

علوم زیستی ورزشی \_ زمستان ۱۳۹۵  
دوره ۸، شماره ۴، ص: ۵۳۱-۵۱۷  
تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۰۴  
تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۰۶

## بررسی اثر تمرین استقامتی شنا و مصرف کادمیوم بر نشانگرهای درون زاد هیپوکسی و رشد اندوتلیال عروقی قلب موش‌های صحرائی باردار

احمد جعفری\*<sup>۱</sup> - شادمهر میردار<sup>۲</sup> - محسن زروار<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران ۲. دانشیار دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران ۳. کارشناس ارشد تربیت بدنی دانشگاه تهران، تهران، ایران

### چکیده

هدف مطالعه حاضر بررسی اثر یک دوره تمرین زیربیشینه شنا و مصرف کادمیوم بر HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیالی در قلب موش‌های باردار بود. ۳۲ سر موش صحرائی ویستار باردار به‌طور تصادفی به چهار گروه کادمیوم، شنا، شنا + کادمیوم و کنترل تقسیم شدند. پروتکل تمرین شنا در سه هفته به‌صورت پنج بار در هفته و به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه در گروه شنا و شنا + کادمیوم تکمیل شد. کادمیوم به‌صورت کراید محلول در آب توسط گروه کادمیوم و شنا + کادمیوم مصرف شد و سطوح HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی بافت قلب به روش الیزا اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد مصرف کادمیوم به‌تنهایی یا به‌همراه تمرین شنا به افزایش معنادار سطوح HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیالی منجر شد ( $P=0/001$ ). تمرین شنا به‌تنهایی به کاهش معنادار HIF-1 $\alpha$  و افزایش معنادار فاکتور رشد اندوتلیالی منجر شد ( $P=0/001$ ) و ترکیب تمرین شنا با مصرف کادمیوم موجب کاهش آثار کادمیوم بر متغیر HIF-1 $\alpha$  ( $P=0/046$ ) و فاکتور رشد اندوتلیالی ( $P=0/002$ ) شد. بنابراین، مصرف کادمیوم ممکن است به افزایش غیرطبیعی HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیالی قلب موش‌های باردار منجر شود و تمرین ورزشی شنا با تعدیل آثار کادمیوم ممکن است از بافت قلب آنان محافظت کند.

### واژه‌های کلیدی

تمرین شنا، فاکتور یک‌القایی هایپوکسی، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، کادمیوم.

Email : Jafari43@yahoo.com

\* نویسنده مسئول : تلفن : ۰۹۱۱۲۱۳۵۷۶۴

## مقدمه

توانایی احساس و پاسخ به تغییرات غلظت اکسیژن یک نیاز اساسی برای بقای همه ارگانسیم‌هاست (۳۵). تغییرات فشار اکسیژن بافتی می‌تواند تغییراتی را در سطح ژنی و سنتز پروتئین ایجاد کند. فاکتور یک‌القایی هایپوکسی<sup>۱</sup> (HIF1) در سال ۱۹۹۲ به‌عنوان فاکتور رونویسی ژن رمزگذار پروتئین اریتروپویتین<sup>۲</sup> انسان شناخته شد. براساس نتایج بررسی‌ها HIF1 یک پروتئین هتروداایمر<sup>۳</sup> است و از یک زیرواحد تنظیمی HIF-1 $\alpha$  و زیرواحد HIF-1 $\beta$  تشکیل می‌شود. در صورت کاهش مقدار اکسیژن بین‌سلولی، فعالیت‌های آنزیمی پرولیل هیدروکسیلازها<sup>۴</sup> مهار می‌شود و این شرایط به رونویسی هسته‌ای و ایجاد HIF-1 $\alpha$  پس از شکل‌گیری هترو دایمر فعال HIF-1 $\beta$  منجر می‌شود که به‌طور اساسی در رونویسی عوامل ژنی سازگار با هایپوکسی شامل آنژیوژنز، گلیکولیز، خون‌سازی و کاتکولامین‌ها نقش دارد (۱۸). این فاکتور پروتئینی یک میانجی کلیدی هنگام نمو، بارداری و فعالیت‌های عملکردی محسوب می‌شود (۲۹). امروزه بیش از صد ژن در رونویسی و ترجمه ژنی HIF-1 $\alpha$  شناسایی شدند و بیشتر از دو درصد ژن‌های انسان به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در سلول‌های اندوتلیال شریانی<sup>۵</sup> در سنتز HIF-1 $\alpha$  دخالت می‌کنند (۲۱) که از میان آنها فاکتور رشدی اندوتلیال عروقی<sup>۶</sup> (VEGF) قدرتمندترین میتوزن مخصوص اندوتلیالی است که سلول‌های اندوتلیال را نسبت به هایپوکسی کانونی<sup>۷</sup> و ناحیه بدون عروق<sup>۸</sup> تحریک و تکثیر آنها را تسهیل می‌کند (۳۴). مطالعات حیوانی نشان می‌دهد حذف ژن HIF-1 $\alpha$  که کدگذار پروتئین HIF-1 $\alpha$  است، به توقف سیر پیشرفت رشد جنینی در روزهای هشتم تا نهم و همچنین وضعیت مرگبار جنینی در روزهای دهم تا یازدهم به‌همراه ناهنجاری‌های قلبی و عروقی و همچنین کاهش خون‌سازی می‌انجامد (۱۱). بنابراین HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشدی اندوتلیال عروقی سیگنال‌دهنده‌های ضروری برای حفظ و نگهداری چگالی عروقی و تأمین اکسیژن در هایپوکسی بافتی‌اند (۹).

