIF-1α نیز به روش ایمونواسی آنزیمی و با استفاده از کیت تحقیقاتی مخصوص نمونه های انسانی (ساخت کمپانی کازابیو چین، تهیه شده از شرکت پادگین طب، تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. حساسیت کیت ۱۵/۶پیکوگرم در میلی لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی ۶/۸ درصد بود. بخش دوم نمونه ها در لوله های آزمایشی حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA-K3) ریخته شد و سپس در دستگاه شمارشگر سلولی sysmex-kx21n قرار گرفت و مقدار هموگلوبین و هماتوکریت نمونه ها اندازه گیری شد. سپس به منظور حذف آثار موقت فعالیت ورزشی بر حجم پلاسما و متغیرهای خونی مورد سنجش، تغییرات حجم پلاسما با استفاده از معادله دیل و کاستیل[۶] (با استفاده از مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت) محاسبه شد (۲۶).

طبیعی بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو ویلک بررسی شد و داده هایی که توزیع غیر طبیعی داشتند، از روش تبدیل لگاریتمی به داده های طبیعی تبدیل شدند. با توجه به این که داده ها دارای توزیع طبیعی بودند، ابتدا برای توصیف داده‌ها از روش‌های آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده‌شد. سپس به منظور بررسی اثر متغیر مستقل بر متغیرهای وابسته از آزمون آماری پارامتریک تحلیل واریانس با اندازه گیری‌های مکرر و به

۲. Zyklusmed pulse oximeter
۳ Platelet-derived growth factor.
3. Enzyme immunoassay
4. Cusabio
۶ . Dill-Costill

منظور بررسی تفاوت بین وهله‌های مختلف زمانی، از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری تحقیق با نرم افزار آماری SPSS۱۹ انجام گرفت و سطح معناداری آزمون ها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که ۱ جلسه تمرین شنای زیر آبی، بر سطح سرمی VEGF تاثیر معناداری داشت (P=۰/۰۰۲) (جدول ۲). متعاقبا نتایج آزمون تعقیبی حاصل از مقایسه های جفتی میانگین های سطح سرمی VEGF در مراحل مختلف زمانی، نشان داد سطح سرمی VEGF بلافاصله پس از تمرین نسبت به قبل از تمرین به طور معناداری افزایش داشت (P=۰/۰۲) و در ۲ ساعت پس از تمرین به حدود سطح پایه بازگشت (P=۰/۶۷).

جدول۲. میانگین ± انحراف استاندارد و نتایج آزمون تحلیل واریانس در مورد پاسخ متغیرهای تحقیق به تمرین در مراحل مختلف زمانی

متغیر	زمان	میانگین و انحراف معیار	مقدار F	مقدار P
VEGF (پیکو گرم در میلی لیتر)	قبل از تمرین	۹/۷۱±۱/۲۵	۱۵/۱۰	۰/۰۰۲
	بلافاصله پس از تمرین	۱۳/۶۱±۳/۵۲*		
	۲ ساعت پس از تمرین	۹/۲۰±۱/۱۸		
HIF-1α (پیکو گرم در میلی لیتر)	قبل از تمرین	۴/۱۶±۰/۳۰	۳/۷۳	۰/۰۴
	بلافاصله پس از تمرین	۴/۲۷±۰/۲۱		
	۲ ساعت پس از تمرین	۳/۹۳±۰/۲۲≠		
SpO_2 (درصد)	قبل از تمرین	۹۵/۹۰±۱/۴۴	۵/۳۴	۰/۰۵
	بلافاصله پس از تمرین	۹۲/۴۶±۳/۷۷		
	یک دقیقه پس از تمرین	۹۵/۶۰±۰/۸۴		

*: وجود تفاوت معنادار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به قبل از تمرین

≠: وجود تفاوت معنادار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به بلافاصله پس از تمرین

