زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۱۳۹- ۱۲۹

مقاله پژوهشی

تاثیر سه هفته بی‌تمرینی متعاقب شش هفته تمرین اینتروال فزآینده بر سطوح HIF-1a و آپوپتوز برونش و برونشیول بافت ریه رت‌های نر ویستار

صابر نیازی[1*]، شادمهر میردار[2]، رضا بذار[2]، غلامرضا حمیدیان[3]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، داشنگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

*مسئول مکاتبات: saber_niazi@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2021.687837

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

چکیده

تمرین اینتروال فزآینده با افزایش التهاب همراه است. از این رو هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر بی تمرینی کوتاه مدت متعاقب ٦ هفته تمرین اینتروال فزآینده بر سطوح فاکتور القایی هیپوکسی و آپوپتوز برونش و برونشیول بافت ریه رت‌های نر ویستار بود. برای این منظور ۱۸ سر رت نر نژاد ویستار سالم (٤ هفته‌ای با میانگین وزنی ۹ ± ۷۲ گرم) به دو گروه تجربی (۱۲ سر) و کنترل (٦ سر) تقسیم شدند، پس از ٦ هفته تمرین اینتروال فزآینده که بصورت چهار جلسه در هفته در مرحله آماده سازی و پنج جلسه در طول اجرای برنامه پژوهش انجام شد. برنامه تمرین تناوبی فزآینده با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه (٦٦ VO2max درصد) شروع و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه (۱۸۵ VO2max درصد) در پایان هفته ششم اتمام یافت. تعداد شش سر از رت‌های گروه تجربی به گروه بی‌تمرین(٦ سر) انتقال یافته و به مدت سه هفته در شرایط بی‌تمرینی نگهداری شدند. جهت اندازه‌گیری میزان HIF-1α و آپوپتوز برونش و برونشیول، در پایان هفته نهم نمونه بافت ریه خارج و مورد سنجش قرار گرفت. برای تحلیل داده‌ها از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه در سطح معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) استفاده شد. یافته‌ها نشان داد که در شرایط بی-تمرینی علی‌رغم افزایش معنی‌داری در میزان HIF-1α و آپوپتوز برونش و برونشیول ریه ($p \leq ۰/۰۵$) در دوره تمرین اینتروال فزآینده، کاهش معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) در میزان HIF-1α، آپوپتوز برونش و برونشیول بافت ریه مشاهده شد. به نظر می‌رسد انجام تمرینات اینتروال فزآینده با افزایش میزان HIF-1α و آپوپتوز برونش و برونشیول ریه همراه است که در بی‌تمرینی از مقدار آنها کاسته می‌شود.

کلمات کلیدی: فاکتور القایی هایپوکسی-۱-آلفا، آپوپتوز، تمرین اینتروال فزآینده، بی‌تمرینی، برونش، برونشیول.

مقدمه

در طول دوران آماده‌سازی ورزشکاران استفاده از تمرینات اینتروال پر شدت در برنامه های ورزشی اکثر رشته‌های ورزشی مشاهده می‌شود این درحالی است که شواهد زیادی نشان می‌دهد، تمرین اینتروال فزآینده علیرغم سازگاری‌های عملکردی و فیزیولوژیایی مطلوبی که بهمراه دارد، التهاب سیستمی در پی‌دارد. التهاب ناشی از تمرین اینتروال فزآینده خود با سازگاری‌های مطلوبی مانند تحریک رگزایی

در ارتباط است اما در این میان سرکوب احتمالی سیستم ایمنی می‌تواند از نتایج نامطلوب این نوع تمرینات باشد (۲۳). در مورد عوامل دخیل در تضعیف سیستم ایمنی متغییرهای زیادی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که می‌توان به دلایلی همچون بالابودن حجم، شدت تمرینات و کوتاه بودن زمان بازگشت به حالت اولیه اشاره داشت، که ورزشکار را در معرض بیش‌تمرینی قرار داده و موجب بروز خستگی عمومی توام با افت در عملکرد سیستم ایمنی می‌شود (۲۳). تحت تاثیر تمرینات ورزشی شدید بافت ریه و مجاری دستگاه تنفسی در معرض تنش بالای اکسیژن قرار گرفته و احتمال آسیب آنها وجود دارد. در اکثر تحقیقات آسیب مجاری تنفسی فوقانی (URTI) مورد بررسی قرار گرفته است (۲۱). با این حال به ایجاد آسیب مجاری تنفسی تحتانی (DRTI) ناشی از تمرینات شدید توجه بسیار کمی شده است. مجاری تنفسی تحتانی هم تحت شرایط تمرینات شدید صدمه می‌بیند که این آسیب ممکن است به تحریکات ایجاد شده توسط هایپوکسی در این تمرینات برگردد. در واقع این هایپوکسی برای بافت ریه، مجاری برونش و برونشیول آن می‌تواند آسیب‌زا باشد (۱۳). در طی فعالیت‌های ورزشی که بدن نیاز به اکسیژن بیشتری پیدا می‌کند، شرایط هایپوکسی ایجاد شده و باعث بیان پروتئین HIF-1α شود. . فاکتور القایی هایپوکسی-۱ (HIF-1) تنظیم کننده‌ی کلیدی پاسخ‌های مولکولی به هایپوکسی و میانجی دامنه‌ی وسیعی از مکانیسم‌های سلولی و فیزیولوژیکی ضروری برای سازگاری با اکسیژن محسوب می‌شود. پروتئین HIF-1α علاوه بر اینکه در تنظیم بیان ژن هدف در آنژیوژنز، خون-رسانی، متابولیسم انرژی و زنده ماندن سلول ضروری است (۳۳) فاکتور القایی هایپوکسی-۱ آلفا نقش مهمی ایفا می‌کند، می‌تواند تاثیرات مضر پاتوفیزیولوژیکی در بیماری‌های ایسکمی، دیابت، آترواسکلروزیس، بیماری آلزایمر، بیماری مزمن انسدادی ریه، اختلالات التهابی و سرطان بر جای بگذارد (۳).