1. Hypoxia-inducible factor-1
2. Erythropoietin
3. Heterodimeric protein
4. Prolyl hydroxylase(PHDs)
5. Arterial endothelial cells
6. Vascular endothelial growth factor
7. Hypoxic foci
8. Avascular area

از سوی دیگر، فرار گرفتن در معرض فلزات سنگین در طول دوره رشد و نمو یک هشدار جدی برای ایجاد مسمومیت است. در این بین، کادمیوم فلزی نرم به رنگ نقره‌ای سفید است که به‌طور طبیعی در پوسته زمین یافت می‌شود؛ طعم و بوی خاصی ندارد و به‌صورت اکسید کادمیوم، کلراید کادمیوم و سولفید کادمیوم دیده می‌شود (۲۰). این فلز یک آلوده‌کننده محیطی - صنعتی نیز است که بر شماری از اندام‌های انسان و دیگر پستانداران اثر مخربی دارد (۴۰). بیان شده است مادران در معرض کادمیوم ممکن است دچار اختلالات قلبی و عروقی شوند و زمان زایمان آنها تغییر یابد (۳۱). هرچند براساس بسیاری از گزارش‌ها به‌طور ویژه معطوف بر زاینبار بودن کادمیوم هستند، کمیود مطالعات در زمینه بررسی ارتباط میان مسمومیت کادمیوم و HIF-1 $\alpha$ ، بسیار محسوس است. شواهد علمی نشان می‌دهد که سنتز پروتئین HIF-1 $\alpha$  به‌وسیله مکانیسم‌های وابسته به اکسیژن تنظیم می‌شود و وضعیت‌هایی چون فعالیت ورزشی حاد همراه با کاهش عمومی و موضعی فشار اکسیژن و همچنین حالت اسیدوز، استرس اکسیداتیو<sup>۱</sup> و استرس گرمایی<sup>۲</sup> در تحریک آن نقش دارند (۱۳). برخی پژوهش‌ها افزایش معنادار سطوح HIF-1 $\alpha$  در پی تمرین شنا را، عنصر ضروری در رشد اندام‌ها دانسته‌اند (۹). فلورا<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند در بافت قلب موش‌ها، HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی با انجام هر دو نوع تمرین هوازی و بی‌هوازی افزایش می‌یابد (۱۰). میردار و همکاران (۱۳۹۲) در تحقیقی به بررسی تأثیر تمرینات استقامتی شنا در دوران بارداری موش‌های نژاد ویستار بر سطوح HIF-1 $\alpha$  در بافت ریه نوزادان پرداختند. تمرین شنا از روز اول بارداری تا روز زایمان ادامه پیدا کرد. یافته‌های این پژوهش نشان داد سطوح HIF-1 $\alpha$  ریه نوزادان در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت (۲). در مقابل، برخی مطالعات در بافت‌های دیگر نتایج دیگری را در پی داشتند. اوکوارا<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۲) بیان داشتند که اجرای سه ماه تمرین استقامتی شنا تأثیری بر سطوح HIF-1 $\alpha$  ندارد (۲۶). تیمون<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۰۵) نیز بدون تأثیر بودن تمرینات دایره‌ای هوازی بر سطوح HIF-1 $\alpha$  را گزارش دادند (۳۶). براساس نتایج برخی مطالعات در نمونه‌های انسانی، در شرایط نورموکسی بین mRNA فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و HIF-1 $\alpha$  در عضلات اسکلتی پس از تمرین استقامتی تغییرات معناداری وجود ندارد (۹).

- 
- 1 . Oxidative stress
  - 2 . Heat stress
  - 3 . Flora
  - 4 . Ookawara
  - 5 . Timmon

در مجموع می‌توان گفت با توجه به نوع واکنش دستگاه قلبی-عروقی به تمرین شنا در مقابل آلاینده‌های محیطی و به‌ویژه در دوران بارداری و مشکلات دسترسی به اکسیژن از یک سو و کمبود یا فقدان مطالعات مناسب در دسترس از سوی دیگر، رسیدن به توافق نظر جمعی در این زمینه دشوار است. بر این اساس، پژوهش حاضر درصدد است تا به این پرسش پاسخ دهد که یک دوره سه‌هفته‌ای تمرین استقامتی شنای زیر بیشینه چه تأثیری بر تغییرات سطوح HIF1- $\alpha$  و VEGF بافت قلب در برابر مسمومیت کادمیوم دارد؟

## روش

آزمودنی‌های پژوهش حاضر ۳۲ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار بودند. در شروع کار، پس از انتقال حیوانات از انستیتو پاستور ایران به محیط آزمایشگاه و پس از آشنایی با محیط جدید، هر جفت حیوان ماده با یک حیوان نر جفت‌گیری کردند. ۲۴ ساعت بعد با بررسی توده واژینال، اولین روز بارداری مشخص شد و سپس به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط جدید به صورت گروه‌های چهارتایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در دمای محیط  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. در دوره پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به صورت آزاد در اختیار قرار گرفت. سپس حیوانات مورد مطالعه به صورت تصادفی و مساوی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه‌ها عبارت بودند از: گروه کادمیوم که محلول کادمیوم را مصرف کردند؛ گروه شنا که تمرین شنا را انجام دادند؛ گروه شنا + کادمیوم که علاوه بر انجام تمرین شنا، محلول کادمیوم مصرف کردند؛ و گروه کنترل که از هر گونه مداخلات محیطی ویژه منع شده بودند. کادمیوم در طول دوره بارداری به صورت کلراید محلول در آب به مقدار ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر از طریق آب آشامیدنی مصرف شد (۲). بر این اساس، مقدار ۲ گرم کلراید کادمیوم در ۵ لیتر آب حل و در ظرف آب ریخته شد. ظروف آب به‌طور روزانه کنترل و همواره پر می‌شد، به‌طوری‌که موش‌ها در تمام مدت قادر به مصرف آب به مقدار دلخواه بودند. به‌منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی طی یک هفته به مدت ۱۰ تا ۳۰ دقیقه در داخل استخر آب (ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی‌متر) با درجه حرارت ۳۰ تا ۳۵ درجه قرار گرفتند. اضافه‌بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب استخر از هفت لیتر به دوازده لیتر در دقیقه هنگام شنا به اجرا درآمد (۲۴). برنامه هفتگی تمرین شنا به صورت

