تاثیر هشت هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی شدید بر مقادیر VEGF-A و VEGFR-2 بافت مغز موش‌های صحرایی نر ویستار

رسول رضایی[۱]✉، مریم نورشاهی[۲]، محمدرضا بیگدلی [۳]، فریبا خداقلی [۴]، عباس حق پرست[۵]

۱.دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه شهید بهشتی
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش دانشگاه شهید بهشتی
۳. دانشیار گروه علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی
۴. دانشیار مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵. استاد مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۰۸/۲۳ **تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۱/۲۵**

چکیده

هدف: تحقیق حاضر، بررسی تاثیر هشت هفته تمرین استقامتی در مقایسه با تمرین تناوبی با شدت بالا بر مقادیر VEGF-A و VEGFR2 در سه ناحیه استراتوم، هیپوکامپ و قشر بافت مغز موش صحرایی نر ویستار بود. **روش‌شناسی:** بدین منظور از ۲۴ سر موش نر نژاد ویستار (۹ هفته،۲۰±۲۰۰ گرم) استفاده شد. موش‌ها پس از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه به روش تصادفی به سه گروه: کنترل (Cont)؛ تمرین تداومی استقامتی؛ تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم و پروتکل هشت هفته‌ای تمرین تداومی و تناوبی را انجام دادند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین حیوانات کشته و نمونه‌گیری در سه ناحیه استراتوم، هیپوکامپ و قشر بافت مغز انجام گرفت. میزان پروتئین VEGF-A، VEGFR2 از طریق روش وسترن بلات انجام شد. برای بررسی اختلاف معناداری در مقادیر VEGF-A **و** VEGFR2در سه گروه از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که مقادیر پروتئین VEGF-A در ناحیه استراتوم در گروه HIIT، در ناحیه هیپوکامپ در گروه تمرین تداومی استقامتی و در ناحیه قشر هر در گروه HIIT بیش از گروه کنترل بود (P<۰/۵). همچنین مقادیر پروتئین VEGFR2 در دو ناحیه استراتوم و هیپوکامپ در هر دو گروه بیش از گروه کنترل بود. در حالی که در ناحیه قشر این تفاوت معنی‌دار نبود. **نتیجه‌گیری**: یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که هر دو روش تمرین تداومی استقامتی و تناوبی با شدت بالا می تواند باعث افزایش مقادیر پروتئین‌های VEGF-A و VEGFR2 گردد . با این حال ورزش تناوبی با شدت بالا به علت مزیت زمانی می‌تواند جایگزینی مناسب برای تمرین تداومی استقامتی باشد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، VEGF-A، VEGFR-2

Effect of eight weeks continues and HIIT exercises on VEGF-A and VEGFR-2 levels in stratum, hippocampus and cortex of wistar rat brain

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of eight week continues and HIIT exercise on VEGF-A and VEGFR-2 levels in stratum, hippocampus and cortex of wistar rat brain. **Methods:** for this purpose, 24 wistar rats (age: 9 weeks, weight: 200±20gr) were selected. After one week of familiarization with laboratory environment, they were randomly divided into three groups consisted of: control, continuous training and high intensity interval training. They did continuous and high-intensity interval training for eight-weeks. Twenty-four hours after last section of exercise they sacrificed and sampling of stratum, hippocampus and cortex were performed. Then, for assessment of VEGF-A and VEGFR-2 level, western blot method was used and for statistical analysis of the data's, the one-way ANOVA was used. Data of this study illustrated that VEGF-A protein in the stratum in HIIT and in hippocampus, the continuous training and in the cortex HIIT group was higher than the control group (P< 0/.5). Also VEGFR2 protein in the stratum and hippocampus area in both groups were higher than control group. While this difference was not significant in cortex. The results showed that both continuous and high-intensity interval training can increase the amount of VEGF-A and VEGFR2 proteins. Thus HIIT because of the time advantage can

kye Words: be a substitute for continuous endurance training.

✉ **نویسنده مسئول:** رسول رضائی **شماره تماس:**۰۹۳۹۷۱۴۶۲۱۱

آدرس: تهران، ولنجک، دانشگاه شهید بهشتی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی گروه فیزیولوژی ورزش

E-Mail: Rasoul.rezai1364@gmail.com

مقدمه

یکی از مهمترین سازگاری های ناشی از فعالیت ورزشی در عضله اسکلتی، قلبی و مغز افزایش چگالی مویرگی یا آنژیوژنز می‌باشد. اگرچه در فرآیند رگ‌زایی عوامل بسیاری اثرگذار می‌باشد اما به نظر می‌رسد VEGF مهمترین فاکتور موثر بر فرآیند رگ‌زایی باشد. از اینرو تحقیقات مختلفی اثر گذاری فعالیت ورزشی را بر مقادیر VEGF سنجیده‌اند (۱-۳)

با این حال مشخص گردیده که VEGF علاوه بر تحریک رگ زایی اثرات مستقیمی بر انواع نرون‌ها از جمله سلول-های بنیادی دارد، به طوری که گزارش شده است کاهش مقادیر VEGF باعث تخریب نرونی می گردد (۴) از طرفی با توجه به اثرگذاری VEGF در خون رسانی و مشاهده نقص خونرسانی در بیماری‌هایی همچون آلزایمر و هانگتینتون (۵, ۶) به نظر می‌رسد VEGF یکی از عوامل اثر گذار در این بیماری‌ها باشد .با توجه به اثرات تحریکی VEGF بر اکسون زایی (۱۴) تحریک رشد و بقای سلول-های شوان در شرایط هایپوکسی (۷) افزایش و تکثیر مهاجرت استروسیت‌ها (۸, ۹)، میکروگلیاها تقویت نروژنز و اثرات تروفیک بر نرون ها و گلیاها در CNS و PNS به نظر می رسد VEGF علاوه بر اثرات آنژیوژنزی و سلامت عروق به عنوان یک فاکتور مهم دارای اثرات محافظتی و تروفیک برای نرون‌ها (۱۰, ۱۱) می‌باشد که به عوامل گسترده‌ای همچون هورمون‌ها، فاکتورهای رشدی و غلظت اکسیژن بستگی دارد (۱۲-۱۵).