نیک‌سرشت و همکاران (۲۰۱٤) به بررسی مقایسه تاثیر تمرین مقاومتی غیر خطی و تمرین اینتروال هوازی و بی‌تمرینی متعاقب آن بر سطوح فاکتورهای التهابی مردان میان سال چاق پرداختند و نشان دادند در مقایسه این دو گروه با گروه کنترل در سطوح IL-6، CRP و TNF-α تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۲۰) احمدی و همکاران (۲۰۲۱) نیز اثرات روش‌های مختلف تمرینی را بر ناقلین مونوکاربوکسیلات MCT1 و MCT4 ، فاکتور القایی هیپوکسی-۱α (HIF-1α) و بیان ژن PGC-1α در عضلات اسکلتی موش صحرایی نر را بررسی کردند و نشان دادند که در گروه تمرین اینتروال فزآینده سطحPGC-1α ، mRNA MCT4 و نیز سطوح HIF-1α در هر دو عضله بطور قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود (۱) در محرومیت از اکسیژن معمولاً با موقعیتی مواجه می‌شویم که هم می‌تواند منجر به بهبود برخی عوامل فیزیولوژکی و هم ایجاد شرایط پاتوفیزیولوژیک شود. مشخص شده است، بافت‌هایی که دچار التهاب مزمن، به دلایل مختلفی می‌شوند یک ناحیه هایپوکسی را ایجاد می‌کنند. این اختلالات احتمالاً به علت ترکیبی از عواملی نظیر اختلال در جریان خون به علت تخریب میکروسکوپی عروق (در پی آن اختلال در تحویل اکسیژن)، افزایش فعالیت متابولیکی فاکتورهای ساکن در بافت ملتهب و نفوذ سلول‌های ایمنی و مصرف اکسیژن توسط برخی از گونه‌های باکتریایی است (۲۹,۷) مشخص شده است که در کنار سایر تاثیرات HIF-1 بر روی سلول‌های بدن، هایپوکسی و ژن HIF-1α بسته به نوع و شرایط تجربی سلول به عنوان یک فاکتور پیش آپوپتوزی و یا ضد آپوپتوزی عمل می‌کند. به نظر می‌رسد که شرایط پیش آپوپتوزی

هنگام هایپوکسی طولانی مدت و شدید رخ دهد که در آن HIF-1α به همراه ژن P53 نقش تعیین کننده‌ای دارد. آپوپتوز یک فرایند مهم در حفظ تعداد سلول و ساختار و همچنین یک مکانیسم اساسی برای تعادل زیستی بافت می باشد (۲)، نارسایی در شروع آپوپتوز بعد از متحمل شدن آسیب شدید DNA، نشانه ای از نئوپلازی می‌باشد (۲۸). بروز مصدومیت و شرایط پاندمیک کرونا ممکن است تمرینات آماده سازی ورزشکارن را با اختلال رو به رو کند بعبارتی شرایطی که ورزشکار نتواند به تمرینات خود بپردازد (۵) را بی تمرینی می‌نامند. بی‌تمرینی یکی از رویدادهای تمرینی است که اکثر ورزشکاران با آن مواجه می‌شوند و متناسب با طول دوره بی‌تمرینی به احتمال زیاد با کاهش قابلیت‌هایی همراه است از همین رو در تحقیقات مختلف تاثیر بی‌تمرینی بر تغییرات قلبی- تنفسی، از جمله حداکثر اکسیژن مصرفی و عملکرد استقامتی، قدرتی، توان بی‌هوازی، تغییرات متابولیکی و تغییرات ترکیب بدنی در دوره‌های زمانی متفاوت روی افراد غیر ورزشکار و ورزشکار با سنین مختلف و پس از انواع تمرینات قدرتی و استقامتی مطالعه شده است (۱٤). اما در مورد التهاب ناشی از بیماری-هایی همچون کرونا و یا احتمالا شرایط التهابی مشابه، فعالیت ورزشی با شدت بالا و بی تمرینی متعاقب آن بر روی بافت ریه مطالعه‌ای انجام نشده است. از آنجایی که در گذشته نشان داده شده است که تمرینات استقامتی باعث کاهش آپوپتوز و بهبود عملکرد ریه شده و از طرفی دیگر تمرین اینتروال فزآینده ممکن است با سرکوب سیستم ایمنی منجر به تشدید احتمالی آپوپتوز شود. همچنین بی تمرینی متعاقب فعالیت ورزشی توام با کاهش آمادگی‌های ناشی از تمرین اینتروال فزآینده شود. این سوال مطرح می‌شود که آیا این بی‌تمرینی متعاقب تمرین اینتروال فزآینده می‌تواند تاثیری بر آپوپتوز بافت ریه داشته باشد؟ همچنین باتوجه به هایپوکسی که در اثر انجام این تمرینات به وجود می‌آید، این فرضیه مطرح است که متعاقب بی تمرینی پس از تمرین اینتروال فزآینده چه تغییری در فاکتور القایی هیپوکسی یک آلفا بعنوان یک عامل بالا دستی شروع بخش عظیمی از سازگاری‌های فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک در بافت ریه خواهد داشت. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر یک دوره کوتاه مدت بی‌تمرینی متعاقب شش هفته تمرین اینتروال فزآینده بر سطوح HIF-1a و آپوپتوز برونش و برونشیول بافت ریه رت‌های نر ویستار است.

