گزارش کوتاه

اثر یک دوره شنای تمرینی موش‌های صحرایی باردار بر سطح عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) بافت کلیه زاده‌های موش

دکتر شادمهر میردار*[1]، مریم جراحی[2]، دکتر مهدی هدایتی[3]، دکتر اکبر حاجی‌زاده[4]، دکتر غلامرضا حمیدیان[5]

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر. ۲-کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی. ۳- دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی. ٤- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر. ۵- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز.

چکیده

زمینه و هدف : *کلیه‌ها با بافت غنی از عروق خونی، نقش اساسی در حفظ هموستاز بدن دارند. عامل رشد آندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor: VEGF) در توسعه عروقی برای رشد و تمایز اندام‌ها در دوره زندگی جنینی و دوران رشد پس از تولد ضروری است. این مطالعه به منظور تعیین اثر یک دوره شنای تمرینی موش های باردار بر سطح VEGF بافت کلیه زاده های موش انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه تجربی روی ١٦ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار انجام شد. موش ها پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید و دو هفته آشنایی با تمرین شنا و سپس بارداری به دو گروه شنا و کنترل تقسیم شدند. برنامه تمرینی شنا ۵ روز در هفته و هر روز یک جلسه بود که از روز اول بارداری با زمان ۳۰ دقیقه شروع شد و با افزایش ۵ دقیقه در هر جلسه طی مدت دو هفته به تدریج تا ٦٠ دقیقه در هر جلسه افزایش یافت. این زمان تا آخرین جلسه تمرین شنا، ثابت ماند. نمونه‌گیری از بافت کلیه زاده های موش ها (۸ نوزاد از هر گروه) دو روز پس از تولد انجام گردید. سطح VEGF بافت کلیه با استفاده از روش ELISA تعیین شد.*

یافته ها : *میانگین سطح VEGF بافت کلیه نوزادان گروه مداخله شنا (۱۳۳/۱۳ pg/ml) به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل (٤٨/١٩ pg/ml) افزایش یافت (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری : *تمرین شنای استقامتی موش صحرایی در دوران بارداری باعث افزایش سطح VEGF بافت کلیه زاده‌های آنان می‌گردد.*

کلید واژه‌ها : *عامل رشد اندوتلیال عروقی ، کلیه ، تمرین شنا ، بارداری ، موش*

* نویسنده مسؤول : دکتر شادمهر میردار ، پست الکترونیکی **shadmehr.mirdar@gmail.com**

نشانی : بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن و نمابر ۰۱۱۲-۵۳٤۲۲۰۱

وصول مقاله : ۹۱/٦/۱۱ ، اصلاح نهایی : ۹۳/۱/۱٦ ، پذیرش مقاله : ۹۳/۱/۱۸

Archive of SID

مقدمه

کلیه‌ها غنی از عروق خونی بوده و نقش اساسی در حفظ هموستاز بدن دارند و رشد آنها در دوره بعد از تولد نیز ادامه دارد. عامل رشد آندوتلیال عروقی (VEGF) (Vascular endothelial growth factor) به عنوان عنصر کلیدی در توسعه عروقی برای رشد و تمایز اندام‌ها در دوره زندگی جنینی و دوران رشد پس از تولد ضروری است (۱). آنژیوژنز (Angiogenesis) به معنی شکل‌گیری مویرگ جدید از مویرگ‌های قبلی فرایند پیچیده‌ای است که مستلزم فراهم شدن عوامل آنژیوژنیک مختلف است. از میان عوامل آنژیوژنیک، VEGF به عنوان قوی‌ترین میتوژن مخصوص سلول‌های اندوتلیال شناخته شده است (۲). VEGF نه تنها یک میتوژن است؛ بلکه یک عامل برای بقای عروق خونی تازه شکل گرفته است (۳).