بر اساس نتایج تحقیق، یک جلسه تمرین شنای زیر آبی منجر به تغییرات معنادار سطح سرمی HIF-1α در مردان شناگر شد (P=۰/۰۴) (جدول ۲). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد، سطح سرمی HIF-1α بلافاصله و ۲ ساعت پس از تمرین نسبت به قبل از تمرین تغییر معناداری نداشت (مقادیر P به ترتیب ۰/۹۹ و ۰/۲۰)، اما متعاقب ۲ ساعت پس از تمرین نسبت به بلافاصله پس از تمرین کاهش معناداری یافت (P=۰/۰۱). همچنین نتایج تحقیق نشان داد یک جلسه تمرین شنای زیر آبی، بر میزان SpO_2 تاثیر معناداری نداشت (P=۰/۰۵) (جدول ۲).

بحث

نتـایج مطالعـه حاضـر نشـان داد، یـک جلسـه تمـرین شـنای زیـر آبـی، موجـب افـزایش معنـادار سـطح سـرمی VEGF بلافاصـله پـس از تمـرین شـد (P=۰/۰۲) و ۲ سـاعت بعـد از تمـرین بـه حـدود سـطح پایـه بازگشـت (P=۰/۶۷). سـطح سـرمی HIF-1α نیـز ۲ سـاعت پـس از تمـرین در مقایسـه بـا بلافاصـله پـس از تمـرین کـاهش معنـاداری داشـت (P=۰/۰۱). عـلاوه بـر آن در میـزان SpO_2 در هـر ۲ زمـان پـس از تمـرین تغییر معناداری مشاهده نشد (P=۰/۰۵).

تغییر در سطوح فاکتورهای رگ زایی مانند VEGF و عامل رشدی فیبروبلاست[۷] (bFGF) در بافت ها و گردش خون انسان (۷) و حیوانات (۹) به دنبال فعالیت های ورزشی نشان داده شده است. عیدی یوسف آباد و همکاران (۱۳۹۴) پاسخ سطح سرمی VEGF و ضربان قلب به ۱ جلسه تمرین شنای کرال سینه با کنترل تنفس و لوله تنفسی در مردان جوان را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس یافته های مطالعه مذکور، هر ۲ تمرین شنا منجر به افزایش معنادار سطح سرمی VEGF بلافاصله پس از تمرین شد و در ۲ و ۴۸ ساعت پس از تمرینات به سطح پایه بازگشت. ضربان قلب نیز بلافاصله و ۱ دقیقه پس از هر ۲ تمرین افزایش معناداری داشت. محققان نتیجه گیری کردند که این تمرینات احتمالا از طریق افزایش ضربان قلب و ایجاد هایپوکسی، منجر به افزایش سطح سرمی VEGF شد (۲۷). در مطالعه حاضر سطح سرمی VEGF بلافاصله پس از انجام تمرین افزایش یافت. چندین سازوکار احتمالی برای تغییر سطح VEGF سرم در پاسخ به فعالیت ورزشی وجود دارد (۱۱). کاهش سطح اکسیژن سبب اختلال در عملکرد دستگاه هایی می شود که به حضور اکسیژن وابسته هستند و اگر هایپوکسی خیلی شدید باشد؛ می تواند به مرگ سلول منجر شود. بنابراین لازم است سازوکارهایی برای سازگاری با این نوع کمبود اکسیژن وجود داشته باشد (۱) که از جمله آنها می توان به افزایش سطح VEGF اشاره نمود. تحقیقات در زمینه ورزش نشان داده اند که ترکیب هایپوکسی با تمرین ورزشی منجر به بیان بیشتر mRNA (۷) و پروتئین VEGF می شود (۸). همچنین سوهر و همکاران (۲۰۰۷) افزایش سطح VEGF سرمی متعاقب ۱ جلسه فعالیت دوچرخه سواری در شرایط هایپوکسی را گزارش کردند (۱۳). در مطالعه حاضر، بازگشت سطح سرمی VEGF به مقادیر پایه در زمان ۲ ساعت پس از تمرین را می توان به تعادل بین پروتئین های در گردش خون از نظر میزان تولید و اتصال آنها به گیرنده ها (۲۸) و یا افزایش برخی از فاکتورهای مهار رگ زایی در شرایط هایپوکسی مانند اینترفرون های α,β,δ، اینترلوکین ۴، مهارگرهای ماتریکس متالو پروتئازها، آنژیو استاتین و اندو استاتین نسبت داد (۲۹). افزایش اتصال VEGF به گیرنده های آن در اندوتلیوم، یک سازوکار احتمالی است که می تواند موجب کاهش سطح سرمی VEGF در مطالعه حاضر شود و در نهایت موجب تحریک فرایند رگ زایی در بافت هایی مانند قلب و عضله اسکلتی گردد. اتصال VEGF به سایر پروتئین ها مانند هپارین سولفات و سلول های پروژنیتوری اندوتلیال [۸] (EPC) از نشت پذیری بیش از حد عروق خونی در مقابل افزایش سطحVEGF سرمی محافظت می کند (۲۸). از طرفی به موازات افزایش VEGF، افزایش برخی فاکتورهای مهار آن، می تواند موجب کاهش سطحVEGF سرم و در نهایت مهار فرایند رگ زایی شود (۲۹).