مواد و روش‌ها

نمونه آماری این پژوهش شامل ۱۸ سر موش صحرائی ویستار نر(سن٤ هفته‌ای، میانگین وزنی ۹±۷۲ گرم) مرکز انستیتو پاستور آمل بود. که به آزمایشگاه جانوری گروه فیزیولوژی ورزش دانشگاه مازندران انتقال یافت و بصورت تصادفی به دو گروه تمرین(n=۱۲) و کنترل(n=٦) تقسیم شدند. نمونه‌ها سالم و فاقد هرگونه سابقه بیماری بودند. که پس از یک هفته آشنایی با محیط در دمای نگهداری ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٤٥ تا ٥٥٪ چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری می‌شدند. در طول مدت پژوهش، غذای استاندارد پلت(ساخت شرکت به‌پرور) و آب بطور آزاد در اختیار نمونه‌ها قرار می‌گرفت. نمونه‌های تجربی پس از مرحله آشنا سازی با دویدن بر روی تردمیل جانوری، وارد برنامه تمرین تناوبی شدند. مرحله آشنا سازی شامل چهار روز برنامه تمرینی تناوبی با سرعت ۱۰ تا ۲۵ متر بر دقیقه مطابق الگوی برنامه تمرینی تناوبی فزآینده اجرا شد. برنامه تمرینی تناوبی فزآینده اصلی به صورت ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای انجام شد، به گونه‌ای که سرعت دویدن در زمان استراحت

فعال نصف سرعت دویدن بود و کل تمرین روزانه برای هر رت، ۳۰ دقیقه بطول می‌انجامید. تمرین چهار جلسه در هفته در مرحله آماده سازی و پنج جلسه در طول اجرای برنامه تمرین اینتروال فزآینده اصلی پژوهش انجام شد. برنامه تمرین تناوبی فزآینده با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه (٦٦٪ VO2max) شروع و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه (۱۸۵٪ VO2max) در پایان هفته ششم اتمام یافت. به غیر از زمان فعالیت اصلی، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن در نظر گرفته شد (١٦). جهت تحریک به دویدن، شوک الکتریکی ملایمی در عقب دستگاه تعبیه شد. برای جلوگیری از اثر احتمالی استرس ناشی از شوک الکتریکی بر یافته‌های پژوهش، در دوره آشنایی به روش شرطی سازی با صدا به حیوانات آموزش داده شد تا از نزدیک شدن و استراحت در بخش انتهایی دستگاه خودداری شود (۱۱).

پس از پایان مرحله اول پژوهش(تمرین اینتروال فزآینده شش هفته‌ای)، مرحله دوم پژوهش که بی-تمرینی و ادامه تمرین اینتروال فزآینده بود، اجرا شد. این مرحله سه هفته بطول انجامید بگونه‌ای که ۱۲ سر از نمونه‌های گروه تمرین پس از ٦ هفته تمرین به دو گروه ادامه دهنده تمرین اینتروال فزآینده (n=٦) و بی-تمرین (n=٦) تقسیم شدند. در گروه ادامه دهنده تمرین مانند قبل بود (جدول ۱). شدت تمرینات با توجه به مقاله مروری هاولی و همکاران (۱۹۹۵) برآورد شد (۱۲). در پایان دوره نمونه‌ها کشته و بافت ریه آنها جداسازی و مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه‌گیری بافتی از ریه موش‌ها ٤٨ ساعت پس از اتمام دوره پژوهش انجام شد (١٦). برای این منظور با تزریق ۳ واحد محلول کتامین (۵۰-۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن رت‌ها و زایلازین (۵-۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش (بی‌هوش و بلافاصله بافت ریه آنها خارج شد. بافت‌های ریه با استفاده از ترازوی Sartorius:B1 1500 وزن شد و با استفاده از استوانه مدرج و قانون ارشمیدوس حجم بافت ریه اندازه گیری شد. متغیر وابسته پژوهش شامل تغییرات آپوپتوز سلول‌های بافت پوششی و مجاری ریوی و سطح HIF-1α بافت ریه بود که مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تعیین شاخص آپوپتوزی، لوب راست ریه‌ی نمونه‌ها به منظور تثبیت در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی از نمونه‌ها، به روش معمول تهیه مقاطع بافتی پارافینی عمل گردید. در این روش پس از ثبوت، با استفاده از دستگاه هیستوکینت مدل ۲۰۰۰ ساخت شرکت لیکا آلمان، مراحل مختلف پاساژ شامل آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی به پارافین انجام گرفت (۱۰).

