

## *The Effect of 12 Weeks of Submaximal Swimming Exercise on Resting Levels of VEGF in Rats Exposed to Nicotine-Derived Nitrosamine Ketone*

Ali Barzegari<sup>1</sup>, Shadmehr Mirdar<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Physical Education & Sport Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

\*Corresponding Author:  
**Shadmehr Mirdar**,  
Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

Email:  
sh.mirdar@umz.ac.ir

Received: 15 Nov, 2016

Accepted: 20 Dec, 2016

### **Abstract**

**Background and Objectives:** Tobacco contains carcinogens, such as nitrosamine ketone (NNK), which play a role in induction of lung cancer through stimulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. The aim of this study was to investigate changes in resting levels of VEGF in lung tissues of rats exposed to nicotine-derived NNK following 12 weeks of aerobic submaximal swimming exercise.

**Methods:** In this experimental study, 46 mature Wistar rats, were randomly divided into five groups, including: exercise, exercise + NNK, NNK, solvent, and control. The groups induced by NNK, received NNK subcutaneously once per week at a rate of 12.5mg/kg body weight for 12 weeks. The training groups performed submaximal swimming exercise for 12 weeks. The levels of VEGF in homogenized lung tissue were measured by ELISA. Data analysis was performed using one-way ANOVA and Tukey's tests at a significance level of  $p \leq 0.05$ .

**Results:** In this study, a period of swimming training program significantly decreased the levels of VEGF in lung tissue compared to control ( $p=0.039$ ) and NNK ( $p \leq 0.001$ ) groups. A significant reduction was also observed in the VEGF level in exercise + NNK group compared to NNK group ( $p \leq 0.001$ ). Furthermore, VEGF levels significantly increased in NNK group compared to exercise ( $p \leq 0.001$ ), exercise+NNK ( $p \leq 0.001$ ), and solvents ( $p \leq 0.001$ ) groups.

**Conclusion:** Overall, it can be concluded that regular submaximal aerobic exercise plays an effective role in the inhibition of NNK-induced lung inflammatory effects through reduction of VEGF activity.

**Keywords:** Swimming; Vascular endothelial growth factor A; Nitrosamine; Ketones; Nicotine.

## تأثیر ۱۲ هفته تمرین ورزشی شنا زیربیشینه بر سطوح استراحتی VEGF رت‌های در معرض نیتروز آمین کتون مشتق از تنباکو

علی بزرگری<sup>۱</sup>، شادمهر میردار<sup>۲\*</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** دخانیات حاوی مواد سرطان‌زا، از جمله NNK با تحریک بیان VEGF در القای سرطان ریه نقش دارند. هدف مطالعه حاضر بررسی تغییرات سطوح استراحتی VEGF بافت ریه رت‌های در معرض نیتروز آمین کتون مشتق از تنباکو در پی ۱۲ هفته تمرین هوازی شنا زیربیشینه بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۴۶ سر موش صحرائی بالغ نژاد ویستار به صورت تصادفی به پنج گروه شامل: گروه تمرین، تمرین+NNK، NNK، حلال و کنترل تقسیم شدند. گروه‌های تحت القای NNK به صورت زیرجلدی، یک‌بار در هفته و به میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در طی ۱۲ هفته، NNK دریافت کردند. گروه‌های تمرین نیز به مدت ۱۲ هفته به شنا زیربیشینه پرداختند. مقادیر سطوح VEGF در بافت هموژنیزه شده ریه با روش ELISA اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و توکی در سطح معنی‌داری،  $p \leq 0/05$  تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، یک دوره برنامه تمرینی شنا سبب کاهش معنی‌دار سطوح VEGF بافت ریه نسبت به گروه‌های کنترل ( $p=0/039$ ) و NNK ( $p \leq 0/001$ ) شد. همچنین در سطوح VEGF گروه تمرین+NNK نسبت به گروه NNK ( $p \leq 0/001$ )، کاهش معنی‌داری مشاهده گردید. علاوه بر این، در گروه NNK، سطوح VEGF نسبت به گروه‌های تمرین ( $p \leq 0/001$ )، تمرین+NNK ( $p \leq 0/001$ ) و حلال ( $p \leq 0/001$ )، افزایش معنی‌داری داشت.

**نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت تمرین ورزشی منظم هوازی زیربیشینه، در مهار آثار التهابی ریه ناشی از القای NNK با کاهش میزان فعالیت VEGF، نقش مؤثری دارد.

**کلید واژه‌ها:** شنا؛ فاکتور رشد اندوتلیال عروقی آ؛ نیتروز آمین؛ کتون‌ها؛ نیکوتین.

گروه علمی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

**شادمهر میردار**، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

sh.mirdar@umz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۹

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Barzegari A, Mirdar Sh. The effect of 12 weeks of submaximal swimming exercise on resting levels of vegf in rats exposed to nicotine-derived nitrosamine ketone. Qom Univ Med Sci J 2018;11(12):25-34. [Full Text in Persian]

## مقدمه

مصرف دخانیات با انواع مختلف سرطان‌ها، از قبیل سرطان سیستم تنفسی مرتبط است. نتایج مطالعات نشان می‌دهد ۹۰٪ مرگ‌ومیر ناشی از سرطان ریه با مصرف دخانیات ارتباط دارد (۱). دخانیات حاوی مواد سرطان‌زا، از جمله نیتروزآمین مشتق‌شده از نیکوتین (Nicotine Derived Nitrosamine Ketone, NNK) بوده که با ایجاد نقص و جهش در DNA، همچنین افزایش رشد تومور از طریق اثرات مرتبط با گیرنده، در القای سرطان ریه نقش دارند (۲). NNK با فعال کردن گیرنده‌های استیل‌کولین نیکوتینی و گیرنده‌های آدرنژیک بتا در پیشرفت تومور مؤثر بوده و موجب تنظیم منفی مسیرهای انتقال سیگنال و در نهایت، تسهیل رشد تومور می‌شود (۳،۴). Dong و همکاران در تحقیق خود اظهار داشتند قرارگیری در معرض NNK منجر به ابتلا سرطان ریه می‌گردد (۵). در این راستا، التهاب و عوامل مرتبط با افزایش التهاب نیز نقش کلیدی در شیوع و گسترش تومورهای سرطانی، آئریوژنز و مقاومت در مقابل درمان دارند (۴). از سوی دیگر، رگزایی درون تومور، اساس رشد و تکثیر آن بوده و در این راستا، تعادل سیتوکین‌های مرتبط با رگزایی برای رشد تومور بسیار حایز اهمیت است.

از سیتوکین‌های مهم رگزایی می‌توان به فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) اشاره کرد. VEGF خانواده‌ای از پروتئین‌ها بوده که نقش محوری در تنظیم رگزایی تومور دارد. آزادسازی VEGF، رشد تومور را تسهیل کرده (۶) و موجب تحریک رشد سلولی، توسعه عروق تومور و در نتیجه منجر به افزایش نفوذپذیری عروقی می‌شود (۳) که به میزان غیرطبیعی در انواع مختلف سرطان، مانند سرطان ریه افزایش می‌یابد (۷). همچنین VEGF نقش مهمی در پیشرفت تومور و ادامه عدم پاسخ‌دهی سیستم ایمنی به تومورهای پیشرفته دارد؛ بنابراین، نه تنها به‌عنوان فاکتور افزایش‌دهنده رشد تومور، بلکه به‌عنوان یک عامل سرکوب‌کننده پاسخ ایمنی ضد تومور نیز عمل می‌کند (۸). Wada و همکاران در مطالعه خود نشان دادند VEGF در محیط‌های توموری می‌تواند به‌عنوان یک مانع در برابر پاسخ ایمنی ضد تومور عمل کند (۸). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد قرارگیری در معرض NNK می‌تواند منجر به تحریک بیان و

افزایش سطوح VEGF گردد. لذا با تحریک آئریوژنز، میزان التهاب و شیوع بیماری‌های التهابی از قبیل سرطان گسترش می‌یابد (۹).