از آنجا که رشد در یک محیط هایپوکسیک اتفاق می‌افتد؛ تعجب‌آور نیست که VEGFبتواند از اجزای مهم پیدایش جنین باشد. نقش VEGF در رشد ساختار عروقی جنینی به اثبات رسیده است. به طوری که غیرفعال بودنVEGF در زندگی بعد از تولد منجر به افزایش مرگ و میر، کاهش رشد بدن و تخریب رشد و نمو اندام‌ها می‌گردد (۴). نقش VEGF در اندام‌زایی کلیه که عضوی غنی از عروق است؛ به‌طور مستقیم به‌وسیله بلوکه کردن فعالیت آن توسط آنتی‌بادی پلی‌کلونال خرگوش در موش‌ها نشان داده شده است. به‌طوری که تولید گلومرول و نفرون با به‌کارگیری آنتی‌بادی

www.SID.ir

تخریب شد و رشد گلومرولی، به‌طور مشخص به علت تخریب تشکیل شبکه مویرگی کاهش یافت (۵). متعاقب تمرین‌های ورزشی، سازگاری‌های متعددی مانند اافزایش چگالی مویرگی تار عضلانی که وابسته به فرایند آنژیوژنز است؛ توسط VEGFرخ می‌دهد (۶). این مطالعه به منظور تعیین اثر یک دوره شنای تمرینی موش های باردار بر سطح عامل رشد اندوتلیال عروقی بافت کلیه زاده‌های موش انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۱۶ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۸۰ گرم در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران طی سال ۱۳۹۰ انجام شد.

حیوانات در اتاق مخصوص با درجه حرارت ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. همچنین به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. پس از یک هفته و آشنایی با محیط جدید و دو هفته آشنایی با تمرین شنا، یک موش نر با دو موش ماده برای جفت‌گیری در قفس قرار داده شدند. ۲۴ ساعت پس از آن، با رویت پلاک واژینال اولین روز بارداری مشخص شد. سپس موش‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه هشت‌تایی تمرین شنا و کنترل تقسیم شدند. نگهداری از حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد.

برنامه شنای تمرینی از اولین روز بارداری درگروه تمرین ۵ روز در هفته و هر روز یک جلسه انجام شد که با زمان ۳۰ دقیقه شروع شد و با افزایش ۵ دقیقه در هر جلسه در طی مدت دو هفته به تدریج تا ۶۰ دقیقه در هر جلسه افزایش یافت. این زمان تا آخرین جلسه تمرین شنا ثابت ماند. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام شد.

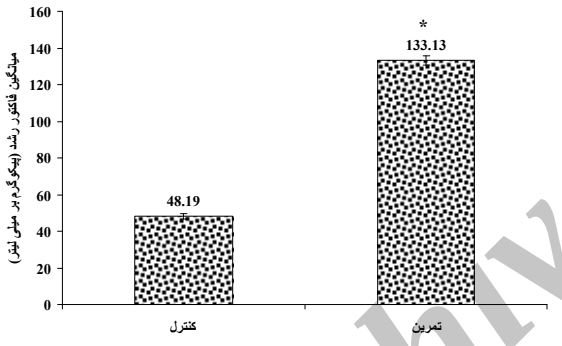
از هر مادر یک نوزاد دو روزه به طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی، نمونه‌گیری از بافت کلیه انجام شد. بافت کلیه با استفاده از ترازوی Sartorius:BI 1500 با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شد و در میکروتیوپ های ویژه قرار داده شد و بلافاصله در مایع نیتروژن قرار گرفت و تا زمان هموژنیزه شدن در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سطوح VEGF بافت کلیه با استفاده از کیت ELISA ویژه عامل رشد آندوتلیال عروقی موش صحرایی به شماره کاتالوگ CSB-E04757R ساخت شرکت Cusabio Biotech کشور ژاپن و به روش آنزیم لینک ایمنواسی (ELISA) و با استفاده از دستگاه الایز اریدر مدل SunRise ساخت شرکت Tecan کشور اتریش تعیین گردید. برای این منظور، ابتدا بافت‌ها پودر شدند و سپس در محلول بافر هموژنیزه (بافر فسفات با pH=۷/۴ و غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار حاوی 150KIU/mL آپروتینین به عنوان آنتی‌پروتئاز) به مدت ۱۰ دقیقه و سرعت ۸۰۰۰g سانتریفیوژ شد. محلول حاصله برای سنجش شاخص مورد نظر با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل گردید.