پنج روز در هفته و در روزهای شنبه، یکشنبه، سه‌شنبه، چهارشنبه، پنجشنبه و دوره‌های استراحت در روزهای دوشنبه و جمعه هر هفته بود (۲) (جدول ۱).

جدول ۱. ویژگی برنامه تمرین شنا

مدت تمرین به دقیقه	روزها	
۳۰ تا ۱۰	یک هفته	آشنایی با آب قبل بارداری
۳۰	روز اول	هفته اول
۳۵	روز دوم	
۴۰	روز سوم	
۴۵	روز چهارم	
۵۰	روز پنجم	
۵۰	روز اول	دوران بارداری
۵۵	روز دوم	
۶۰	روز سوم	
۶۰	روز چهارم	
۶۰	روز پنجم	
۶۰	روز اول	هفته سوم
۶۰	روز دوم	
۶۰	روز سوم	
۶۰	روز چهارم	
۶۰	روز پنجم	

تعیین مقادیر HIF-1 $\alpha$  بافت قلب با استفاده از کیت ساخت کانادا (KA1321) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی با کیت ساخت ژاپن (Rat VEGF AssayKit – IBL, 27101A) و به روش الیزا انجام گرفت. به همین منظور، نمونه‌گیری بافتی از قلب موش‌ها دو روز پس از زایمان حیوانات انجام گرفت. بافت قلب خارج شده و با ترازوی Sartorius:BI 1500 با دقت ۰/۰۰۱ وزن شد. ابتدا بافت‌ها با استفاده از مایع نیتروژن پودر شد و سپس در محلول بافر هموژنیزه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد (۵). محلول حاصل برای سنجش شاخص مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. برای تهیه مقاطع میکروسکوپی از نمونه‌ها به روش معمول تهیه مقاطع بافتی عمل شد. در این روش با استفاده از دستگاه هیستوکینت مدل ۲۰۰۰ ساخت

شرکت لیکا آلمان، مراحل مختلف پاساژ شامل آب‌گیری، شفاف‌سازی و آغشتگی به پارافین انجام گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و با استفاده از میکروتوم دورانی مدل ۲۰۳۵ ساخت شرکت لیکا آلمان، برش‌هایی به ضخامت ۵-۶ میکرومتر تهیه شدند و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (H&E)، رنگ‌آمیزی اختصاصی پریودیک اسید شیف (PAS) و تری کروم مالوری قرار گرفتند. در نهایت اسلایدهای میکروسکوپی به‌منظور بررسی تغییرات ساختاری و سلولی مطالعه شد. برای مطالعه هیستومتریک و تعیین تغییرات کمی در ساختار بافتی و سلولی بافت قلب حداقل ۱۰ برش بافتی از هر نمونه و در هر برش حداقل ۱۰ میدان دید میکروسکوپی شمارش و بررسی شد. کلیه بررسی‌های میکرومتری با استفاده از عدسی چشمی مدرج و اسلاید کالیبره انجام گرفت و در نهایت نتایج تغییرات حاصل در گروه‌های مختلف مورد آزمون با استفاده از میکروگراف‌های تهیه‌شده ارائه و مشخص شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های متغیرها با آزمون کروسکال والیس و ومن ویتنی یو (به دلیل نامتجانس بودن واریانس‌ها) در سطح معناداری  $P \leq 0/05$  و با نرم‌افزار SPSS 16 انجام گرفت.

## یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد مقادیر HIF1- $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) بافت قلب آزمودنی‌ها در جدول ۲ آورده شده است. بررسی داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار HIF1- $\alpha$  به گروه کادمیوم و کمترین مقدار به گروه شنا تعلق داشت. در بررسی داده‌های فاکتور رشد اندوتلیالی، بیشترین میانگین به گروه کادمیوم و کمترین میانگین به گروه کنترل تعلق داشت (جدول ۲).

جدول ۲. مقادیر HIF1- $\alpha$  و VEGF برحسب شاخص مرکزی و پراکندگی در گروه‌های پژوهش

متغیر	گروه	N	میانگین	انحراف استاندارد
HIF1- $\alpha$ (پیکوگرم بر میلی‌لیتر)	کنترل	۸	۱۵۸/۵	۲۵/۶
	کادمیوم	۸	۴۱۱/۷۵	۱۵۱/۱۳
	شنا	۸	۸۶/۲۵	۷/۳۴
	شنا + کادمیوم	۸	۲۱۲/۵	۱۱/۹
VEGF (پیکوگرم بر میلی‌لیتر)	کنترل	۸	۱۳۱/۸۷	۱۲/۰۴
	کادمیوم	۸	۴۲۱/۳۷	۵۰/۷۰
	شنا	۸	۱۸۹/۷۵	۱۱/۹۴
	شنا + کادمیوم	۸	۳۰۸/۵	۳۲/۳۸