با توجه به اینکه سرطان ریه از جمله شایع‌ترین سرطان‌های منجر به مرگ‌ومیر به شمار می‌رود؛ با این حال از جمله بیماری‌هایی است که اگر زود تشخیص داده شود قابل‌درمان است (۱۰). تحقیقات اخیر نشان می‌دهد تغییر مولکول‌های کلیدی یا مسیرهای سیگنالی، از طریق تأثیر بر تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلولی می‌تواند بر میزان آسیب اکسایشی، التهاب و در نتیجه وقوع و پیشرفت سرطان ریه مؤثر باشد (۱۱). Farhat و همکاران در مطالعه خود بیان داشتند جهت جلوگیری از پیشرفت سرطان ریه، باید راهکارهایی جهت کاهش سطوح VEGF پیدا کرد (۱۲). بنابراین مهار بیان و سیگنالینگ VEGF در تومورها، یک استراتژی درمانی امیدوارکننده است (۱۳). در این راستا، عوامل قابل‌اصلاحی همچون فعالیت بدنی وجود دارند که به پیشگیری و درمان سرطان ریه از طریق تنظیم و تعدیل پروسه التهابی کمک می‌کنند (۳)، اما اینکه چه نوع فعالیت ورزشی و از طریق چه مکانیسم‌های سلولی و مولکولی می‌تواند بهترین اثربخشی را داشته باشد هنوز به‌طور کامل و دقیق شناخته نشده است. مطالعات نشان می‌دهد تمرین هوازی با شدت پایین می‌تواند با ایجاد مکانیسم حفاظتی منجر به کاهش بیان سایتوکین‌های التهابی، سطح استرس اکسیداتیو در بافت ریه، التهاب سیستمیک و در نتیجه بهبود پاسخ‌های ایمنی گردد (۱۴، ۱۵). از میان انواع تمرین‌های هوازی، تمرین هوازی شنا‌ی زیربیشینه از جمله تمریناتی است که در شرایط مختلف فیزیولوژیک، ایمن و قابل‌استفاده بوده و به دلیل عدم تحمل وزن در آب نسبت به ورزش‌های غیرآبی در اکثر مطالعات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و واکنش‌های مولکولی به کار می‌رود (۱۶، ۱۷). Demarzo و همکاران به اثر ضدالتهابی و ضدتکثیر سلولی تمرین ورزشی شنا‌ی طولانی‌مدت با شدت متوسط در سرطان کولون اشاره کردند (۱۸). در تحقیق Colombo و همکاران گزارش گردید ۵ هفته تمرین ورزشی هوازی دویدن روی نوارگردان، سطح VEGF بافت ریه را در موش‌ها افزایش می‌دهد (۱۹)؛ درحالی‌که در مطالعه Krenc و همکاران بعد از یک دوره تمرین ورزشی هوازی درازمدت، کاهش سطوح VEGF

به صورت زیرجلدی یک بار در هفته و به میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در ۱۲ هفته انجام شد. گروه حلال نیز آب مقطر دریافت کردند (۲۴،۲۳).