یافتـه هـای پـژوهش حاضـر، کـاهش معنـادار سـطح سـرمی HIF-1α را متعاقـب ۲ سـاعت پـس از تمـرین نسـبت بـه بلافاصـله پـس از تمـرین نشـان داد (P=۰/۰۱). در شـرایط هایپوکسـی، افـزایش

1. Fibroblast growth factor
۸ . Endothelial Progenitor Cell

چشمگیری در mRNA و پروتئین HIF-1 رخ می دهد که در انواع بافت های پستانداران (۳۰) و به طور خاص در عضلات اسکلتی (۳۱) بیان می شود. این پروتئین از ۲ زیر واحد HIF-1α و HIF-1β تشکیل شده است که HIF-1α نیمه عمر کوتاهی دارد و به تغییرات میزان اکسیژن فوق العاده حساس است؛ در حالی که HIF-1β به تغییرات میزان اکسیژن حساسیت زیادی ندارد. تحت شرایط هایپوکسی، تجزیه HIF-1α بلوکه می شود، زیرا هیدروکسیله شدن[۹] مهار می شود، بنابراین پروتئین HIF-1α در شرایط هایپوکسی انباشته می شود و این افزایش تراکم، زمینه اتصال HIF-1α به HIF-1β و تشکیل کمپلکس HIF-1 را فراهم می آورد (۳۱). یکی از دلایل کاهش معنادار سطح سرمی HIF-1α متعاقب ۲ ساعت پس از تمرین را نیز می توان به تشکیل کمپلکس HIF-1 نسبت داد. کمپلکس HIF-1 نیز بعد از شکل گیری می تواند عناصر واکنش دهنده به هایپوکسی[۱۰] (HRE) که روی ژن های هدف در هسته قرار دارند را شناسایی کنند و واکنش بین HIF-1 و HRE سرانجام رونویسی ژن مربوط به VEGF را آغاز می کند (۳۲). از این رو، همبستگی بالایی بین افزایش بیان ژن VEGF با تغییرات ژن HIF-1α گزارش شده است (۳۳). یه[۱۱] و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهشی، سطح سرمی HIF-1α و پاسخ حاد هایپوکسی تهویه[۱۲] (AHVR) بعد از آموزش هایپوکسی را در ۳۰ دونده نخبه بررسی کردند. نتایج نشان داد سطح سرمی HIF-1α همراه با این نوع تمرین افزایش می یابد (۳۴). آنها بیان کردند، علاوه بر تاثیر شرایط هایپوکسی بر سطح سرمی HIF-1α، تحریکات غیر هایپوکسی نظیر سایتوکاین های التهابی، بیان و فعالیت HIF-1α را القا می کنند. با توجه به این که فعال شدن سایتوکاین های التهابی در هایپوکسی حاد قابل دسترسی است، تفاوت در شدت تمرین می تواند از دلایل احتمالی ناهمسویی نتایج مطالعه اخیر با مطالعه حاضر باشد.