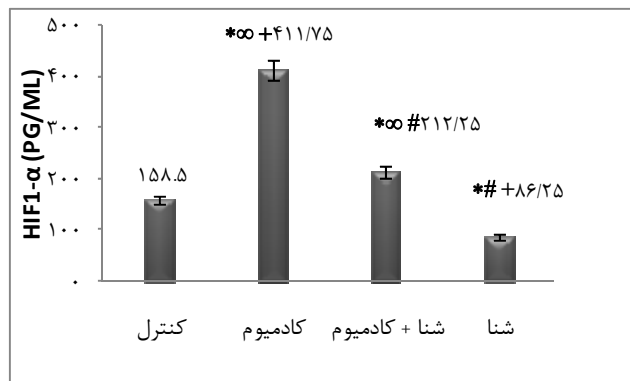
مقایسه تغییرات متغیر HIF1- $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) با آزمون کروسکال والیس نشان داد که بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود دارد ( $P=0/001$ ) (جدول ۳).

جدول ۳. بررسی اختلافات بین گروه‌ها با آزمون کروسکال والیس HIF1- $\alpha$  و VEGF

متغیر	گروه	میانگین رتبه	مربع کای ( $\chi^2$ )	P(sig)
HIF1- $\alpha$	کنترل	۱۲/۶۲	* ۲۶/۹۹۱	۰/۰۰۰
	کادمیوم	۲۶/۸۸		
	شنا	۴/۰۰		
	شنا + کادمیوم	۲۲/۰۰		
VEGF	کنترل	۴/۵۰	* ۲۸/۷۳۹	۰/۰۰۰
	کادمیوم	۲۸/۲۵		
	شنا	۱۲/۵۰		
	شنا + کادمیوم	۲۰/۷۶		

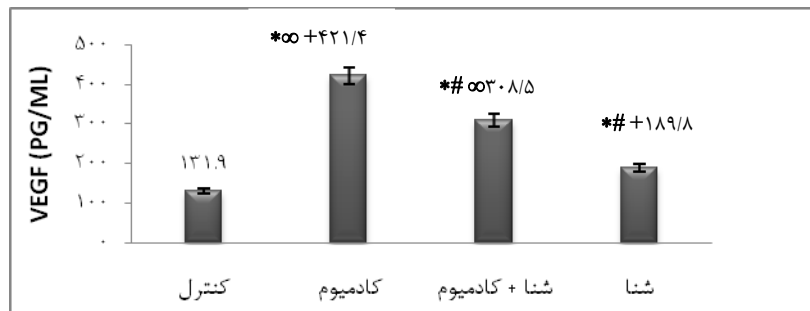
\* معناداری در سطح  $\alpha \leq 0/05$

در ادامه، نتایج آزمون من‌ویتنی یو در متغیر HIF1- $\alpha$  نشان داد بین گروه‌های کنترل و کادمیوم ( $P=0/001$ )، کنترل و شنا ( $P=0/001$ )، کنترل و شنا + همراه کادمیوم ( $P=0/001$ )، کادمیوم و شنا ( $P=0/001$ )، کادمیوم و شنا + کادمیوم ( $P=0/046$ )، شنا و شنا + کادمیوم ( $P=0/001$ ) اختلاف معناداری وجود داشت (شکل ۱).



شکل ۱. بررسی مقادیر HIF1- $\alpha$  در گروه‌های چهارگانه (\*: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل. ∞: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه شنا. #: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کادمیوم. +: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه شنا + کادمیوم)

همچنین در بررسی متغیر فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، نتایج آزمون من ویتنی یو اختلاف معناداری را بین گروه‌های کنترل و کادمیوم ( $P=0/001$ )، کنترل و شنا ( $P=0/001$ )، کنترل و شنا + همراه کادمیوم ( $P=0/001$ )، کادمیوم و شنا ( $P=0/001$ )، کادمیوم و شنا + همراه کادمیوم ( $P=0/002$ )، شنا و شنا + کادمیوم ( $P=0/001$ ) نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲. بررسی مقادیر VEGF در گروه‌های چهارگانه (\*: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل. \*\*: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه شنا. #: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کادمیوم. +: نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه شنا + کادمیوم)

## بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سه هفته تمرین زیر بیشینه شنا موجب کاهش معنادار HIF-1 $\alpha$  قلب موش‌های صحرایی بارداد شد. در بازنگری مطالعات مرتبط، دستیابی به مطالعاتی که همزمان اثر کادمیوم و تمرین شنا بر بافت قلب موش‌های صحرایی را مطالعه کرده باشند، دشوار است. با وجود این، نتایج بیشتر مطالعات انجام گرفته در سطح بافت با پژوهش حاضر همسو نیست (۲، ۱۰). یکی از دلایل احتمالی اختلاف نتایج این است که در پستانداران، HIF-1 $\alpha$  در بیشتر بافت‌ها مانند مغز، کبد، کلیه، قلب، پوست، رحم، طحال و عضله بیان می‌شود (۲۴). به این سبب، ممکن است بافت‌های مختلف پاسخ یکسانی به تمرینات جسمانی مختلف ندهند. در این زمینه، برخی مطالعات نشان دادند انجام تمرینات و استرس‌های فیزیکی مختلف با افزایش یا بدون تغییر مقادیر HIF-1 $\alpha$  بافت‌های مختلف همراه است (۳۹). میردار و همکاران (۱۳۹۰) نیز بیان کردند که سه هفته تمرین زیر بیشینه شنا به افزایش HIF-