رت‌های گروه‌های تمرین +NNK نیز قبل از شروع پروتکل اصلی، به مدت یک هفته (۵ روز) هر بار به مدت ۲۰ دقیقه به منظور آشنایی با آب، کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، در داخل استخر آب قرار گرفتند، سپس با تزریق NNK به رت‌ها در گروه‌های تمرینی، یک بار در هفته تا پایان دوره تحقیق در یک مخزن آب (به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی متر با درجه حرارت ۳۰- ۳۲ درجه سانتیگراد) در طی ۱۲ هفته به شنا پرداختند. مدت زمان تمرین در آب، در روز اول اجرای پروتکل، ۲۵ دقیقه بود که با افزایش ۵ دقیقه در هفته، این مدت در هفته هشتم به ۶۰ دقیقه رسید، سپس این زمان تا پایان دوره تمرین به مدت ۱۲ هفته تثبیت شد و ادامه یافت. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت هنگام شنا انجام می‌شد. قدرت آب برحسب لیتر در دقیقه از ۴ لیتر در هفته اول به ۱۰ لیتر در هفته یازدهم افزایش یافت که این مقدار در هفته آخر تثبیت گردید؛ بدین گونه که به ازای هر ۲ هفته تا ۸ هفته و از هفته هشتم تا هفته یازدهم هر هفته، یک لیتر در دقیقه به قدرت آب اضافه می‌شد و در نهایت، در هفته یازدهم و دوازدهم قدرت آب، ثابت و به ۱۰ لیتر در دقیقه می‌رسید. قابل ذکر است به ازای هر هفته نیز زمان تمرین شنا افزایش می‌یافت؛ بدین گونه که از هفته اول تا هفته هشتم، هر هفته ۵ دقیقه زمان تمرین افزایش می‌یافت؛ به طوری که از ۲۵ دقیقه در هفته اول به ۶۰ دقیقه در هفته هشتم می‌رسید و از هفته هشتم تا هفته دوازدهم نیز زمان تمرین در همان ۶۰ دقیقه ثابت می‌ماند (جدول شماره ۱) (۲۵).

گزارش شد (۲۰). اگرچه مکانیسم‌های احتمالی نیز پیشنهاد شده است، اما نتایج مطالعات در مورد ارتباط بین فعالیت بدنی و میزان VEGF متناقض است (۲۱). بنابراین با توجه به اهمیت پیشگیری از عوامل بروز بیماری سرطان ریه و نیز فقدان اطلاعات لازم و مکفی در خصوص تأثیر تمرین‌های ورزشی بر سطوح VEGF بافت ریه در معرض NNK، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر یک دوره تمرین شنای زیربیشینه بر نشانگر زیستی VEGF در رت‌های صحرائی در معرض NNK انجام گرفت.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در آزمایشگاه گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد، تعداد ۴۶ سر موش صحرائی بالغ نژاد ویستار (با میانگین وزنی  $27/93 \pm 105/84$  گرم) از انستیتو پاستور خریداری و پس از ۲ هفته آشنایی با محیط و پروتکل پژوهش، به طور تصادفی به ۵ گروه شامل: گروه تمرین (۱۰ سر)، NNK (۱۰ سر)، تمرین + NNK (۱۰ سر)، حلال (۱۰ سر) و کنترل (۶ سر) تقسیم شدند. حیوانات در محیطی با شرایط استاندارد (میانگین دمای  $22 \pm 1/4$  درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۵٪ و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت) در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد (۲۲). حیوانات دسترسی آزاد به غذای پلت و آب داشتند. غذای مصرفی حیوانات با توجه به وزن کشتی هفتگی، به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن در نظر گرفته شد. تزریق NNK

جدول شماره ۱: برنامه تمرین ورزشی شنای زیربیشینه

هفته	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
زمان (دقیقه)	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
قدرت (لیتر در دقیقه)	۴	۴	۵	۵	۶	۶	۷	۷	۸	۹	۱۰	۱۰

پس از شکافتن قفسه سینه، بافت ریه از ناحیه ناف جدا و با استفاده از ترازوی سارتوریوس بی آل ۱۵۰۰ (با دقت ۰/۰۰۱) وزن شده و در تیوب‌های مخصوص در مایع نیتروژن قرار گرفت، سپس برای نگهداری، به فریزر دمای ۷۰- درجه سانتیگراد منتقل گردید.

جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه برداری از حیوانات، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی شنا انجام گرفت؛ بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۵۰-۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش، سپس کشته شدند.

داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو - ویلک (جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها)، آزمون لئون (برای تعیین تجانس واریانس)، آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی در سطح معنی داری،  $p \leq 0/05$  آنالیز شدند. برای انجام تمامی امور آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و برای رسم نمودار از نرم افزار EXCEL استفاده شد.

### یافته‌ها

جدول شماره ۲، میانگین  $\pm$  انحراف معیار وزن موش‌های گروه‌های مختلف تحقیق را نشان می‌دهد. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معنی داری در وزن موش‌های گروه‌های مختلف تحقیق وجود ندارد ( $p \geq 0/05$ ).

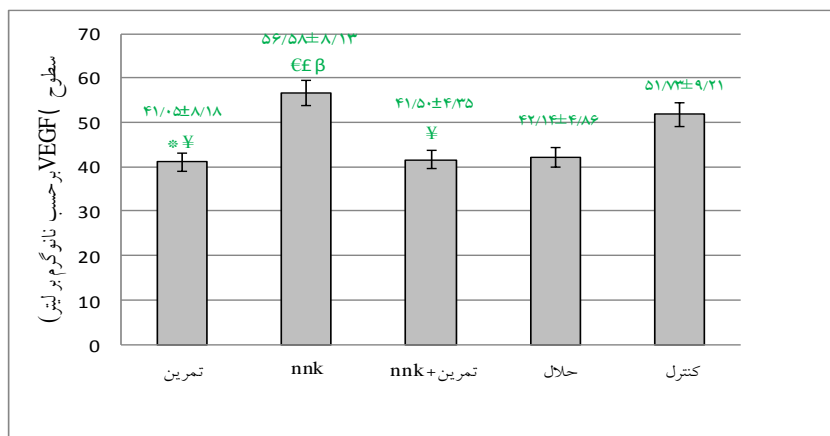
جدول شماره ۲: میانگین  $\pm$  انحراف معیار وزن در گروه‌های مختلف تحقیق

گروه	کنترل	حلال	تمرین+ NNK	NNK	تمرین
میانگین وزنی (گرم) $\pm$ انحراف معیار	۲۱۰/۵ $\pm$ ۱۷/۱۱	۲۰۸/۸ $\pm$ ۲۴/۲۳	۲۷۴/۳ $\pm$ ۶۱/۸۸	۲۸۵/۶ $\pm$ ۷۰/۴۸	۲۶۲/۸ $\pm$ ۵۴/۳۸

همچنین مشاهده گردید مقادیر VEGF بافت ریه در گروه NNK، به میزان ۳۴/۲۷٪ نسبت به گروه حلال ( $p \leq 0/001$ )، ۳۶/۳۴٪ نسبت به گروه تمرین+ NNK ( $p \leq 0/001$ ) و ۳۷/۸۳٪ نسبت به گروه تمرین، افزایش معنی داری داشته است ( $p \leq 0/001$ ). علاوه بر این، در گروه مداخله، تمرین به همراه القای NNK موجب کاهش معنی دار VEGF بافت ریه نسبت به گروه NNK، به میزان ۲۶/۶۵٪ شد ( $p \leq 0/001$ )؛ درحالی که کاهش آن نسبت به گروه حلال معنی دار نبود ( $p = 1/000$ ) (نمودار).

به منظور تهیه سرم و انجام تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی، ۱۰۰ میلی گرم از بافت ریه با ۱ میلی لیتر بافر PBS ۱۰۰ میلی مولار، هموژنیزه و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و محلول رویی به دست آمده برای سنجش شاخص‌های مورد نظر، پس از جداسازی با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه انتقال یافت. برای سنجش مقادیر شاخص‌های اندازه گیری شده در بافت ریه، از روش ELISA و برای سنجش سطوح VEGF از کیت Rat VEGF Eliza Kit (ساخت کشور چین با حساسیت ۲/۱۱ نانوگرم برلیتر)، براساس دستورالعمل کیت استفاده گردید. بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌های بافتی، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل: میانگین  $\pm$  انحراف معیار و آمار استنباطی استفاده شد.