داده‌ها با استفاده نرم‌افزار آماری SPSS-21 و آزمون‌های کلموگروف –اسمیرونف و تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

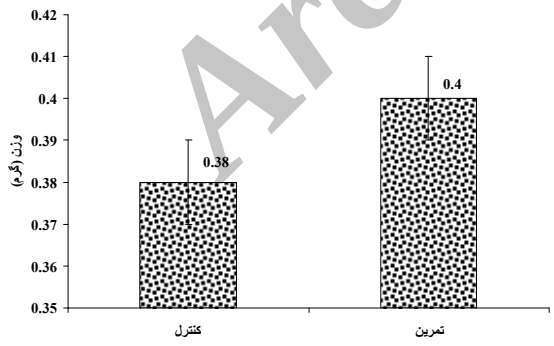
یافته‌ها

میانگین سطح VEGF بافت کلیه نوزادان گروه مداخله شنا (۱۳۳/۱۳ pg/ml) به صورت معنی داری در مقایسه با گروه کنترل (۴۸/۱۹ pg/ml) افزایش یافت (P<۰/۰۰۱) (نمودار یک).

وزن هنگام تولد نوزادان گروه شنا در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۵/۹ درصد افزایش غیرمعنی‌دار یافت. همچنین وزن بافت تر کلیه نوزادان گروه شنا در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۵/۲ درصد افزایش غیرمعنی‌داری یافت (نمودار ۲).



نمودار ۱ : میانگین سطح عامل رشد اندوتلیال عروقی (پیکوگرم بر میلی‌لیتر) بافت کلیه نوزادان موش صحرایی
** P<۰/۰۱*



نمودار ۲ : میانگین میانگین وزن (گرم) بافت کلیه راست نوزادان موش صحرایی

بحث

در این مطالعه یک دوره برنامه تمرینی شنا طی دوران بارداری سبب افزایش معنی دار میانگین سطح VEGF بافت کلیه نوزادان گروه شنا در مقایسه با گروه کنترل گردید.

www.SID.ir
Archive of SID

پژوهشگران عامل رشد اندوتلیال عروقی را عامل کلیدی رگ‌زایی فیزیولوژیک در دوران جنینی و نمو اسکلتی گزارش کرده‌اند (۷). Da Silva و همکاران برای اولین بار تنظیم افزایشی بیان عامل رشد اندوتلیال عروقی ناشی از تمرینات هوازی را وابسته به حجم تمرینات دانسته‌اند (۷)؛ اما این نگرانی نیز وجود دارد که کاهش آنژیژنز با تحریک فرآیند هیپوپلازی اندام‌های حیاتی مانند ریه ممکن است به فرآیند آلوئولی شدن آسیب وارد نماید (۸). از سوی دیگر بیان VEGF کلیه در پودوسیت‌های گلومرولار و در سلول‌های اپیتلیال توبولی بسیار برجسته است. هرچند گیرنده‌های VEGF عمدتاً در سلول‌های اندوتلیال پرگلومرولار، گلومرولار و پری‌توبولار یافت شده است. با این حال نقش VEGF در فیزیولوژی طبیعی کلیه اساساً ناشناخته است. بر همین اساس فقدان آشکار اثرات مهاری در نمونه‌های حیوانی موجب محدودیت عملکرد هنگام هموستاز معرفی شده است. هرچند نقش آن در تشکیل و حفظ روزنه‌های اندوتلیال عروق گلومرولی پیشنهاد می‌شود (۹).

کاهش سطوح اکسیژن سبب اختلال در عملکرد دستگاه‌هایی می‌شود که به حضور اکسیژن وابسته‌اند و اگر هایپوکسی خیلی شدید باشد؛ می‌تواند به مرگ سلول منجر شود و وجود سازوکارهایی حفاظتی در مقابل هایپوکسی و ایجاد سازگاری جای تعجب ندارد (۱۰).

برای ایجاد سازگاری ها در اثر تمرینات استقامتی، بایستی عوامل مختلفی به‌صورت موضعی و سیستمی باهم فعالیت کنند. به‌نظر می‌رسد هیپوکسی موضعی ناشی از تمرینات استقامتی از ابتدایی‌ترین محرک‌ها برای ایجاد سازگاری‌هایی مثل افزایش چگالی مویرگی و ظرفیت اکسیداتیو است (۱۱).

ژن VEGF تحت شرایط هایپوکسی، به خصوص از طریق HIF-1α افزایش می‌یابد (۱۰). HIF-1α می‌تواند VEGFرا تا ۳۰ برابر طی چند دقیقه افزایش دهد (۱۲).