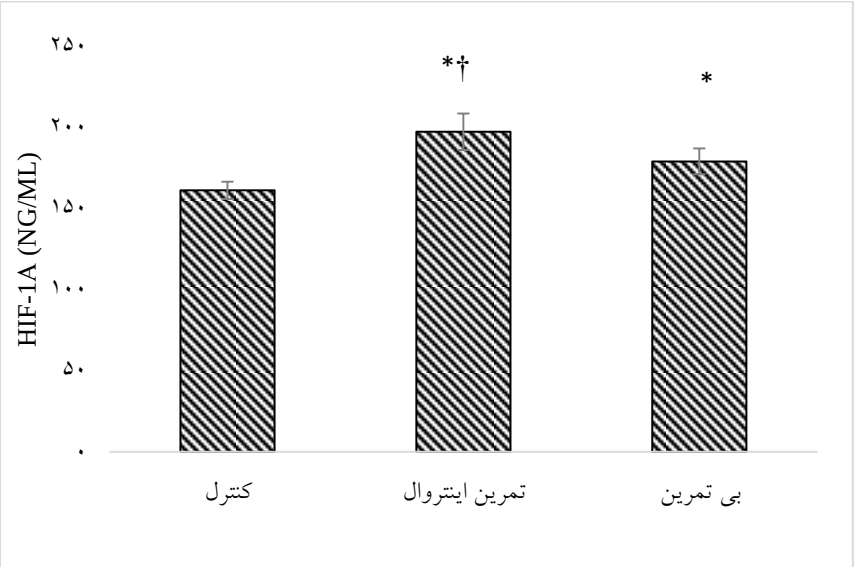
جهت تشخیص آپوپتوز بافت پوششی مجاری هوایی (برونش و برونشیال) ، هسته این سلول‌ها با استفاده از روش غیر رادیواکتیو نشان‌دار کردن انتهایی در جای خود رنگ شده و شناسایی گردید. در این روش، پس از ثبوت و طی مراحل معمول و استاندارد تهیه مقاطع بافتی، برش‌هایی به ضخامت ۳ میکرومتر تهیه گردید. سپس مقاطع با استفاده از دو ظرف گزیلول پارافین زدایی شده و با غلظت‌های نزولی الکل آب‌دهی شدند و در نهایت سه مرتبه با محلول بافر فسفات عاری از نوکلئاز شستشو شدند. جهت از بین بردن پراکسیدازهای درون‌زاد، مقاطع با پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد در متانول به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس مقاطع بعد از شستشو با بافر فسفات عاری از نوکلئاز با کمک پروتئیناز K تیمار شدند (۱۰). کیت آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق کیت تشخیص مرگ سلولی POD ساخت شرکت روژ آلمان (کیت شماره ۹۱۰ ۸۱۷ ٦٨٤ ۱۱) بود که تمامی مراحل آن مطابق با دستورالعمل همراه کیت انجام

پذیرفت. برای تعیین شاخص آپوپتوزی در هر مقطع، ۱۰ برونش و برونشیول با بزرگنمایی بالا مورد بررسی قرار گرفت و هسته‌های TUNEL مثبت (هسته‌هایی به رنگ قهوه‌ای تیره و یکنواخت) و TUNEL منفی بافت پوششی هر مجرا شمارش شد. سپس شاخص آپوپتوزی (LI) از فرمول زیر محاسبه گردید: LI= a/(a+b) ×100 که a تعداد هسته‌های TUNEL مثبت و b تعداد هسته‌های TUNEL منفی در هر ناحیه می‌باشد.

متغیر وابسته دیگر پژوهش شامل سطوح HIF-1α ریه بود که مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تعیین سطوح HIF-1α ریه با استفاده از کیت CUSABIO BIOTECH کشور چین با حساسیت ۰/۷۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر به روش الایزا توسط دستگاه الایزا ریدر کمپانی Tecan مدل Sun Rise کشور اتریش انجام شد. برای این منظور، ابتدا لوب راست بافت ریه با استفاده از نیتروژن مایع پودر و سپس در محلول بافر هموژنیزه و به مدت ۱۵ دقیقه و سرعت ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. محلول به دست آمده برای سنجش شاخص مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. جهت اندازه گیری میانگین و انحراف معیار از آمار توصیفی و جهت ارزیابی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون آماری کولموگروف اسمیزنوف استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی بانفرونی نیز جهت مقایسه میانگین گروه‌ها استفاده شد. کلیه محاسبات با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ در سطح معناداری $p \leq ۰/۰۵$ انجام پذیرفت.

نتایج

یافته‌های تحلیل آماری نشان داد سطوح HIF-1α (۲۲/۳۹ درصد) (نمودار ۱) و آپوپتوز برونش (۵۶ درصد) (نمودار ۲) و برونشیول (۳۳ درصد) (نمودار ۳) بافت ریه رت‌ها در گروه تمرین بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است ($p \leq ۰/۰۵$). در گروه بی‌تمرینی، سطوح HIF-1α (۱۰/۲۲ درصد) (نمودار ۱) و آپوپتوز برونش (۶۵ درصد) (نمودار۲) و برونشیول (۷۲ درصد) (نمودار۳). بافت ریه رت‌ها بطور معنی‌داری نسبت به گروه تمرین کاهش نشان داد ($p \leq ۰/۰۵$).