براساس نتایج آنالیز واریانس یک طرفه، بین مقادیر سطوح VEGF بافت ریه در گروه‌های تحقیق، تفاوت آماری معنی داری وجود داشت ( $p \leq 0/001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد ۱۲ هفته تمرین شنای زیربیشینه موجب کاهش معنی دار سطوح VEGF بافت ریه نسبت به گروه کنترل (۲۰/۶۴٪) و نسبت به گروه NNK (۲۷/۴۴٪) می‌شود (به ترتیب:  $p = 0/039$  و  $p \leq 0/001$ )؛ درحالی که نسبت به گروه‌های حلال و تمرین+ NNK، تفاوت معنی داری نداشت (به ترتیب:  $p = 0/997$ ،  $p = 1/000$ ).



نمودار: تغییرات مقادیر شاخص ( VEGF بر حسب نانوگرم بر لیتر) در بافت ریه گروه‌های مختلف تحقیق.

\* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل؛ # نشانه تغییر معنی دار نسبت به گروه حلال؛ ¥ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه NNK؛

B نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین؛ £ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه حلال و € نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه NNK + تمرین می‌باشد.

## بحث

در تحقیق حاضر تأثیر یک دوره برنامه تمرین شنای زیربیشینه بر سطوح استراحتی VEGF رت‌ها که در معرض نیتروزآمین کتون مشتق از تنباکو قرار گرفته بودند، بررسی شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد یک دوره برنامه تمرینی شنا سبب کاهش معنی‌دار میانگین سطوح VEGF بافت ریه رت‌های گروه تمرینی شنا در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. همراستا با نتایج تحقیق حاضر، Krenco و همکاران در مطالعه خود، کاهش سطوح VEGF بعد از یک دوره تمرین ورزشی هوازی درازمدت را گزارش کردند (۲۰). اتصال پروتئین VEGF به گیرنده‌های تیروزین کینازی موجود بر سلول‌های اندوتلیال می‌تواند موجب کاهش سطوح آن شود (۲۶). Ribatti و همکاران در مطالعه خود اظهار داشتند تغییرات سطوح VEGF تحت تأثیر هورمون سوماتوستاتین است. این هورمون که در عدم تکثیر و رشد سلول، همچنین آنژیوژنز نقش مهمی را ایفا می‌کند، دارای گیرنده‌های مختلفی در اکثر بافت‌های بدن مانند sst2-R می‌باشد.

اتصال سوماتوستاتین به گیرنده sst2-R، مانع از تولید VEGF می‌شود (۲۷)؛ بنابراین به نظر می‌رسد افزایش سطوح سوماتوستاتین پس از تمرین ورزشی درازمدت می‌تواند منجر به کاهش سطوح VEGF گردد (۲۸). Czarkowska و همکاران در مطالعه خود بیان کردند افزایش چگالی مویرگی در پاسخ به تمرینات ورزشی، منجر به فراهم کردن اکسیژن کافی در بافت‌ها می‌شود و این مورد باعث فعال‌سازی فاکتور VHL

(Von Hippel-Lindau Tumor Suppressor) که غیرفعال‌کننده HIF-1 است، می‌گردد. با غیرفعال شدن HIF-1، بیان VEGF کاهش می‌یابد (۲۹). نتایج برخی از مطالعات، نشان‌دهنده اثرات تمرینات ورزشی بر افزایش سطوح VEGF بوده که با نتایج تحقیق حاضر در تناقض است (۳۰) (۱۹-۳۲). در مطالعه میردار و همکاران نیز پس از ۳ هفته تمرین شنا در موش‌های بارداری، تغییر معنی‌داری در سطح VEGF ریه مشاهده نشد (۳۱). میردار و همکاران در مطالعه دیگر خود اظهار داشتند یک دوره تمرین شنا منجر به افزایش سطح VEGF بافت کلیه نوزادان موش‌های نژاد ویستار می‌شود (۳۲). همچنین پس از یک دوره تمرین ورزشی حاد، افزایش بیان VEGF استراحتی در عضله اسکلتی