در مطالعه Kraus و همکاران نقش مثبت تمرینات ورزشی استقامتی در افزایش و توسعه عروق عضلانی و ارتباط بین توسعه عروق عضلانی و آنژیوژنز ناشی از تمرین با افزایش میزان فعالیت VEGF در افراد کم تحرک مورد تایید قرار گرفت. همچنین افزایش VEGF تنها در تمرینات استقامتی دیده شد و در تمرینات کوتاه مدت مشاهده نگردید (۱۳).

در مطالعه Wood و همکاران افزایش mRNA در VEGF افراد سالم با انجام تمرینات طولانی، مشاهده شد. این افزایش زمانی رخ داد که ۳۰ درصد افزایش بار فراهم شده بود (۱۴).

در مطالعه Gustafsson و همکاران که روی اثر تمرین ورزشی باز کردن زانو بر آنژیوژنز و VEGF در عضلات اسکلتی انجام شد؛ ۵ هفته تمرین موجب افزایش میزان پروتئین VEGF و همچنین گیرنده‌های آنها در پای افراد تمرین دیده گردید. این تغییرات با افزایش نسبت آنژیوتانسیون ۲ به آنژیوتانسیون ۱ و بیان VEGF همراه بود. تمرین سبب تحریک وضعیت مناسب در سلول‌های اندوتلیال گردید (۱۵). تکرار تمرینات استقامتی موجب تغییر در سیستم آنژیوپویتین می‌شود که سبب ایجاد وضعیت جدید برای افزایش آنژیوژنز لازم بوده و بدون ضرر است. افزایش در سطوح پایه VEGF با افزایش انتقال mRNA که به وسیله ورزش تحریک می‌شود؛ مرتبط است (۱۵).

در مطالعه Brixius و همکاران اثر فعالیت‌های استقامتی بر کاهش عوامل ضدآنژیوژنیک در مردان ۵۰ تا ۶۰ ساله نشان داد که ۶ ماه تمرین استقامتی، اثر معنی داری بر VEGF سرم نداشت (۱۶). این یافته با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. این تفاوت ممکن است با مدت زمان تمرین مرتبط باشد که ۶ ماه تمرین استقامتی موجب تطابق شده است و اثری بر سطح VEGF سرم نداشته است.

با توجه به برتری وزنی گروه تمرینی شنا در مقایسه با گروه کنترل، این یافته با نتایج برخی محققان مبنی بر اثرات محدود کننده تمرینات ورزشی بر رشد جنین در رحم مادر که ممکن است منجر به کاهش طول مدت بارداری و تولد نوزادان با وزن پایین شود؛ همسو نیست (۱۷). این امر احتمالاً ناشی از ویژگی تمرین شنا و نیز وابسته به شدت آن باشد. به‌طور کلی با توجه به افزایش سطوح VEGF بافت کلیه نوزادان و افزایش وزن نوزادان در اثر یک دوره سه هفته‌ای تمرینات منظم شنای موش‌های مادر در دوران بارداری و همچنین اثرات VEGFدر مراحل رشد جنینی؛ می توان پیشنهاد کرد که شنای استقامتی منظم در دوران بارداری می تواند به عنوان فعالیتی مناسب در جهت کمک به رشد و نمو جنین مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین شنای استقامتی موش صحرایی در دوران بارداری باعث افزایش سطح VEGF بافت کلیه زاده‌های آنان می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه براساس برنامه حمایت از توسعه فن‌آوری‌های راهبردی معاونت علمی و فن آوری ریاست جمهوری و قرارداد شماره ۳۷۹/د/۳۳ مورخ ۱۳۸۹/۳۰ معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام گردید. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب سپاس خود را از آن نهاد محترم اعلام می‌دارند.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Dai J, Rabie AB. VEGF: an essential mediator of both angiogenesis and endochondral ossification. J Dent Res. 2007 Oct; 86(10):937-50.

2. Islami D, Bischof P, Chardonnens D. Modulation of placental vascular endothelial growth factor by leptin and hCG. Mol Hum Reprod. 2003 Jul;9(7):395-8.

3. Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM, Kowalski J, Keller GA, Rangell L, et al. VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. Development. 1999 Mar;126(6):1149-59.

4. Thébaud B. Angiogenesis in lung development, injury and repair: implications for chronic lung disease of prematurity. Neonatology. 2007;91(4):291-7.

5. Kitamoto Y, Tokunaga H, Tomita K. Vascular endothelial growth factor is an essential molecule for mouse kidney development: glomerulogenesis and nephrogenesis. J Clin Invest. 1997 May;99(10):2351-7.