1 $\alpha$  بافت ریهٔ موش‌های صحرایی منجر می‌شود (۲). فلورا<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۲) نیز در مطالعهٔ خود دریافتند که هم تمرینات هوازی و هم بی‌هوازی به افزایش HIF-1 $\alpha$  بافت قلب موش‌ها منجر می‌شود که در این زمینه تأثیر تمرینات بی‌هوازی بیشتر است (۱۰). یافته‌های زول<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۶) نیز با افزایش پروتئین HIF-1 $\alpha$  همراه بود (۴۱). در مقابل، تیمون<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که تمرینات دایره‌ای هوازی بر سطوح HIF-1 $\alpha$  تأثیری ندارد (۳۶). همچنین اوکاوآرا<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۲) بیان داشتند که اجرای سه ماه تمرین استقامتی شنا تأثیری بر سطوح HIF-1 $\alpha$  ندارد (۲۶). برای ایجاد سازگاری در پاسخ به تمرینات استقامتی، فاکتورهای مختلفی باید به‌صورت موضعی و سیستمی با هم فعالیت کنند (۱۰). هایپوکسی موضعی ناشی از تمرینات استقامتی از ابتدایی‌ترین محرک‌ها برای ایجاد سازگاری‌هایی مانند افزایش چگالی مویرگی و ظرفیت اکسیداتیو است و سازوکارهایی مانند فعالیت‌های میتوکندری که نسبت به تغییرات ایجادشده سازگار می‌شوند، به فراهم بودن اکسیژن بسیار حساس‌اند (۱۶). از طرف دیگر، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در اثر افزایش مصرف اکسیژن در طول انجام فعالیت‌های ورزشی در تنظیم HIF-1 $\alpha$  درگیر می‌شوند (۳۷). نشان داده شد که فعالیت HIF-1 $\alpha$  حتی پس از یک جلسه فعالیت استقامتی افزایش می‌یابد و سازگاری‌هایی که از طریق HIF-1 $\alpha$  تنظیم می‌شود، به راه می‌افتد (۱۶). از این رو به‌نظر می‌رسد ارگانسیم‌های تک‌سلولی و چندسلولی بدن برای تشخیص غلظت اکسیژن سازوکارهای مختلفی دارند (۳۳). کاهش سطح اکسیژن موجب اختلال در عملکرد دستگاه‌هایی می‌شود که به حضور اکسیژن وابسته‌اند و اگر هایپوکسی خیلی شدید باشد، ممکن است به مرگ سلول بینجامد. بنابراین جای تعجب نیست اگر در بدن سازوکارهایی وجود داشته باشد تا با ایجاد سازگاری مطلوب بتواند دستگاه‌های بدن را در مقابل هایپوکسی ایجادشده محافظت کند (۱۵). در این مطالعه، تمرین زیربیشینهٔ شنا با افزایش ۴۳ درصدی سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروق بافت قلب نسبت به گروه کنترل همراه شد. همسو با پژوهش حاضر، بیان شد که تمرین هوازی و تمرین بی‌هوازی به افزایش سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروق منجر می‌شود (۱۰). افزایش مقادیر فاکتور رشد اندوتلیال عروق در مطالعهٔ نورشاهی و همکاران (۱۳۹۱) نیز دیده می‌شود (۳). در مقابل، نتایج برخی مطالعات به‌گونه‌ای دیگر است. از جمله مطالعات شکرچی و همکاران (۱۳۹۱) که نشان دادند انجام چهار

1. Flora
2. Zoll
3. Timmon
4. Ookawara

هفته تمرین مقاومتی تأثیری بر مقدار فاکتور رشد اندوتلیال عروق سرمی ندارد (۱). بریکسیوس<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۸) نیز نتوانستند تغییر فاکتور رشد اندوتلیال عروق را پس از شش ماه تمرین زیربیشینه در افراد چاق مشاهده کنند (۸). علت احتمالی اختلاف نتایج علاوه بر نوع، حجم و شدت تمرینی (۱۰،۷)، به نوع آزمودنی‌های به کار گرفته شده و به طور کلی روش مطالعاتی (۲۵،۸،۱) ارتباط دارد. چنانکه در برخی پژوهش‌ها مقدار سرمی این پروتئین و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی ارزیابی شد (۲) که در اساس با مطالعه حاضر متفاوت است. هرچند با انجام تمرینات ورزشی طولانی مدت، افزایش در فاکتورهای بازدارنده اینترلوکین یک، افزایش تولید اینترلوکین-۶ و ۱۰ و افزایش گیرنده فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا با افزایش فاکتور رشد اندوتلیال عروق همراه شدند (۳)، به احتمال زیاد هنوز سازوکار دقیقی مشخص نشده است که بتواند پاسخگوی چگونگی افزایش فاکتور رشد اندوتلیال عروق در پاسخ به تمرینات زیر بیشینه باشد. نکته مهم دیگر اینکه فعالیت ورزشی به فعال شدن مسیرهای چندگانه‌ای منجر می‌شود که اهمیت آن در آنژیوژنز شناخته شده است. این مسیرها ممکن است با متابولیسم، تشکیل مویرگ‌ها و دربرگیرنده مسیرهای تنظیم کلسیم مرتبط باشد. افزایش شار کلسیم بین سلولی در جریان فعالیت ورزشی که ریشه در مداخلات دپلاریزاسیون عصبی در تحریک و عملکرد انقباض ماهیچه‌ای دارد، در ارتباط نزدیک با تشکیل پل‌های عرضی اکتین و میوزین بوده و پاسخگوی بهبود حساسیت به انسولین با افزایش انتقال دهنده‌های گلوکز است و افزایش غلظت بین سلولی یون آن به فعال شدن سیگنال‌های چندین پروتئین تنظیم کننده پایین دست شامل کیناز وابسته به کالمودولین (CaMK) و کلسی نورین (CaN) منجر می‌شود و احتمال دارد از این طریق به افزایش بیان mRNA فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در مایوتوب‌های اولیه انسان منجر شود. از این رو بیان شده که ممکن است یون کلسیم به تنظیم فاکتور رشد اندوتلیال عروقی منجر شود (۱۲). به علاوه، نیتریک اکساید که توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز ساخته می‌شود، در تنظیم فاکتور رشد اندوتلیال عروق عضلات درگیر می‌شود. نیتریک اکساید عضلات نیز از طریق نیتریک اکساید سنتاز نورونی (nNOS) و در قسمت‌های تنفس میتوکندریایی عضلات تنظیم می‌شود. در حالی که نیتریک اکساید در سلول‌های اندوتلیال به وسیله نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی (eNOS) و با توجه به جریان خون عروقی تنظیم می‌شود. در جریان فعالیت ورزشی عناصر مختل کننده تولید نیتریک اکساید نرمال (L-NAME) در عضلات فعال به داخل خون رها می‌شوند و هرچند به افزایش نیتریک اکساید منجر می‌شوند، این