در بین ایزوفرم‌های VEGF ، VEGF-A مهمترین عامل در فرایند رگزایی و حمایت عصبی (۱۱) است و در میان گیرنده های VEGF گیرنده ۲ عامل رشد اندوتلیالی (VEGFR2) مهمترین انتقال دهنده اثرات VEGF-A می-باشد که در عروق باعث تنظیم، تکثیر، مهاجرت، افزایش حیات و افزایش نفوذپذیری عروق در پاسخ به VEGF-A (۱۶-۱۸)، می گردد در CNS نیز با فعال سازی چندین مسیر پایین دست از قبیل مسیر PI3K ۱و مسیر PLCγ ۲ باعث شروع تکثیر و حذف آپوپتوز سلول‌های عصبی (۱۵) و همچنین تکثیر، مهاجرت و تمایز نورونی سلول‌های بنیادی عصبی می‌گردد (۱۹).

با توجه به اثرگذاری ورزش بر سطوح VEGF ، اثرات حاد و مزمن ورزش و تمرینات ورزشی بر مقادیر VEGF بررسی شده است نتایج این تحقیقات نشان داده که تمرینات استقامتی باعث افزایش فاکتورهای درگیر در رگ‌زایی در ارگان‌های مختلف می‌گردد. (۱-۳). اگرچه تمرینات استقامتی می‌تواند باعث رشد عروق خونی جدید گردد، اما این امر به شدت و نوع تمرین بستگی دارد (۲۰). مطالعات تمرینی نشان داده‌اند که افزایش رگ‌زایی در آستانه ۸۰-۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) در عضله اسکلتی انجام می‌پذیرد. در حالی که تمرین استقامتی با حجم بالا در آستانه VO_{2max} ۴۵٪ اثری بر رگ‌زایی عضله اسکتی نداشته است (۲۱, ۲۲). در بافت مغز نیز مشخص گردیده که دویدن بر روی تردمیل به مدت ۳۰ دقیقه در روز و به مدت سه هفته باعث افزایش فاکتورهای رگ‌زایی و VEGF در بافت مغز موش‌های صحرایی می‌گردد (۲۳, ۲۴). همچنین مشخص گردیده که ورزش با القای استرس کششی به دیواره عروقی از مسیر وابسته به NO باعث افزایش رگ‌زایی می‌گردد (۲۵, ۲۶). همچنین ورزش استقامتی در موش‌های صحرایی سالمند باعث افزایش معنی‌دار درصد رگ‌زایی (CV%)، مقادیر VEGF و eNOS۳ در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل گردید (۲۷).

اگرچه به دلیل نقش تمرینات استقامتی در سلامت جسمانی استفاده از این گونه تمرینات بسیار توصیه شده است، اما یکی از دلایل اصلی نپرداختن به این شیوه تمرینی نبود زمان کافی در جامعه کنونی می‌باشد (۲۸)، از این رو ایجاد روش تمرینی مناسب با صرف زمان کوتاه که دارای خاصیت تمرینات استقامتی تداومی باشد، مورد توجه محققین رشته علوم ورزش قرار گرفته است. یکی از روش‌های تمرینی که توسط عده‌ای از پژوهشگران این عرصه توصیه می‌گردد تمرینات تناوبی شدید با حجم کوتاه ۴(HIIT) و تمرینات سرعتی تناوبی۵ (SIT) -که از خانواده تمرینات HIIT است - می‌باشد (۲۹).

تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که تمرینات HIIT و SIT یک روش قدرتمند برای بهبود اجراهای استقامتی می‌باشد

1. Phosphatide inositol 3 kinase
2. Protein lipase Cγ

3. Endothelial nitric oxide senates
4. High intensity interval training with low volume
5.Sprint interval training

(۳۰, ۳۱) که نسبت به تمرینات استقامتی تداومی سنتی از لحاظ زمانی دارای مزیت است (۳۰). تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) ترکیبی از دوره‌های پرشدت هوازی($\geq$90% VO_2 peak) به همراه دوره‌های بازیافت فعال یا غیرفعال با شدت متوسط می‌باشد (۲۹)، که به دو صورت با حجم بالا و حجم پایین اجرا می‌گردد. اگرچه این گونه تمرینات برای بهبود اجراهایی با ماهیت سرعتی می-باشد اما تحقیقات نشان داده‌اند که انجام این تمرینات به مدت چندین هفته باعث بهبود فاکتورهای درگیر در متابولیسم هوازی همچون حداکثر ظرفیت هوازی، حداکثر فعالیت آنزیم‌های میتوکندریایی و بایوژنز میتوکندریایی می‌شود (۳۲). در رابطه با سازگاری عروقی نیز کوکس و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تمرینات استقامتی و تمرین SIT جهت کاهش سختی سرخرگی و افزایش عروقی شدن عضله اسکلتی و مقادیر eNOS اثر مشابهی داشتند، از اینرو پیشنهاد کردند که هر دو تمرین برای افزایش عروق کوچک عضله اسکلتی و بهبود عملکرد عروق بزرگ مناسب هستند، اما تمرین SIT به علت صرف زمان کمتر دارای مزیت می‌باشد (۱).