نمودار۱- میزان تغییرات HIF-1α بافت ریه رت‌ها در گروه‌های پژوهش. † تفاوت معنی دار بین گروه‌های تمرین و علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل.

نمودار۲- میزان تغییرات آپوپتوز برونش بافت ریه رت‌ها در گروه‌های پژوهش؛ † تفاوت معنی دار بین گروه‌های تمرین و علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل.

نمودار۳- میزان تغییرات آپوپتوز برونشیول بافت ریه رت‌ها در گروه‌های پژوهش؛ † تفاوت معنی دار بین گروه‌های تمرین و علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل..

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر سه هفته بی‌تمرینی متعاقب یک دوره آماده سازی ٦ هفته‌ای تمرینات اینتروال فزآینده بر میزان آپوپتوز برونش، برونشیول و سطوح HIF-1α بافت ریه رت‌های نر ویستار بود. مهمترین یافته‌ها پژوهش حاضر نشان داد بی‌تمرینی سطوح HIF-1α و آپوپتوز برونش و برونشیول بافت

ریه، ناشی از تمرین اینتروال فزآینده در دوره آماده سازی را به ترتیب میزان ۱۰/۲۲ ٪ افزایش می‌دهد. از طرفی کاهش بار تمرینی با کاهش سطوح HIF-1α همراه بود ولی در میزان آپوپتوز برونش و برونشیول تاثیر معنی داری نداشت. با این حال نسبت به گروه هایپوکسی به تنهایی با کاهش همراه بود.

این یافته‌ها با مطالعه میردار و همکاران (۱۸)، تیان و همکاران (۳۱) همسو و با مطالعه سیاحرستانی و همکاران (۳۰)ناهمسو است.

سیاحرستانی و همکاران نشان دادند در ورزش هوازی سطوح HIF-1α نسبت به ورزش بی هوازی کمتر است. آنها بیان کردند سازگاری سلولی با هیپوکسی در تمرینات هوازی پایدار تر است بطوری که متابولیسم بدن در حین تمرینات هوازی به حالت پایدار می رسد (۳۰). اما با توجه به یافته های مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد ورزشکارانی که برای بهبود اجرای خود، تحت فشار افزایش بارتمرینی قرار می‌گیرند، فشارها و استرس فیزیکی ناشی تمرینات آماده سازی، ممکن است موجب اختلال در هموستاز بدنی و سیستم ایمنی شود (۲۱,۱۹). این در حالی است که تمرین اینتروال فزآینده می‌تواند شرایط کمبود اکسیژنی یا هایپوکسی را بر دستگاه‌های مختلف بدنی درپی داشته باشد. اما از طرفی دیگر، هایپوکسی زمینه‌ساز بسیاری از سازگاری‌های مطلوب عملکردی ورزشکاران و همچنین سازگاری‌های فیزیولوژیک و پاسخ‌های پاتوفیزیولوژیک است (۳). مطالعات اولیه به مسیرهای HIF-1α که با کمبود اکسیژن فعال می‌شود، عمدتاً به عنوان یک نقش حمایت کننده در تطبیق تومور از طریق افزایش فرایندهایی مانند رگ‌زایی، متابولیسم گلیکولیتیک و حیات تومور توجه داشته‌اند، اما اخیراً مشخص شده است که مسیر HIF-1α یک نقش کلیدی در تنظیم ایمنی و التهاب دارد (۲۷,۹). از این رو به نظر می‌رسد پروتئین HIF-1α می‌تواند در ایجاد آسیب‌های مختلف بخصوص در شرایط هیپوباریک هایپوکسی و هایپوکسی ناشی از تمرینات ورزشی شدید و طولانی‌مدت نقش داشته باشد (۳) هی و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که هایپوکسی علت اصلی آسیب ریوی است. در مراحل اولیه هایپوکسی، تغییرات مخربی رخ می‌دهد که منجر به آسیب بافت پوششی آلوئولار، آپوپتوز سلول‌های اپی‌تلیال آلوئولار II و ادم ریوی می‌شود (۸)، در پژوهش حاضر نیز سطوح HIF-1α بافت ریه در گروه‌های تمرین و هیپوباریک هایپوکسی افزایش داشت. از این جهت با پژوهش لاندبی و همکاران همسو بود، آنها بیان کردند که سطوح mRNA HIF-1α و HIF-2α در عضلات اسکلتی افراد تمرین نکرده در پاسخ به ورزش حاد افزایش می‌یابد (۱۶). این افزایش در بیان HIF-1α در عضلات ممکن است جهت سازگاری عضلانی با شرایط بی‌هوازی مهم باشد، در این زمینه راندکویست و همکاران نشان داند هایپوکسی ایجاد شده در اثر تمرینات ورزشی، می‌تواند یکی از مهم‌ترین عوامل برای سازگاری عضلات با تمرینات ورزشی باشد و پروتئین HIF-1α یکی از مهم‌ترین فاکتورهای این سازگاری‌ها است (۲۵). از طرفی با مطالعه دی اسمت و همکاران ناهمسو بود آنها نشان دادند که ده دقیقه انسداد شریانی باعث افزایش مایونوکلئوس‌های بیان کننده HIF-1α می‌شود (۱۲).