یک اختلال محسوب نمی‌شود، زیرا به‌طور مشابه عناصر کینازی مهارکننده فاکتور رشد اندوتلیالی افزایش می‌یابد و با کمتر شدن یا محدودیت جریان خون، به از بین بردن آنژیوژنز طبیعی عضلات منجر نمی‌شوند که این مسئله نشان‌دهنده تمایز بین آنژیوژنز و آتروژنز است (۳۹). در پژوهش حاضر ارائه کادمیوم با افزایش تقریبی ۲۵۰ درصد HIF-1 $\alpha$  و ۳۰۰ درصدی فاکتور رشد اندوتلیال عروق در مقایسه با گروه کنترل همراه شده بود. در حالی که اضافه شدن تمرین شنا به مصرف کادمیوم، موجب افزایش ۳۴ درصد HIF-1 $\alpha$  و ۱۳۳ درصدی فاکتور رشد اندوتلیال عروق در مقایسه با گروه کنترل شد. همسو با پژوهش حاضر، نشان داده شد که کادمیوم با افزایش متالوتیونین<sup>۱</sup> به افزایش HIF-1 $\alpha$  منجر می‌شود (۲۷). به‌نظر می‌رسد بروز شرایط هایپوکسی به عوامل مختلفی وابسته است که می‌تواند به‌عنوان یک محرک محیطی موضعی سیگنال‌های لازم را برای تحریک تشکیل عروق خونی ایجاد کند (۲). از این‌رو می‌توان گفت تولید فاکتورهای آنژیوژنیک غیرطبیعی ممکن است در رفتارهایی شبیه ایجاد مولکول‌های آنژیوژنیک در سلول‌های توموری مختلف همراه شود (۱۹). کیم و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که غلظت‌های کادمیوم بالای ۵ و ۱۰ میلی‌واحد به افزایش بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروق می‌انجامد که در این زمینه دوز به‌کارگرفته‌شده کادمیوم نیز تأثیر بسزایی دارد (۲۳). در پژوهش حاضر تأثیر کلراید کادمیوم مورد استفاده بر افزایش بیان پروتئین فاکتور رشد اندوتلیال عروق و HIF-1 $\alpha$  بسیار چشمگیر بود. این مقادیر افزایش‌یافته می‌تواند آنژیوژنز غیرطبیعی و در پی آن رشد تومورها را تحریک کند (۱۴). از این‌رو ممکن است رشد آنژیوژنز توموری در بافت قلب مادران باردار را تسریع کند. در این زمینه مطالعات انجام‌گرفته نیز حاکی از تأثیرات مخرب کادمیوم بر اندوتلیال عروقی و تحریک تشکیل تومورهای غیرطبیعی است (۳۰). هرچند سازوکار دقیق تأثیرگذاری کادمیوم بر آنژیوژنز بافت به‌خوبی درک نشده است (۳۸)، مطالعات نشان دادند که کادمیوم از طریق تأثیر بر فاکتورهای ERK و سیگنالینگ AKT و همچنین افزایش HIF-1 $\alpha$  و گونه‌های فعال اکسیژن، نقش مؤثری در آنژیوژنز دارد (۳۷، ۱۴). همچنین کادمیوم از یک سو می‌تواند با کاهش عملکرد نیتریک اکساید سنتاز به افزایش فعالیت انقباضی عروق صاف منجر شود (۴) و از سوی دیگر با کاهش فعالیت سوپراکساید دیسموتاز (۶) و کاهش بیان ژن‌های بیان‌کننده پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن بینجامد که خود منشأ آثار زیانباری است (۲۲). نکته مهم دیگر اینکه معلوم شد یک آنژیوژنز مطلوب بافتی نیازمند افزایش بیان فاکتور رشد اندوتلیالی و همچنین گیرنده‌های آن (VEGFR<sub>s</sub>) است (۲۸). از این‌رو

ممکن است در افراد باردار افزایش HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیالی با افزایش آنژیوژنز کافی بافت همراه نباشد. در این زمینه مطالعات نشان می‌دهند افزایش بیش‌ازحد فاکتور رشد اندوتلیالی در دوران بارداری، به دلیل عدم افزایش یا حتی کاهش گیرنده FLT<sub>1</sub> به رشد ساختار عروقی منجر نمی‌شود (۱۷) و ممکن است با رشد عوامل التهابی مانند TNF- $\alpha$  و اینترلوکین-۶، زمینه را برای مقاومت انسولینی و دیابت بارداری هموار کند (۳۲). بنابراین، افزایش غیرطبیعی HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیالی در اثر مصرف کادمیوم ممکن است زمینه را برای افزایش آنژیوژنز توموری و دیابت بارداری فراهم کند. یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر، این بود که شاخص یا ظرفیت‌های استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری نشد، به نظر می‌رسد که به احتمال زیاد، افزایش مقادیر فاکتور رشد اندوتلیال عروق و HIF-1 $\alpha$  بافت قلب در اثر کلراید کادمیوم، با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در ارتباط بوده باشد. به همین سبب مطالعات بیشتری لازم است تا به روشن شدن موضوع کمک کند.

### نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد ارائه کادمیوم به افزایش غیرطبیعی و زیانبار HIF-1 $\alpha$  و فاکتور رشد اندوتلیالی قلب موش‌های صحرایی باردار منجر شد. این دستاورد از جنبه‌های پاتولوژی شایان ملاحظه و بااهمیت است، چراکه ممکن است نتایج مشابهی در نمونه‌های انسانی و در محیط‌های آلوده به دست آید. در این صورت افزایش متغیرهای مذکور در اندازه‌های پاتولوژیک می‌تواند تشکیل آنژیوژنز غیرطبیعی تومورها را تحریک کند و سلامت قلب افراد باردار را با خطر بزرگی مواجه سازد. از سوی دیگر، ارائه تمرین زیر بیشینه شنا با تعدیل تأثیرات زیانبار کادمیوم، ممکن است از آنژیوژنز غیرطبیعی بافت قلب زنان باردار جلوگیری و از آن محافظت کند. از این رو به‌عنوان یک راهکار قابل استفاده در زنان باردار پیشنهاد می‌شود.

**قدردانی:** این پژوهش با حمایت دانشگاه مازندران انجام گرفت. در این زمینه، از کلیه عزیزانی که در انجام پژوهش ما را یاری دادند، قدردانی می‌شود.

## منابع و مأخذ

۱. شکرچی‌زاده، پیروش؛ خزاعی، مجید؛ فراخانلو، رضا؛ کریمیان، جهانگیر (۱۳۹۱). «اثر تمرینات مقاومتی بر سطح پلاسمایی نیتریک اکساید، فاکتور رشد اندوتلیال عروق و گیرنده نوع یک آن در رت‌های نر سالم»، مجله دانشکده پزشکی اصفهان، ۳۰، دوره ۳۰ ش ۱۷۶، ص ۱-۱۰.
۲. میردار، شادمهر؛ عرب، آنا؛ هدایتی، مهدی؛ حاجی‌زاده، اکبر (۱۳۹۲). «اثر یک دوره برنامه تمرینی شنا بر سطوح فاکتور القایی هیپوکسی ریه نوزادان موش‌های باردار»، مجله علوم پزشکی قم، دوره ۷، ش ۳، ص ۱۱-۲۰.
۳. نورشاهی، مریم؛ پیروز، مهدی؛ هوانلو، فریبرز؛ بیگدلی، محمدرضا (۱۳۹۱). «مقایسه تأثیر هشت هفته تمرین زیر بیشینه در شرایط هایپوکسی نورموباریک و شرایط طبیعی بر آنژیوژنز»، مجله پژوهش در علوم ورزشی، دوره ۲، ش ۹، ص ۱۷۲-۱۵۹.
4. Almenara CC, Broseghini-Filho GB, Padilha AS. (2013). Chronic cadmium treatment promotes oxidative stress and endothelial damage in isolated rat aorta. PLoS One 12; 8(7): 68418-25.
5. Al Salam S, Hashemi S. (2014). Galectin-1 in Early Acute Myocardial Infarction. J PLOS ONE. 9(1):1-24.
6. Angeli JK, Pereira CA, de Oliveira Faria T. (2013). Cadmium exposure induces vascular injury due to endothelial oxidative stress: FreeRadicBiol Med 21: S0891-5849(13), 00570-4.
7. Bausero P, Ben-Mahdi MH, Mazucattelli JP, Perrot-Appianat M. (2000). Vascular endothelial growth factor is modulated in vascular muscle cells by estradiol, tamoxifen, and hypoxia. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology . 279(5): 2033-2036.
8. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H. (2008). Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signaling in overweight men aged 50- 60 years. Br J Sports Med . 42:(2).126-129.
9. Chilov D, Camenisch G and Roland H. (1999). Induction and nuclear translocation of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1): heterodimerization with ARNT is not necessary for nuclear accumulation of HIF-1 $\alpha$ . Journal of Cell Science 112(8): 1203-1212.
10. Flora R, Freisleben H, Ferdinal F. (2012). Correlation of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  and vascular endothelium growth factor in rat myocardium during aerobic and anaerobic exercise, Med J Indones ., 21(3):133-140.
11. Folkman J. (2006). Angiogenesis. Journal of Annu Rev Med. 57(1):1-18.
12. Gavin TP. (2009). Basal and exercise-induced regulation of skeletal muscle capillarization. Exerc Sport Sci Rev 37: 86-92.