اگرچه بر اثر گذاری تمرینات HIIT بر بافت‌های عضله اسکلتی و قلب در افراد سالم و دارای بیماری‌های قلبی تحقیقات مختلفی صورت گرفته است، اما اثر این گونه از تمرینات بر سازگاری‌های بافت مغز و مقدار اثرگذای این گونه از تمرینات بر مقادیر VEGF-A و VEGFR2 به عنوان عوامل درگیر در فرایند رگ‌زایی و حمایت عصبی در نواحی مختلف مغز همچون قشر، هیپوکامپ و استراتوم که در بیماری های عصبی(۳۳, ۳۴) و فرآیند یادگیری(۳۵) درگیر و متاثر از فعالیت ورزشی(۳۶, ۳۷) می باشد کمتر سنجیده شده است. از این رو این سوال مطرح می‌گردد که آیا تمرینات HIIT می‌تواند به عنوان جایگزینی کارآمد از لحاظ زمانی، همچون تمرینات هوازی سنتی با توجه به اثرگذاری بر فاکتورهای رشدی همچون VEGF-A و VEGFR2 در حفظ سلامت مغز موثر باشد.

از این رو تحقیق حاضر در نظر دارد میزان تغییرات VEGF-A و VEGFR-2 در سه ناحیه استراتوم، هیپوکامپ و قشر بافت مغز پس از هشت هفته تمرین استقامتی تداومی در برابر هشت هفته تمرین تناوبی با حجم پایین را بررسی و توانایی اثرگذاری تمرینات HIIT را به عنوان جایگزینی برای تمرینات استقامتی سنتی در تاثیرگذاری بر سلامت بافت مغز بی‌ازماید.

روش پژوهش

آزمودنی‌ها: در این پژوهش ۲۴ سر موش صحرایی نر ویستار ۹ ماهه به عنوان نمونه تحقیق از موسسه انستیتو رازی خریداری و در شرایط دمایی ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴ ±۵۵٪ و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری و به وسیله آب و غذای مخصوص موش‌های صحرایی تغذیه شدند. تمام حیوانات به منظور آشنا سازی با تردمیل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲-۸ متر بر دقیقه به مدت سه روز ورزش کردند. بعد از گذشت یک هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه) موش‌های صحرایی به طور تصادفی به سه گروه کنترل (Cont,) تمرین تداومی استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم و با توجه به حداکثر سرعت بدست آمده در آزمون وامانده ساز تمرین داده شدند.

آزمون جهت تعیین سرعت بیشینه هنگام حداکثر اکسیژن مصرفی: با استفاده از آزمون فزاینده استاندارد بیدفورد و همکاران (۳۸) که به وسیله کارول گویز ریندلو و همکاران (۲۰۰۷) جهت رت‌های نژاد ویستار استاندارد سازی شده است (۳۹) حداکثر اکسیژن مصرفی موش های صحرایی محاسبه گردید. هر موش صحرایی به صورت جداگانه آزمون گرفته شد. آزمون فزآینده به اینصورت بود که موش های صحرایی بر روی تردمیل با سرعت m/min ۵ شروع به دویدن کردند هر سه دقیقه سرعت تردمیل m/min ۵ افزایش می یافت آزمون تا لحظه رسیدن موش صحرایی به واماندگی ادامه می یافت. سرعت نهایی موش صحرایی به عنوان سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی جهت محاسبه شدت های تمرینی موش های صحرایی استفاده گردید. از حیوانات هر دو هفته یک بار آزمون وامانده ساز گرفته و شدت تمرین با توجه به مقادیر جدید آزمون تعیین می‌شد.

پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا: پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا شامل سه قسمت گرم کردن، تمرین شامل تکرارهای اینتروال و سرد کردن بود. موش های صحرایی ابتدا با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد بیشینه به مدت ۵ دقیقه بر روی نوار گردان گرم کردند، سپس تمرین تناوبی را انجام و پس از آن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه سرد کردن را انجام دادند. تمرین تناوبی شامل ترکیب

تکرارهای اینتروال با شدت بالا و شدت پایین بود. تکرار اینتروال با شدت بالا شامل دو دقیقه با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول؛ ۹۰ درصد بیشینه در هفته دوم، ۱۰۰ درصد بیشینه در هفته سوم و ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته چهارم، تا پایان تمرین خواهد بود، تکرار اینتروال با شدت پایین شامل دو دقیقه با شدت ۴۰ درصد بیشینه از هفته اول تا پایان سوم و ۳۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته چهارم به بعد بود. تعداد تکرار اینتروال با شدت بالا در هفته اول دو تکرار اینتروال؛ هفته دوم چهار تکرار اینتروال؛ هفته سوم شش تکرار اینتروال و از ابتدای هفته چهارم به بعد شامل هشت تکرار اینتروال بود. از این رو زمان کل زمان تمرین در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ و از ابتدای هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود.

پروتکل تمرین تداومی هوازی: در گروه تمرین استقامتی موش‌های صحرایی ابتدا به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوارگردان گرم کرده سپس با شدت ۶۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول؛ ۶۵ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم؛ ۷۰ درصد سرعت بیشینه از هفته سوم به بعد تمرین تداومی را انجام دادند. مسافت دویدن موش‌های صحرایی در گروه تمرین تداومی به گونه‌ای بود که با مسافت تمرین گروه تناوبی در یک روز تمرینی برابر بود. از اینرو زمان تمرین در شدت ۷۰ درصد سرعت بیشینه با توجه به مقدار جابجایی پروتکل تمرین تناوبی (بدون محاسبه جابجایی در مرحله گرم کردن و سرد کردن) محاسبه گردید. در پایان موش‌ها پنج دقیقه سرد کردن را در شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه انجام دادند.