مطالعات نشان داده‌اند که فاکتور القای هایپوکسی یک الفا بعنوان یک عامل پیش التهابی در فرآیند آپوپتوز می‌تواند نقش داشته باشد. در واقع تطبیق سلول به هایپوکسی همیشه منجر به تکثیر و بقای سلولی نمی-شود بلکه در بعضی شرایط سلول می‌میرد. نشان داده شده که هیپوکسی در بعضی موارد سلول‌ها را وادار به آپوپتوز کرده که در آن HIF-1α نقش کلیدی بازی می‌کند (۱۰). در واقع مشخص شده است که در کنار سایر تاثیرات HIF-1α بر روی سلول‌های بدن،

هایپوکسی و خود ژن HIF-1α بسته به نوع و شرایط تجربی سلول به عنوان یک فاکتور پیش آپوپتوزی و یا ضد آپوپتوزی عمل می‌کند. به نظر می‌رسد که شرایط پیش آپوپتوزی هنگام هایپوکسی طولانی مدت و شدید رخ دهد که در آن HIF-1α به همراه ژن P53 نقش تعیین کننده داشته باشد (۲۲). مکانیزم آپوپتوز یک نقش کلیدی در آسیب‌های بافت پوششی دارد، بدین صورت که سلول در حال مرگ دفع می‌گردد. یکی از این مکانیزم‌های دفع، شامل شناسایی فسفاتیدیلیسرین غشاء پلاسمایی توسط ماکروفاژها است. همچنین رها سازی TGH-β از ماکرو فاژها در اثر آپوپتوز افزایش می یابد. که این کار برای محدود کردن التهاب بیش از حد است.، چرا که TGH-β بعنوان کاهنده سوپر اکسیدازها عمل می‌کند و TGF-β بعنوان یک میانجی در اپی تلیوم راههای هوایی ساخته می‌شود. برای فهمیدن آپوپتوز اپیتلیال برونش و یا برونشیال می‌توان به حضورP85 که یک آنزیم از خانواده PI3K است پی برد که فعال کننده کاسپاز ۳ می‌باشد (۲). در سال‌های اخیر پژوهش در زمینه آپوپتوز توجه بسیاری از پژوهشگران ورزشی را به خود جلب کرده است. زیرا شواهد نشان می‌دهد که علاوه بر مرگ سلولی به شکل نکروز، مرگ سلولی به صورت آپوپتوز نیز با فعالیت ورزشی شدید رخ می‌دهد. ورزش بیش از حد یا ورزش شدید ممکن است موجب آسیب مکانیکی قابل ملاحظه‌ای شود که با پاسخ‌های التهابی منجر به آپوپتوز و نکروز نمود پیدا می‌کند. ورزش شدید باعث تعدیل بسیاری از عواملی می‌شود که ممکن است آپوپتوز را در انواع بافت‌ها تغییر دهد. مطالعات نشان می‌دهد فعالیت‌های ورزشی شدید موجب افزایش ترشح گلوکوکورتیکوئید، غلظت کلسیم داخل سلولی و تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر در شرایط کمبود اکسیژن ناشی از شدت بالای تمرینی یا شرایط محیطی همچون هیپوکسی که ورزشکاران جهت بهبود عملکرد و سازگاری‌های فیزیولوژیک آن مورد استفاده قرار می‌دهند، می‌شود که این امر عاملی برای ایجاد آسیب‌هایی از جمله کاهش عملکرد سیستم ایمنی همچون آپوپتوز بشمار می‌رود. اگرچه مکانیسم دقیق آپوپتوز هنوز مشخص نیست، اما ممکن است با توجه به نوع سلول و نوع تحریکات متفاوت باشد (۳۲) پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهند آپوپتوز می‌تواند در پاسخ به هایپوکسی ناشی از تمرینات ورزشی شدید، با وهله‌های استراحتی کوتاه مدت، القا می‌شود. شدت کمبود اکسیژن تعیین می‌کند که آیا سلول با این شرایط سازوگار می‌شود و زنده می‌ماند و یا دچار مرگ می‌شود. در محیط هایپوکسیک به دلیل عدم تامین انرژی لازم که برای زنده ماندن سلول، سلول دچار مرگ می‌شود. البته سلول‌های پروتئینی تنظیمی آپوپتوز به طور ظریفی متعادل بوده همچنین در شرایط هایپوکسی یک توازن پیچیده بین عواملی که موجب آپوپتوز می‌شوند و عواملی که با آپوپتوز مقابله می‌کنند وجود دارد (٦). کمبود اکسیژن ناشی از فعالیت ورزشی شدید می‌تواند سبب القاء آپوپتوز، از طریق نفوذ پذیری غشای میتوکندری که منجر به آزاد سازی سیتوکروم c از فضای بین دو غشا میتوکندری به داخل سیتوزول می‌شود گردد. آپوپتوزیس که در شرایط هایپوکسی رخ می‌دهد بیشتر توسط مهار زنجیره الکترون از غشاء داخلی میتوکندری صورت می‌گیرد. کمبود اکسیژن، حمل و نقل پروتون را مهار می‌کند و در نتیجه باعث کاهش پتانسیل غشاء می-شود. کاهش ATP بدست آمده از میتوکندری، سبب فعال شدن پروتئین‌های پیش آپوپتوزی مثل BAX,BAD می‌شود و در نهایت منجر به انتشار سیتوکروم C به داخل سیتوزول می‌گردد (٢٦). از این روی سلولهای فاقد پروتئین های پیش آپوپتوزی (BAX و BAD) نسبت به آپوپتوز ناشی از فقدان