از دیگر نتایج مطالعه حاضر، عدم تغییر معنادار میزان SpO2 متعاقب تمرین بود (P=۰/۰۵). فشار کم اکسیژن بافتی می تواند یک پیام بازخوردی مهم برای آغاز رگ زایی باشد. به طور عمده در خلال ورزش با شدت بالا، سطح اکسیژن شریانی کاهش می یابد (۳۵). در شرایط تمرین‌های هایپوکسی، مقدار کمبود اکسیژن و اسید لاکتیک خون (همچنین اسید لاکتیک عضله) بیشتر از زمانی است که همان تمرین با تنفس طبیعی انجام شود. از طرفی هومئوستاز گازهای خونی شریانی در خلال ورزش در شرایط هایپوکسی به تغییرات هماهنگ شده متابولیسم بافت، تهویه حبابچه ای، برونده قلبی و جریان خون محیطی بستگی دارد (۱). یافته های ناهمسویی در مورد تمرین در شرایط هایپوکسی به دست آمده است که احتمالا ناشی از ترکیبات متفاوت مدت و شدت تمرین و ابزار اندازه گیری متفاوت می باشد. هم راستا با نتایج این پژوهش، تروجنس[۱۳] و همکاران (۲۰۰۳) تغییری در میزان SpO2 شناگران پس از برنامه تمرین هایپوکسی در ارتفاع مشاهده نکردند (۳۶). از طرفی ورونز[۱۴] و همکاران (۲۰۱۳) با به کارگیری ابزار دقیقی جهت اندازه گیری درصد اشباع اکسیژن مویرگی محیطی، نشان دادند که کاهش ارادی تهویه همراه با حجم ریوی کم در تمرینات شنا، منجر به کاهش اشباع اکسیژن مویرگی و افزایش لاکتات می‌شود (۳۷). از دلایل احتمالی ناهمسویی نتایج مطالعه اخیر با مطالعه حاضر، می توان به استفاده

۹ . Hydroxylation

۱۰ . Hypoxia responsive element

1. Yeh
2. Acute hypoxic ventilation replies
3. Truijens
4. Woorons

از ابزار متفاوت اندازه گیری میزان SpO_2، عدم حساسیت و دقت مشابه این ابـزار در انـدازه گیـری و دوره کوتـاه هایپوکسی در مطالعه حاضر اشاره کرد.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد، تمرین شنای تناوبی زیر آبی، با کاهش سطح سرمی HIF-1α و افزایش سطح سرمی VEGF می تواند به عنوان ۲ فاکتور موثر در شروع فرایندهای رگ زایی نقش داشته باشد. این تمرینات می تواند به عنوان روش تمرینی مناسبی در جهت افزایش چگالی مویرگی در ورزشکاران مورد مطالعه قرار گیرد. البته ذکر این نکته ضروری است، با توجه به این که فاکتورهای مهار کننده رگ زایی در این تحقیق اندازه گیری نشده است، لذا می تواند به عنوان محدودیت مطالعه حاضر مورد توجه قرار گیرد. اندازه گیری این فاکتورها همزمان با فاکتورهای تحریک کننده فرایند رگ زایی در مطالعات بعدی، می تواند اطلاعات کامل تری در خصوص اثر بخشی این تمرینات ارائه دهد. از دلایل احتمالی عدم تغییر میزان SpO_2، می توان از عوامل مختلفی نظیر مدت تمرین کوتاه و زمان استراحت طولانی بین تکرارها، کم بودن تعداد آزمودنی ها و عدم دسترسی به ابزار اندازه گیری دقیق سنجش SpO_2 نام برد، لذا پیشنهاد می شود در مورد اثر بخشی تمرینات شنا در شرایط هایپوکسی بر میزان SpO_2، اصلاح این محدودیت ها مد نظر قرار گیرد.