13. 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. *ActaPhysiol*; 188(2): 113–121 .
14. Gordan JD, Simon MC. (2007). Hypoxia-inducible factors: central regulators of the tumor phenotype. *Curr Opin Genet Dev*;17(1):71-7 .
15. Haddad JJ, Harb HL. (2005). Cytokines and the regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha. *Int Immunopharmacol*; 5(3):461-83.
16. Hideki O, Ken Sh, Takuya S, Junetsu O. (2012). Effect of exercise on HIF-1 and VEGF signaling. *J Phys Fitness Sports Med*, 1(1): 5-16 .
17. Hua-Ping Li, Xuan Chen, Ming-Qing Li. (2013). Gestational diabetes induces chronic hypoxia stress and excessive inflammatory response in murine placenta. *Int J ClinExpPathol* 6(4):650-659.
18. Jiang BH, Semenza GL, Bauer C and Marti HH. (1996). Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O<sub>2</sub>tension. *Am J Physiol Cell Physiol*. 271(4): 1172–1180.
19. Jing Y, Liu LZ, Jiang Y, Zhu Y, Guo NL. (2012). Cadmium increases HIF-1 and VEGF expression through ROS, ERK, and AKT signaling pathways and induces malignant transformation of human bronchial epithelial cells. *Toxicol Sci. Jan*; 125(1):10-19.
20. Kovarova J, Rene Kizek, Vojtech A, Harustiakova D. (2009). Effect of Cadmium Chloride on Metallothionein Levels in Carp. *Sensors* 9(6), 4789-4803.
21. Ke Q, Costa M. (2006). Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *MolPharmacol*. 70(5): 1469-1480.
22. Kim JH, Rhee JS, Lee JS, Dahms HU, Lee J, Han KN, Lee JS. (2010). Effect of cadmium exposure on expression of antioxidant gene transcripts in the river pufferfish, *Takifugu obscurus* (Tetraodontiformes) .*CompBiochemPhysiol C Toxicol Pharmacol* 152(4):473-9.
23. Kim J, Lim W, Ko Y, Kwon H, Kim S. (2012). The effects of cadmium on VEGF-mediated angiogenesis in HUVECs. *J Appl Toxicol*. May;32(5):342-9.
24. 16. Matsumoto K, Ishihara K, Tanaka K, Fushiki T. (1996). An Adjustable-current Swimming for the Evaluation of Endurance Capacity of Mice. *J Appl Physiol* 81(4):1843-1849.
25. Milkiewicz M, Ispanovic E, Doyle JL, Haas TL. (2006). Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation. *Int J Biochem Cell B* 38(3): 333- 357.
26. Ookawara T, Suzuk K, Haga S, Chung KS. (2002). Transcription regulation of gene expression in human skeletal muscle in response to endurance training. *Res CommunMolPathol Pharmacol* . 111(1,4):41-54 .
27. Person RJ, Tokar EJ, Xu Y, Orihuela R. (2013). Chronic cadmium exposure in vitro induces cancer cell characteristics in human lung cells. *ToxicolApplPharmacol*. 273(2):281-288.

28. Pietro L, Daher S, Rudge MV, Calderon IM, Damasceno DC. (2010). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-receptor expression in placenta of hyperglycemic pregnant women. *Placenta*. 31(9): 770-80.
29. Pringle KG, Kind KL, Sferruzzi-Perri AN. (2010). Beyond oxygen: complex regulation and activity of hypoxia inducible factors in pregnancy, *Human Reproduction Update* 16: (4). 415-431.
30. Prozialeck WC, Edwards JR, Woods JM. (2006). The vascular endothelium as a target of cadmium toxicity. *Life Sci* 79(16):1493-1506.
31. Ronco AM, Montenegro AM, Castillo AP. (2011). Maternal exposure to cadmium during gestation perturbs the vascular system of the adult rat offspring, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 251(1), 137-145
32. Qian D, Lin HY, Wang HM, Zhang X. (2004). Normoxic induction of the hypoxia-inducible factor-1 alpha by interleukin-1 beta involves the extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway in normal human cytotrophoblast cells. *BiolReprod* 70(6): 1822-1827.
33. Rundqvist H. (2008). Skeletal Muscle Hif-1 and Exercise. Thesis for doctoral degree, published by Karolinska institute. Stockholm, Sweden Weidemann A, Johnson RS. Biology of HIF-1alpha. *Cell Death Differ* ;15(4):621-7.
34. Semenza GL. (2000). HIF-1 mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J ApplPhysiol* .88(4): 1474-1480.
35. Shimoda LA, Semenza GL. (2011). HIF and the lung: role of hypoxia-inducible factors in pulmonary development and disease. *Am J RespirCrit Care Med*;183(2):152-6 .
36. Timmons JA, Jansson E, Fischer H, Gustafsson T. (2005). Modulation of extracellular matrix genes reflects the magnitude of physiological adaptation to aerobic exercise training in humans. *BMC Biol* ;3(19):23-29.
37. Trisciuglio D, Iervolino A, Zupi G, Del Bufalo D. (2005). Involvement of PI3K and MAPK signaling in bcl-2-induced vascular endothelial growth factor expression in melanoma cells. *Mol Biol Cell*. 16(9):4153-4162 .
38. Woods JM, Leone M, Klosowska K, Lamar PC. (2008). Direct antiangiogenic actions of cadmium on human vascular endothelial cells. *Toxicol In Vitro* 22(3): 643-651.
39. Yang HT, Prior BM, Lloyd PG, Terjung RL. (2008). Training-induced vascular adaptations to ischemic muscle. *J Physiol Pharmacol* 59 (7): 57-70 .
40. Zalups RK and Sarfaraz A. (2003). Molecular handling of cadmium in transporting epithelia .*Toxicology and Applied Pharmacology*, 186(3). 163-188.
41. Zoll J, Ponsot E, Dufour S. (2006). Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. III. Muscular adjustments of selected gene transcripts. *J Appl Physiol* . 100(4):1258-66.