اکسیژن مقاوم هستند (۱۷). نتایج نشان می‌دهد که مسیر های آپوپتوزی وابسته به میتوکندری و مسیر های آپوپتوزی وابسته به گیرنده مرگ Fas در قلب موش در هایپوکسی بلند مدت فعال هستند (۱۵). رولز و همکاران نیز اثر تمرین اینتروال بر روی عملکرد دو چرخه سواری را بررسی کردند. آنها چنین نتیجه گرفتند که ٤هفته تمرین اینتروال موجب بهبود عملکرد استقامتی می‌شود، اگرچه در معرض شرایط هایپوکسی کوتاه مدت(١١٤ دقیقه در هفته) افزایش زیادی در عملکرد و تغییرات هماتولوژی حاصل نشد (٢٤). در طرف مقابل تاثیرات پیش آپوپتوزی هایپوکسی، سلول‌ها می‌تواند در شرایط هایپوکسی در برابر آپوپتوز مقاوم بشوند. در پژوهشی دیگر نشان دادند که سلول‌های درمان شده توسط فاکتور القایی قوی آپوپتوز یعنی استرواسپرین در شرایط هایپوکسی شدید در ارتفاع بالا نسبت به سطح دریا ،حساسیت کمتری به آپوپتوز داشتند که مقاومت در برابر مرگ در سلول‌های هایپوکسیک حداقل در دو سطح صورت می‌گیرد: در میتوکندری و در سیتوزول سلول، در سلول‌های معالجه شده توسط استرواسپرین، پروتئین-های پیش آپوپتوزی BAX در طی هایپوکسی در میتوکندری سرکوب میگردد. BAX پروتئینی است که باعث رهایی سیتوکروم C به داخل سیتوزول می‌شود که در نتیجه رهایی سیتوکروم C به داخل سلول در طی هایپوکسی کاهش می‌یابد که از مرگ سلولی جلوگیری میکند (٤).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد تمرینات شدید با توجه به ایجاد شرایط هایپوکسی با هدف بهبود عملکرد و سازگاری های فیزیولوژیک، توام با آسیب‌هایی است که در شرایط بی‌تمرینی سطح عوامل ایجاد این آسیب‌ها کاهش می‌یابد. بعبارتی دیگر محرومیت از تمرین متعاقب یک دوره آماده‌سازی شدید که با عدم تحرک همراه است میزان سطوح فاکتور القایی هیپوکسی یک آلفا و عوامل احتمالی زیر دستی آن یعنی آپوپتوز برونش و برونشیول بافت ریه رت‌ها را تا حدودی کاهش می‌دهد.

منابع

1. Ahmadi A., Sheikholeslami-Vatani D., Ghaeeni S., Baazm M. 2021. The Effects of Different Training Modalities on Monocarboxylate Transporters Mct1 and Mct4, Hypoxia Inducible Factor-1α (Hif-1α), and Pgc-1α Gene Expression in Rat Skeletal Muscles. *Molecular Biology Reports*, 48(3): 2153-2161.

2. Bucchieri F., Puddicombe S.M., Lordan J.L. 2002. Asthmatic Bronchial Epithelium Is More Susceptible to Oxidant-Induced Apoptosis. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 27(2): 179-185.

3. Dayan F., Mazure N.M., Brahimi-Horn MC., Pouysségur J. 2008. A Dialogue between the Hypoxia-Inducible Factor and the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenvironment*, 1(1): 53-68.

4. Dong Z., Wang J..Z., Yu F., Venkatachalam M.A. 2003. Apoptosis-Resistance of Hypoxic Cells: Multiple Factors Involved and a Role for Iap-2. *The American Journal of Pathology*, 163(2): 663-671.

5. Dong Z., Wang JZ., Yu F.,Venkatachalam MA. 2003. Apoptosis-Resistance of Hypoxic Cells: Multiple Factors Involved and a Role for Iap-2. *The American journal of pathology*. 163(2): 663-671.

6. Greijer A..Van der Wall E. 2004. The Role of Hypoxia Inducible Factor 1 (Hif-1) in Hypoxia Induced Apoptosis. *Journal of Clinical Pathology*, 57(10): 1009-1014.

7. Groenman F., Rutter M., Caniggia I., Tibboel D., Post M. 2007. Hypoxia-Inducible Factors in the First Trimester

Muscle in Normoxic Conditions. *European Journal of Applied Physiology*, 96(4): 363-369.

8. He X., Shi X., Yuan H., Xu H., Li Y., Zou Z. 2012. Propofol Attenuates Hypoxia-Induced Apoptosis in Alveolar Epithelial Type Ii Cells through Down-Regulating Hypoxia-Inducible Factor-1α. *Injury*, 43(3): 279-283.

9. Hu C.J., Wang L.Y., Chodosh L.A., Keith B., Simon M.C. 2003. Differential Roles of Hypoxia-Inducible Factor 1α (Hif-1α) and Hif-2α in Hypoxic Gene Regulation. *Molecular and Cellular Biology*, 23(24): 9361-9374.