نمونه‌گیری: ۲۴ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین هر سه گروه با استفاده از کتامین (۹۰mg/Kg) زایلازین (۱۰mg/Kg) بی‌هوش و بافت مغز خارج گردید و با استفاده از ماتریکس مغزی ۱و با استفاده از مختصات پاکسینو سه بافت قشر، هیپوکامپ و استراتوم جهت تعیین مقادیر VEGF-A و VEGFR2 استخراج گردید.

تهیه و آماده سازی بافت: ابتدا نمونه‌های استخراج شده توسط بافر هموژن (۵۰۰µL Tris-Hcl، pH= ۸، ۰/۰۰۳ گرم EDTA، ۰/۰۸ گرم NaCl، ۰/۰۲۵ گرم Sodium Deoxycholate، ۰/۰۱ گرم SDS، ۱ قرص Protease inhibitor cocktail، ۱۰ میکرولیتر(0.1%) NP40) برای بدست آوردن عصاره سلولی لیز شد. برای هموژن کردن بافت، به اندازه چهار الی پنج برابر وزن نمونه ها بافر لیز کننده ریخته شد و با هموژنایزر تامی۲ مدل میکرو اسمش۳ با دور ۳۰۰۰rpm به مدت دو زمان ۳۰ ثانیه‌ای با فاصله زمانی ۵ دقیقه‌ای بین دفعات برای جلوگیری از گرم شدن و دناتوره شدن پروتئین، هموژن شد. سپس بافت هموژن شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴+ درجه سانتی گراد و در دور ۳۶۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت محلول جدا و در فریزر ۸۰°- نگهداری شد. جهت تعیین غلظت پروتئین از روش برد فورد استفاده و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت مناسب پروتئین نمونه محاسبه گردید.

وسترن بلات: برای انجام تست وسترن بلات مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی آکریل آمید -SDS ۱۲٪PAGE جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی بادی اولیه (Anti- VEGF-A شرکت abcam) در ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در روز دوم ۳ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم با آنتی بادی ثانویه انکوبه شد. بعد از این مرحله بلات‌ها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از فیلم رادیولوژی ظاهر شدند. سپس بلات‌ها را در بافر استریپینگ شستشو داده و آنتی بادی اولیه (VEGFR-2 ساخت شرکت abcam) را به روی کاغذ گذاشته و دوباره با آنتی بادی ثانویه انکوبه و پروتئین مورد نظر در فیلم رادیولوژی ظاهر شد. سپس بلات‌ها را دوباره در بافر استریپینگ شستشو داده و آنتی بادی بتا اکتین را به روی کاغذ گذاشته و دوباره با آنتی بادی ثانویه انکوبه و بتااکتین نیز در فیلم رادیولوژی ظاهر شد. توسط برنامه Image J باندهای بدست آمده دانسیتومتری شدند.

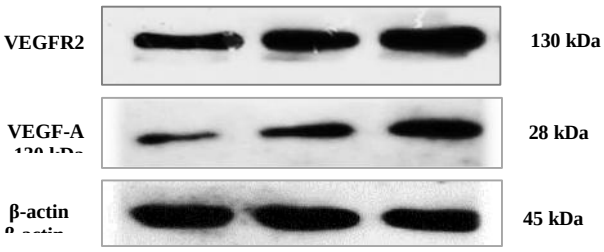
تجزیه و تحلیل آماری: طبیعی بودن داده‌ها به وسیله آزمون کولموگروف - اسمیرنوف مشخص شد. برای بررسی اختلاف معناداری سطوح VEGF-A و VEGFR2 در سه

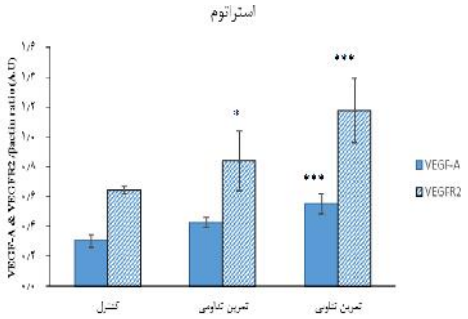
1 .Brain Matrix

1. Tomy
2. Micro Smash

گروه از آنالیز واریانس یکطرفه مستقل استفاده شد. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون‌های تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معناداری نیز P< ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش: نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که بین میزان پروتئین VEGF-A در استراتوم بافت مغز تفاوت معنی دار وجود داشت ((P<۰/۰۰۲) =۸/۳۳۶ F۲،۲۴). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که در میزان VEGF-A گروه کنترل با گروه تمرین تناوبی با شدت بالا تفاوت معنی داری وجود داشت (P< ۰/۰۵). همچنین آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که بین میزان VEGFR2در استراتوم بافت مغز در سه گروه تفاوت معنی داری وجود داشت ((P< ۰/۰۰۱) = ۱۱/۹۵۵ F۲،۲۴). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که در میزان VEGFR2 گروه کنترل با گروه تمرین تداومی و گروه تمرین تناوبی با شدت بالا تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P< ۰/۰۰۱).