6. Prior BM, Yang HT, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? J Appl Physiol (1985). 2004 Sep; 97(3):1119-28.

7. DA Silva ND Jr, Fernandes T, Soci UP, Monteiro AW, Phillips MI, DE Oliveira EM. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA-126 expression and angiogenesis. Med Sci Sports Exerc. 2012 Aug;44(8):1453-62.

8. Jakkula M, Le Cras TD, Gebb S, Hirth KP, Tuder RM, Voelkel NF, et al. Inhibition of angiogenesis decreases alveolarization in the developing rat lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2000 Sep; 279(3):L600-7.

9. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, De Vriese AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. Kidney Int. 2004 Jun; 65(6):2003-17.

10. Haddad JJ, Harb HL. Cytokines and the regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha. Int Immunopharmacol. 2005 Mar; 5(3):461-83.

11. Rundqvist H. Skeletal muscle HIF-1 and exercise. Thesis for doctoral degree. Stockholm: Karolinska Institutet. 2008.

12. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. Nat Med. 2003 Jun;9(6):677-84.

13. Kraus RM, Stallings HW 3rd, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. J Appl Physiol (1985). 2004 Apr; 96(4):1445-50.

14. Wood RE, Sanderson BE, Askew CD, Walker PJ, Green S, Stewart IB. Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. Clin Sci (Lond). 2006 Dec;111(6):401-9.

15. Gustafsson T, Rundqvist H, Norrbom J, Rullman E, Jansson E, Sundberg CJ. The influence of physical training on the angiopoietin and VEGF-A systems in human skeletal muscle. J Appl Physiol (1985). 2007 Sep;103(3):1012-20.

16. Brixius K, Schoenberger S, Ladage D, Knigge H, Falkowski G, Hellmich M, et al. Long-term endurance exercise decreases antiangiogenic endostatin signalling in overweight men aged 50-60 years. Br J Sports Med. 2008 Feb;42(2):126-9.

17. ACOG Committee Obstetric Practice. ACOG Committee opinion. Number 267, January 2002: exercise during pregnancy and the postpartum period. Obstet Gynecol. 2002 Jan;99(1):171-3.

Archive of SID

www.SID.ir

Short Communication

Effect of swimming during pregnancy on vascular endothelial growth factor level of neonatal rat kidney tissue

Mirdar Sh (Ph.D)*[1], Jarrahi M (M.Sc)[2]
Hedayati M (Ph.D)[3], Hajizade A (Ph.D)[4], Hamidian Gh (Ph.D)[5]

[1]Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. [2]M.Sc in Exercise Physiology. [3]Associate Professor, Research Institute for Endocrine Scinces, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [4]Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. [5]Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Abstract

Background and Objective: The kidney has a key role in homeostatic regulation. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is essential regulator of stimulatory and inhibitory processes for neonatal, post-natal endothelial cell differentiation. This study was done to determine the effect of maternal swimming during pregnancy on VEGF level of kidney in rat pups.

Methods: In this experimental study, sixteen Wistar rat dams were allocated into interventional swimming and control groups. In the first day of pregnancy, in interventional group, swimming was performed for 30 minutes a day and 5 minutes every day was added until the time of training gradually reached to one hour per workout. Dams swimming endurance training were performed in 5 days per week for three weeks. Pups' kidneys were removed two days after birth and kindney tissue VEGF level was determined using ELISA method.

Results: Kidney tissue VEGF level in interventional swimming group (133.13 pg/ml) was significantly increased in compared to controls (48.19 pg/ml) ($P<0.05$).

Conclusion: Swimming endurance training increases the pups' kidney VEGF level.

Keywords: Vascular endothelial growth factor, Swimming, Pregnancy, Kidney, Rat

*** Corresponding Author: Mirdar Sh (Ph.D), E-mail: shadmehr.mirdar@gmail.com**

Received 1 Sep 2012 **Revised** 5 Apr 2014 **Accepted** 7 Apr 2014

Archive of SID

This paper should be cited as: Mirdar Sh, Jarrahi M, Hedayati M, Hajizade A, Hamidian Gh. [Effect of swimming during pregnancy on vascular endothelial growth factor level of neonatal rat kidney tissue]. J Gorgan Uni Med Sci. 2015; 16(4): 106-110. [Article in Persian]

www.SID.ir