References:

1. Shimoda LA, Semenza GL. 2011. HIF and the lung: role of hypoxia-inducible factors in pulmonary development and disease. Am J Respir Crit Care Med. 183(2):152-6.
2. Weidemann A, Johnson RS. 2008. Biology of HIF-1alpha. Cell Death Differ. 15(4): 621-7.
3. Chun YS, Choi E, Kim GT, Choi H, Kim CH, Lee MJ. 2001. Cadmium blocks hypoxia-inducible factor (HIF)-1-mediated response to hypoxia by stimulating the proteasome dependent degradation of HIF 1alpha. Euro J Biochem. 267(13): 4198-204.
4. Tissot van Patot MC, Serkova NJ, Haschke M, Kominsky DJ. 2009. Enhanced leukocyte HIF-1alpha and HIF-1DNA binding in humans after rapid ascent to 4300 m. Free Radic Biol Med. 46(11):1551-7.
5. Lum JJ, Bui T, Gruber M, Gordan JD, DeBerardinis RJ, Covello KL, et al. 2007. The transcription factor HIF-1alpha plays a critical role in the growth factor-dependent regulation of both aerobic and anaerobic glycolysis. Genes Dev. 21(9):1037-49.
6. Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, et al. 2009. Effect of intermittent hypoxic training on HIF gene expression in human skeletal muscle and leukocytes. Eur J Appl Physiol. 105(4):515-24.
7. Thébaud B. 2007. Angiogenesis in lung development, injury and repair: implications for chronic lung disease of prematurity. Neonatology. 91(4):291-7.
8. Islami D, Bischof P, Chardonnens D. 2003. Modulation of placental vascular endothelial growth factor by leptin and hCG. Mol Hum Reprod. 9(7):395-8.
9. Davis PG, Wideman L, Bloomer RJ, Consitt LA, Weaver RA, You T. 2002. Acute effect of prolonged cycle ergometer exercise on plasma vascular endothelial growth factor. Med Sci Sports Exerc. 34(5): 30-5.
10. Wood RE, Sanderson BE, Askew CD, Walker PJ, Green S, Stewart IB. 2006. Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. Clin Sci (Lond).111(6):401-9.
11. DA Silva ND Jr, Fernandes T, Soci UP, Monteiro AW, Phillips MI, DE Oliveira EM. 2012. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA-126 expression and angiogenesis. Med Sci Sports Exerc. 44(8):1453-62.