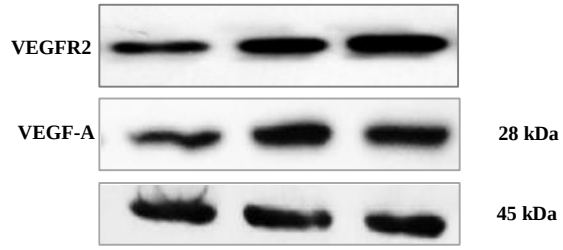


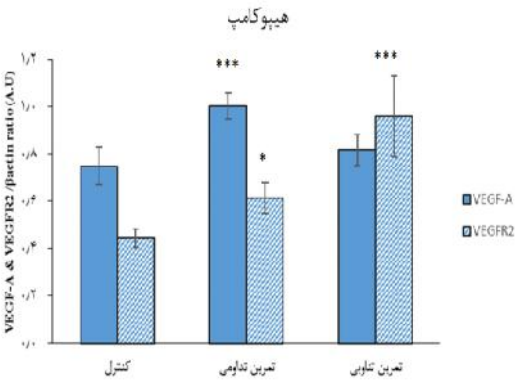


نمودار ۱. میزان VEGF-A و VEGFR2 در ناحیه استراتوم بافت مغز به تفکیک گروه‌ها مقادیر به صورت Mean±SEM می‌باشد

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک سویه نشان داد که بین میزان پروتئین VEGF-A در ناحیه هیپوکامپ بافت مغز تفاوت معنی دار وجود داشت (P<۰/۰۰۹) =۴/۹۵۰ F۲،۲۴).. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که در میزان VEGF-A گروه کنترل با گروه تمرین تداومی تفاوت معنی داری وجود داشت (P< ۰/۰۱).

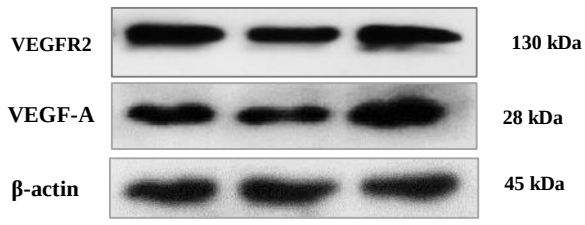
همچنین آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان داد که بین میزان VEGFR2در ناحیه هیپوکامپ بافت مغز در سه گروه تفاوت معنی داری وجود داشت ((P<۰/۰۰۰۱ ۱۴/۲۴۴ = F۲،۲۴). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که در میزان VEGFR2 گروه کنترل با گروه تمرین تداومی و گروه تمرین تناوبی با شدت بالا تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P< ۰/۰۰۰۱).

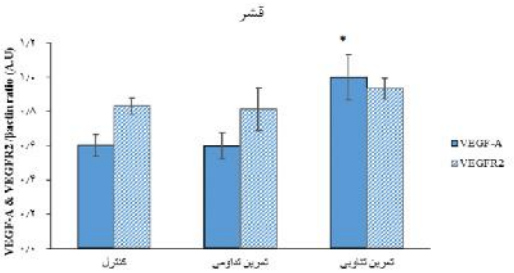




نمودار ۲. میزان VEGF-A و VEGFR2 در ناحیه هیپوکامپ بافت مغز به تفکیک گروه‌ها مقادیر به صورت Mean±SEM می‌باشد

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک سویه نشان داد که بین میزان پروتئین VEGF-A در ناحیه قشر بافت مغز تفاوت معنی دار وجود داشت ((P< ۰/۰۰۹) ۵/۷۸۱ = F۲،۲۴).. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که در میزان VEGF-A گروه کنترل با گروه تمرین تناوبی با شدت بالا تفاوت معنی داری وجود داشت (P< ۰/۰۲). همچنین آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان داد که بین میزان VEGFR2در ناحیه قشر بافت مغز در سه گروه تفاوت معنی داری وجود نداشت.





نمودار ۳. میزان VEGF-A و VEGFR2 در ناحیه قشر بافت مغز به تفکیک گروه‌ها مقادیر به صورت Mean±SEM می‌باشد