10. Ke Q., Costa M. 2006. Hypoxia-Inducible Factor-1 (Hif-1). *Molecular pharmacology*. 70(5): 1469-1480.

11. Ke Q.,Costa M. 2006. Hypoxia-Inducible Factor-1 (Hif-1). *Molecular pharmacology*. 70(5): 1469-1480.

12. Kuiper E.J.,Van Nieuwenhoven F.A., De Smet M.D. 2008. The Angio-Fibrotic Switch of Vegf and Ctgf in Proliferative Diabetic Retinopathy. *PloS One*, 3(7): e2675.

13. Kuwano K. 2007 .Epithelial Cell Apoptosis and Lung Remodeling. *Cell and Molecular Immunology*, 4(6): 419-429.

14. Larsson L., Ansved T. 1985. Effects of Long-Term Physical Training and Detraining on Enzyme Histochemical and Functional Skeletal Muscle Characteristics in Man. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, 8(8): 714-722.

15. Lee S.D., Kuo W.W., Lin J.A. 2007. Effects of Long-Term Intermittent Hypoxia on Mitochondrial and Fas Death Receptor Dependent Apoptotic Pathways in Rat Hearts. *International journal of Cardiology*, 116(3): 348-356.

16. Lundby C., Gassmann M., Pilegaard H. 2006. Regular Endurance Training Reduces the Exercise Induced Hif-1α and Hif-2α Mrna Expression in Human Skeletal

17. McClintock D.S., Santore M.T., Lee V.Y. 2002. Bcl-2 Family Members and Functional Electron Transport Chain Regulate Oxygen Deprivation-Induced Cell Death. *Molecular and Cellular Biology*, 22(1): 94-104.

18. Mirdar S., Kazemzadeh Y., Arabzadeh E., Shirvani H., Hamidian G. 2019. The Effects of Tapering with and without Ethanolic Extract of Nigella Sativa on Hypoxia Inducible Factor-1α and Exercise-Induced Bronchial Changes. *Journal of Military Medicine*, 21(2): 131-141.

19. Mujika I. 2010. Intense Training: The Key to Optimal Performance before and During the Taper. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 20(s2): 24-31.

20. Nikseresht M..Sadeghifard N..Agha-Alinejad H..Ebrahim K. 2014. Inflammatory Markers and Adipocytokine Responses to Exercise Training and Detraining in Men Who Are Obese. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 28(12): 3399-3410.

21. Papacosta E., Gleeson M. 2013. Effects of Intensified Training and Taper on Immune Function. *Revista Brasileira de Educação Física e Esporte*, 27(1): 159-176.

22. Piret J.P., Mottet D., Raes M., Michiels C. 2002. Is Hif-1α a Pro-or an Anti-Apoptotic Protein?. *Biochemical Pharmacology*. 64(5): 889-892.

23. Ringseis R., Eder K., Mooren FC., Krüger K. 2015. Metabolic Signals and Innate Immune Activation in Obesity and Exercise. *Exercise Immunology Review*. 21(2): 132-145.

24. Roels B., Millet GP., Marcoux C., Coste O., Bentley DJ., Candau RB. 2005. Effects of Hypoxic Interval Training on Cycling Performance. *Medicine and*

Science in Sports and Exercise. 37(1): 138-146.

25. Saikumar P., Dong Z., Patel Y. 1998. Role of Hypoxia-Induced Bax Translocation and Cytochrome C Release in Reoxygenation Injury. *Oncogene*. 17(26): 3401-3415.

26. Saikumar P., Dong Z., Patel Y. 1998. Role of Hypoxia-Induced Bax Translocation and Cytochrome C Release in Reoxygenation Injury. *Oncogene*, 17(26): 3401-3415.

27. Scholz CC.,Taylor CT. 2013. Targeting the Hif Pathway in Inflammation and Immunity. *Current opinion in pharmacology*. 13(4): 646-653.

28. Schutte B., Ramaekers F.C. 2000. Molecular Switches That Govern the Balance between Proliferation and Apoptosis. *Progress in Cell Cycle Research*, 2000: 207-217.

29. Semenza GL. 2012. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine. *Cell*, 148(3): 399-408.

30. Syahrastani S., Argantos A., Farma SA. 2020. Comparison of Serum Hif-1α Levels in Swimming Athletes before and after Hypoxic Non-Hypoxic Exercise. *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 21(1): 36-39.

31. Tian X., Zhou N., Yuan J. 2020. Heat Shock Transcription Factor 1 Regulates Exercise-Induced Myocardial Angiogenesis after Pressure Overload Via Hif-1α/Vegf Pathway. *Journal of cellular and molecular medicine*. 24(3): 2178-2188.

32. Wang Z., Yu K., Hu Y. 2020. Schisantherin a Induces Cell Apoptosis through Ros/Jnk Signaling Pathway in Human Gastric Cancer Cells. *Biochemical Pharmacology*, 173: 113673.

33. Yeh C.H., Cho W., So E.C. 2011. Propofol Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Lung Epithelial Cell Injury by Reducing Hypoxia-Inducible Factor-1α Expression. *British Journal of Anaesthesia*, 106(4): 590-599.