12. Gu JW, Shparago M, Tan W, Bailey AP. 2006. Tissue endostatin correlates inversely with capillary network in rat heart and skeletal muscles. Angiogenesis. 9(2):93–9.
13. Suhr F, Brixius K, de Marees M, Bolck B, Kleinoder H, Achtzehn S, et al. 2007. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. J Appl Physiol(1985). 103(2): 474-83.
14. Montesinos MC, Desai A, Chen JF, Yee H, Schwarzschild MA, Fink S, et al. 2003. Adenosine promotes wound healing and mediates angiogenesis in response to tissue injury via occupancy of A(2A) receptors. Am J Pathol. 160(6): 2009–18.
15. Gavin TP, Westerkamp M, Zwetsloot KA. 2006. Soleus, plantaris and gastrocnemius VEGF mRNA responses to hypoxia and exercise are preserved in aged compared with young female C57BL/6 mice. Acta Physiol(Oxf). 188(2): 113–21.
16. Jensen L, Schjerling P, Hellsten Y. 2004. Regulation of VEGF and bFGF mRNA expression and other proliferative compounds in skeletal muscle cells. Angiogenesis. 7(3): 255–67.
17. Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH, Gassmann M. 2001. Induction of HIF-1 in response to hypoxia is instantaneous. FASEB J. 15(7): 1312–4.
18. Richardson RS, Duteil S, Wary C, Wray DW, Hoff J, Carlier PG. 2006. Human skeletal muscle intracellular oxygenation: the impact of ambient oxygen availability. J Physiol. 571(Pt 2): 415–24.
19. Mason SD, Howlett RA, Kim MJ, Olfert IM, Hogan MC, McNulty W, et al. 2004. Loss of skeletal muscle HIF-1alpha results in altered exercise endurance. PLoS Biol. 2(10): e288.
20. Schagatay E, Van Kampen M, Emanuelsson S, Holm B. 2000. Effects of physical and apnea training on apneic time and the diving response in humans. Eur J Appl Physiol. 82(3): 161–9.
21. Joulia F, Steinberg JG, Faucher M, Jamin T, Ulmer C, Kipson N, et al. 2003. Breath-hold training of humans reduces oxidative stress and blood acidosis after static and dynamic apnea. Respir Physiol Neurobiol. 137(1): 19–27.
22. Stefanini MO, Wu FT, Mac Gabhann F, Popel AS. 2008. A compartment model of VEGF distribution in blood, healthy and diseased tissues. BMC Syst Biol. 2: 77.
23. Ramsbottom R, Brewer J, Williams C. 1988. A progressive shuttle run test to estimate maximal oxygen uptake. Br J Sports Med. 22(4): 141-8.
24. Frigato E, Lunghi L, Ferretti ME, Biondi C, Bertolucci C. 2009. Evidence for circadian rhythms in human trophoblast cell line that persist in hypoxia. Biochem Biophys Res Commun. 378(1): 108-11.
25. Carmeliet P. 2003. Angiogenesis in health and disease. Nat Med. 9(6): 653-60.
26. Dill DB, Costill DL. 1974. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. J Appl Physiol. 37(2): 247-8.
27. Eidi Yusef Abad H, Saghebjoo M, Hedayati M, Ilbeigi S. 2015. The response of serum levels of vascular endothelial growth factor to two types of swimming exercise in hypoxia condition in young men. Sci J Kurdistan Univ Med Sci. 20 (3): 10-22. (Persian)
28. Buford TW, Cooke MB, Shelmadine BD, Hudson GM, Redd L, Willoughby DS. 2009. Effects of eccentric treadmill exercise on inflammatory gene expression in human skeletal muscle. Appl Physiol Nutr Metab. 34(4):745-53.
29. Lee JH, Chun T, Park SY, Rho SB. 2008. Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) regulates VEGF-induced angiogenesis in HUVECs. Biochim Biophys Acta .1783(9): 1654 -62.

30. Haddad JJ, Harb HL. 2005. Cytokines and the regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha. Int Immunopharmacol. 5(3):461-83.
31. Rundqvist H. 2008. Skeletal muscle HIF-1 and exercise. Thesis for doctoral degree. Stockholm: Karolinska Institutet.
32. Pugh CW, Ratcliffe PJ. 2003. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. Nat Med. 9(6):677-84.
33. Gustafsson T, Ameln H, Fischer H, Sundberg CJ, Timmons JA, Jansson E. 2005. VEGF-A splice variants and related receptor expression in human skeletal muscle following submaximal exercise. J Appl Physiol(1985). 98(6):2137–46.
34. Yeh CH, Cho W, So EC, Chu CC, Lin MC, Wang JJ, et al. 2011. Propofol inhibits lipopolysaccharide-induced lung epithelial cell injury by reducing hypoxia-inducible factor-1α expression. Br J Anaesth. 106 (4):590-9.
35. Lusina SJ, Kennedy PM, Inglis JT, McKenzie DC, Ayas NT, Sheel AW. 2006. Long-term intermittent hypoxia increases sympathetic activity and chemosensitivity during acute hypoxia in humans. J Physiol. 575(Pt 3):961–70.
36. Truijens MJ, Toussaint HM, Dow J, Levine BD. 2003. Effect of high-intensity hypoxic training on sea-level swimming performances. J Appl Physiol(1985). 94(2):733–43.
37. Woorons X, Bourdillon N, Lamberto C, Vandewalle H, Richalet JP, Mollard P, et al. 2011. Cardiovascular responses during hypoventilation at exercise. Int J Sports Med. 32(6): 438–45.