بحث و نتیجه گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که هر دو نوع فعالیت ورزشی باعث افزایش مقادیر VEGF-A و VEGFR2 در بافت مغز می‌گردد. با این حال این تغییرات در نواحی مختلف مغز متفاوت می‌باشد. به طوریکه تمرین تداومی باعث افزایش معنی‌دار مقادیر پروتئین VEGF-A در ناحیه هیپوکمپ گردید. در ناحیه استراتوم نیز مقادیر پروتئین VEGF-A همراه با افزایش بود. با این حال این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. همچنین فعالیت ورزشی استقامتی باعث افزایش مقادیر VEGFR2 در دو ناحیه استراتوم و هیپوکامپ گردید. اما ورزش تداومی بر مقادیر دو پروتئین یاد شده در ناحیه قشر تاثیری نداشت. این نتایج با تحقیق هونگ و همکاران (۲۰۱۲) که اثر سه هفته تمرین استقامتی را بر مقادیر mRNA انژیوپویتن ۱ و ۲ و VEGF و همچنین مقادیر پروتئین VEGF و چگالی مویرگی در استراتوم و قشر موش‌های صحرایی سالمند نژاد ویستار سنجیدند(۲۳) همسو بود. یافته‌های این پژوهش‌گران نشان از افزایش چگالی مویرگی، مقادیر پروتئین VEGF و mRNA فاکتورهای یاد شده داشت. با این حال به نظر می‌رسد عدم پاسخ ناحیه قشر به تمرین تداومی در تحقیق حاضر را می‌توان در تفاوت آزمودنی‌ها یافت، به نظر می‌رسد به دلیل کاهش عروق ریز به دلیل فرایند پیری (۴۰)، باعث گردیده تا فعالیت ورزشی باعث اثر بهتر جهت تقویت رگ‌زایی در ناحیه قشر رت‌های سالمند گردد، در حالی که در مطالعه حاضر از رت‌های بالغ استفاده گردید که از لحاظ چگالی مویرگی با موش-های سالمند متفاوت می‌باشد. از دیگر نتایج همسو با تحقیق حاضر می‌توان به پژوهش دینگ هونگ و همکاران (۲۰۰۴) اشاره کرد که اثر مدت های یک، سه و شش هفته تمرین هوازی روزانه بر روی تردمیل به مدت ۳۰ دقیقه بر سطوح mRNA فاکتورهای رگ زایی همچون VEGF، آنژیوپویتن ۱ و ۲ و ارتباط آن را با چگالی مویرگی و ارتباط موارد فوق را با کاهش حجم آسیب ناشی از سکته بررسی کردند. آنها افزایش چگالی مویرگی را در هفته سوم درپی افزایش سطوح mRNA فاکتور VEGF، و آنژوپویتن ۱و ۲ و کاهش حجم سکته ناشی از افزایش چگالی مویرگی را گزارش کردند (۴۱). اگرچه در تحقیق یاد شده شکل بافت برداری به دلیل مقایسه با حجم سکته در نواحی نزدیک به مرکز سکته و اطراف ناحیه درگیر در سکته سنجش شده است با این حال به دلیل افزایش فاکتورهای رگ زایی در بافت مغز می‌توان گفت که فعالیت ورزشی با شدت متوسط توانایی ایجاد استرس فیزیولوژیک جهت افزایش رگ زایی در برخی نواحی مغز را داراست. با این حال به دلیل استفاده تحقیق یاد شده از یک پروتکل ورزشی استقامتی ۳۰ دقیقه ای با سرعت ثابت و همچنین سنجش mRNA فاکتورهای رگ زایی و شکل متفاوت بافت برداری از مواردی است که استفاده از اطلاعات تحقیق فوق و مقایسه با یافته های تحقیق انجام گرفته را محدود کرده است. به نظر می رسد استرس ناشی از فعالیت تداومی استقامتی توانسته است باعث افزایش پروتئین های درگیر در رگ زاییی گردد اما در ناحیه قشر استرس ناشی از فعالیت ورزشی به میزانی نبوده است که بتواند باعث تغییر معنی دار پروتئین های VEGF-Aو VEGFR2 در ناحیه قشر گردد. با این حال برای درک چگونگی اثر ورزش بر مقادیر پروتئینی و سطوح mRNA و همچنین تغییرات ساختارهای مویرگی درگیر در فرآیند خونرسانی نواحی مختلف مغز نیاز به پژوهشی جامع تر احساس می‌گردد.

در رابطه با تمرین HIIT یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که در پی تمرین HIIT در ناحیه استراتوم مقادیر پروتئین VEGF-A و VEGFR2 افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. در ناحیه هیپوکامپ نیز فعالیت ورزشی HIIT باعث افزایش مقادیر VEGF-A و VEGFR2 در ناحیه هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل گردید که این افزایش تنها در مقادیر پروتئین VEGFR2 معنی‌دار بود. در ناحیه قشر نیز تمرین HIIT باعث افزایش معنی دار مقادیر VEGF-A در ناحیه قشر گردید. از اینرو به نظر می‌رسد تمرین HIIT به طور کلی باعث افزایش فاکتورهای درگیر در رگ‌زایی و محافظت نرونی در مغز می‌گردد. اگرچه اثر فعالیت ورزشی HIIT بر مقادیر

VEGF-A و VEGFR2 در نواحی یاد شده تاکنون بررسی نشده است اما اثر تمرینات HIIT بر دیگر فاکتورهای نروتروفیک مغز همسو با نتایج تحقیق حاضر گزارش شده است. در این رابطه افضل پور و همکاران (۲۰۱۵) اثر دو مدل تمرین تداومی استقامتی را با تمرین تناوبی با شدت بالا بر مقادیر BDNF ، GDNF و برخی دیگر از فاکتورهای نروتروفیک در بافت مغز موش های نر نژاد ویستار مقایسه کردند. نتایج یافته های آنان نشان داد که تمرین HIIT باعث افزایش معنی‌دار BDNF وGDNF در بافت مغز نسبت به گروه کنترل می‌گردد به طوریکه HIIT نسبت به تمرین تداومی استقامتی افزایش بیشتر سطوح پروتئین های فوق را منجر شد. در تحقیق حاضر نیز تمرین HIIT نیز مانند تمرین استقامتی توانست منجر به تحریک و تغییر مقادیر پروتئین VEGF-A وVEGFR2 در نواحی مختلف مغز گردد. اگرچه تحقیق حاضر در نظر داشت با سنجش تغییرات مقادیر پروتئین VEGF-A و VEGFR2 تفاوت های دو روش تمرین ورزشی را مقایسه کند با این حال به نظر می‌رسد برای درک بهتر از چگونگی اثرگذاری دو ورزش فوق در نواحی مختلف مغز نیاز به سنجش مقادیر فسفوریله VEGFR2 و همچنین دیگر عوامل درگیر در رگ زایی همچون نیتریک اکساید احساس می‌گردد. با وجود اینکه مقادیر و سطح معنی داری پروتئین های فوق در نواحی مختلف بین دو روش تمرینی متفاوت بود با این حال به نظر می‌رسد هر دو فعالیت ورزشی توانایی یکسانی در فعال سازی مسیر پیام رسانی VEGF-A و VEGFR2 داشته باشد. اگرچه چگونگی و مکانیسم اثر و تفاوت های دو روش تمرینی بر بافت مغز هنوز به طور کامل شناخته نشده است. اما به نظر می رسد یکی از عوامل موثر تغییرات جریان خون مغزی و نیاز سلول‌های مغز با توجه به افزایش شدت تمرین باشد. مشخص گردیده که با افزایش شدت فعالیت ورزشی نیاز سوخت و سازی سلول‌های مغزی به اکسیژن و دیگر فرآورده‌های سوخت و سازی افزایش می‌یابد در حالی که جریان خون مغزی متناسب با این افزایش نیست. در این رابطه چیری روکس و همکاران (۲۰۱۰) به در مروری سیستماتیک نتایج ۲۱ مطالعه را که با استفاده از روش طیف سنجی بر روی ۲۹۱ آزمودنی سالم گرفته بود را مورد بررسی قرار دادند به طور کلی نتایج بررسی آنها نشان دهنده این امر بود 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 می ماند اما این مقادیر با افزایش شدت فعالیت به بالاتر از مقادیر VO2 اوج افت می‌کند. هچنین کوهی ساتو و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی تغییرات جریان خون در شریان داخلی کاروتید (ICA)، شریان خارجی کاروتید (ECA) و شریان ورتبرال (VA) در شدت های ۴۰٪ ،۶۰٪ ،۸۰٪ حداکثر اکسیژن دریافتی و حالت استراحتی با استفاده از دوپلر فراصوت پرداختند. آزمودنی ها به طور جداگانه به مدت پنج دقیقه در سه شدت یاد شده در حالت درازکش پروتکل فزاینده دوچرخه سواری را اجرا کردند. نتایج نشان داد که در شدت ۶۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی، جریان خون ICA ۴±۰/۲۳ ۶/ ٪ نسبت به مقادیر استراحتی افزایش یافت. با این حال در ۸۰٪ اکسیژن مصرفی جریان خون ICA نزدیک به مقادیر سطوح استراحتی بازگشت. در حالی که با افزایش بار کاری جریان خون CCA،ECA و VA افزایش داشت. تغییرات جریان خون ICA از ۶۰٪ تا ۸۰٪ اکسیژن مصرفی همبستگی منفی (r=۰/۷۷) با تغییرات جریان خون ECA داشت. همچنین آنها بین هدایت عروق جلدی پیشانی و جریان خون ECA همبستگی مثبت معناداری (r=۰/۷۹) مشاهده کردند. آنها نتیجه گرفتند که در حین فعالیت ورزشی شدید کاهش یا عدم تغییر جریان خون ICA به علت افزایش زیاد جریان خون ECA به دلیل افزایش اولویت گرما تنظیمی می باشد (۵۷). با توجه به دو تحقیق یاد شده به نظر می‌رسد با افزایش شدت فعالیت ورزشی شرایط محیطی سلول‌های مغز با توجه به نیاز به اکسیژن و فراهمی اکسیژن و خون رسانی بافت مغز متفاوت می‌گردد. از آنجایی در این تحقیق شدت فعالیت تداومی نزدیک به ۷۰ درصد اکسیژن مصرفی اوج اما تمرین تناوبی در حدود ۱۱۰ درصد حداکثر اکسیزن مصرفی بود به نظر می‌رسد تمرین HIIT از لحاظ فراهمی اکسیژن و خونرسانی مغزی استرس بیشتری را به سلول-های مغزی نسبت به تمرین تداومی ایجاد می‌کند. که این امر می‌تواند باعث به وجود آمدن خونرسانی متفاوت در شدت بالا و پایین نسبت به تمرین تداومی گردد. که خود می‌تواند عامل متفاوت بودن مقادیر پروتئین VEGF-A و VEGFR2 در نواحی مختلف مغز گردد.

بطور کلی می‌توان گفت که فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا همچون تمرین تداومی استقامتی توانایی تحریک و افزایش مقادیر پروتئین VEGF-A و VEGFR2 را دارد. که افزایش پروتئین های فوق عاملی اثرگذار در بهبود خونرسانی و حمایت عصبی سلول‌های مغزی می-باشد و از آنجایی که فعالیت HIIT نسبت به تمرین تداومی استقامتی از لحاظ زمانی و حجم کار انجام شده دارای مزیت می‌باشد به نظر می‌رسد این گونه از تمرینات می‌تواند جایگزینی مناسب جهت حفظ سلامت سیستم عصبی باشد.

منابع

1. Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe AM, Barker TA, et al. (2013). Sprint interval and endurance training are equally effective in increasing muscle microvascular density and eNOS content in sedentary males. The Journal of physiology;591(3):641-56.

2. Nourshahi M, Hedayati M, Nemati J, Ranjbar K, Gholamali M. (2012). Effect of 8 weeks endurance training on serum vascular endothelial growth factor and endostatin in wistar rats. Koomesh;13(4):Pe474-Pe9.

3. Ranjbar K, Nourshahi M, Gholamali M. (2013). The Effect of Acute Sub-Maximal Endurance Exercise on Serum Angiogenic Indices in Sedentary Men. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences:58-63.

4. Oosthuyse B, Moons L, Storkebaum E, Beck H, Nuyens D, Brusselmans K, et al. (2001). Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. Nature genetics;28(2):131-8.

5. Deckel AW, Duffy JD. (2000). Vasomotor hyporeactivity in the anterior cerebral artery during motor activation in Huntington's disease patients. Brain research;872(1):258-61.

6. Kalaria RN. (2002). Small vessel disease and Alzheimer's dementia: pathological considerations. Cerebrovascular Diseases;13(Suppl. 2):48-52.

7. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. (1999). Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. The Journal of neuroscience;19(14):5731-40.

8. Silverman W, Krum J, Mani N, Rosenstein J. (1999). Vascular, glial and neuronal effects of vascular endothelial growth factor in mesencephalic explant cultures. Neuroscience;90(4):1529-41.

9. Krum J, Mani N, Rosenstein J. (2002). Angiogenic and astroglial responses to vascular endothelial growth factor administration in adult rat brain. Neuroscience;110(4):589-604.

10. Storkebaum E, Carmeliet P. (2004). VEGF: a critical player in neurodegeneration. The Journal of clinical investigation;113(1):14.

11. Mackenzie F, Ruhrberg C. (2012). Diverse roles for VEGF-A in the nervous system. Development;139(8):1371-80.

12. Forsythe JA, Jiang B-H, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, et al. (1996). Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. Molecular and cellular biology;16(9):4604-13.

13. Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S. (1995). Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells identification of a 5′ enhancer. Circulation research;77(3):638-43.

14. Levy AP, Levy NS, Wegner S, Goldberg MA. (1995). Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia. Journal of Biological Chemistry;270(22):13333-40.

15. Wittko-Schneider IM, Schneider FT, Plate KH. (2013). Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2—two unequal brothers in mind. Cellular and Molecular Life Sciences;70(10):1705-25.

16. Raab S, Plate KH. (2007). Different networks, common growth factors: shared growth factors and receptors of the vascular and the nervous system. Acta neuropathologica;113(6):607-26.

17. de Almodovar CR, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. (2009). Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. Physiological reviews;89(2):607-48.

18. Albuquerque RJ, Hayashi T, Cho WG, Kleinman ME, Dridi S, Takeda A, et al. (2009). Alternatively spliced vascular endothelial growth factor receptor-2 is an essential endogenous inhibitor of lymphatic vessel growth. Nature medicine;15(9):1023-30.

19. Storkebaum E, Lambrechts D, Carmeliet P. (2004). VEGF: once regarded as a specific angiogenic factor, now implicated in neuroprotection. Bioessays;26(9):943-54.

20. Wahl P. (2013). Hormonal and Metabolic Responses to High Intensity Interval Training. J Sports Med Doping Stud;3:e132.

21. Jensen L, Bangsbo J, Hellsten Y. (2004). Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. The Journal of physiology;557(2):571-82.

22. Schantz P, Henriksson J, Jansson E. (1983). Adaptation of human skeletal muscle to endurance training of long duration. Clinical Physiology;3(6):141-51.

23. Ding Y-H, Li J, Zhou Y, Rafols JA, Clark JC, Ding Y. (2006). Cerebral angiogenesis and expression of angiogenic factors in aging rats after

Alzheimer’s disease-therapeutic aspects. Molecular neurobiology;41(2-3):159-71.

35. Bishop NA, Lu T, Yankner BA. (2010). Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. Nature;464(7288):529-35.

36. Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. The Journal of Neuroscience;25(38):8680-5.

37. Uysal N, Tugyan K, Kayatekin BM, Acikgoz O, Bagriyanik HA, Gonenc S, et al. (2005). The effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spatial memory. Neuroscience Letters;383(3):241-5.

38. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. (1979). Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. J Appl physiol;47(6):1278-83.

39. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, MANHAS-DE-CASTRO R, De-Castro CB, Curi R, et al. (2007). A program of moderate physical training for Wistar RATS based on maxinal oxygen consumption. The Journal of Strength & Conditioning Research;21(3):751-6.

40. Edelberg J, Reed M. (2003). Aging and angiogenesis. Frontiers in bioscience: a journal and virtual library;8:s1199-209.

41. 41. Ding Y-H, Luan X-D, Li J, Rafols JA, Guthinkonda M, Diaz FG, et al. (2004). Exercise-induced overexpression of angiogenic factors and reduction of ischemia/reperfusion injury in stroke. Current neurovascular research;1(5):411-20.

exercise. Current Neurovascular Research;3(1):15-23.

24. Ding Y, Li J, Luan X, Ding Y, Lai Q, Rafols J, et al. (2004). Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. Neuroscience;124(3):583-91.

25. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T. (2006). Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology;291(3):H1290-H8.

26. Gee E, Milkiewicz M, Haas TL. (2010). p38 MAPK activity is stimulated by vascular endothelial growth factor receptor 2 activation and is essential for shear stress-induced angiogenesis. Journal of cellular physiology;222(1):120-6.

27. Viboolvorakul S, Patumraj S. (2014). Exercise Training Could Improve Age-Related Changes in Cerebral Blood Flow and Capillary Vascularity through the Upregulation of VEGF and eNOS. BioMed Research International;2014.

28. Godin G, Desharnais R, Valois P, Lepage L, Jobin J, Bradet R. (1994). Differences in perceived barriers to exercise between high and low intenders: observations among different populations. American Journal of Health Promotion;8(4):279-385.

29. Gibala MJ, Ballantyne C. (2007). High-intensity interval training: New insights. Sports Science Exchange;20(2):1-5.

30. Gibala MJ, Little JP, Van Essen M, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, et al. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. The Journal of physiology;575(3):901-11.

31. Helgerud J, Hoydal K, Wang E, Karlsen T, Berg P, Bjerkaas M, et al. (2007). Aerobic High-Intensity Intervals Improve VO~ 2~ m~ a~ x More Than Moderate Training. Medicine and science in sports and exercise;39(4):665.

32. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. (2012). Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. The Journal of physiology;590(5):1077-84.

33. Webster M, Herman M, Kleinman J, Weickert CS. (2006). BDNF and trkB mRNA expression in the hippocampus and temporal cortex during the human lifespan. Gene Expression Patterns;6(8):941-51.

34. Müller WE, Eckert A, Kurz C, Eckert GP, Leuner K. (2010). Mitochondrial dysfunction: common final pathway in brain aging and