گزارش شده است (۳۳). از دلایل احتمالی مغایرت یافته تحقیق حاضر با نتایج مطالعات دیگر می‌توان به ماهیت و مدت تمرین اشاره کرد؛ به طوری که Colombo و همکاران در مطالعه خود افزایش سطوح VEGF بافت ریه در موش‌های مبتلا به پرفشارخونی را متعاقب ۵ هفته تمرین ورزشی هوازی دویدن روی نوارگردان گزارش کردند (۱۹). اگرچه در مطالعه میردار و همکاران ماهیت تمرین شنا بود، ولی مدت تمرین موش‌ها، ۳ هفته در نظر گرفته شد که به نظر می‌رسد تمرینات کوتاه‌مدت ممکن است عدم تغییر سطوح VEGF را توجیه کند (۳۱). همچنین از علل دیگر مغایرت یافته‌های این پژوهش با نتایج سایر مطالعات می‌توان به ویژگی‌های آزمودنی‌ها اشاره کرد؛ به طوری که در تحقیق Colombo و همکاران هرچند سطوح VEGF در بافت ریه اندازه‌گیری شد، ولی موش‌های مورد مطالعه، مبتلا به پرفشارخونی بودند (۱۹).

از نتایج مهم دیگر تحقیق حاضر، افزایش معنی‌دار سطوح VEGF بافت ریه رت‌های در معرض NNK نسبت به گروه تمرین، تمرین به همراه NNK و نیز حلال بود. یافته‌های مطالعه حاضر با نتایج برخی مطالعات که نشان دادند قرارگیری در معرض NNK منجر به پیشرفت سلول‌های سرطانی از طریق تحریک و بیان سطوح VEGF می‌گردد، همسو بود (۳۴،۳۵،۳۶). در پژوهشی که توسط Zhang و همکاران صورت گرفت، مشاهده گردید NNK منجر به تنظیم بالای ERK1/2، Bcl-2 و VEGF می‌شود (۹). همچنین نتایج مطالعه Tang و همکاران نشان داد NNK و بتا آدرنرژیک در رگزایی تومورها و رشد آنها نقش دارد (۳۴). تحقیقات انجام‌شده بر سلول‌های اپی‌تلیال ریه در معرض NNK (به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) ۳ بار در هفته به مدت ۸ هفته، نشان می‌دهد آسیب وارده بر DNA، به‌علت بی‌ثباتی کروموزوم، همچنین شروع ایجاد التهاب و تومور در ریه است (۳۶،۳۷)، لذا بسیاری از آدنوکارسینوم‌های (Adenocarcinomas) ناشی از NNK با بی‌ثباتی کروموزوم‌ها مرتبط است. NNK سبب فعال‌سازی m-calpain و پروتئین کیناز که در متاستاز ریه از طریق مسیر ERK1/2 نقش دارند، می‌شود. همچنین NNK سبب افزایش میلوستیماتوسیس سلولی (c-Myc) و سلول B لوسمی/لنفوم ۲ (Bcl2) شده که این دو آنکوپروتئین در فرآیندهای سلولی

می‌گردد (۴۵)؛ زیرا فرآیند آنژیوژنز، هم در القای رشد تومورها و هم در فرآیند گسترش و متاستاز تومورها که در بردارنده رشد و توسعه سلول‌های سرطانی از محل اولیه و پراکنده شدن آنها به نقاط دیگر هستند، نقش دارد. بدین ترتیب هرچه میزان سطح عروق در بافت توموری بیشتر شود، سطح سلول‌های تومور نیز افزایش می‌یابد؛ از این رو به کارگیری برخی از آنتی‌بادی‌ها و عوامل منتهی به کاهش سطح VEGF مانند تمرین‌های ورزشی، نتایج مطلوبی علیه افزایش سطح VEGF در مطالعات بالینی داشته است (۴۶،۳). بنابراین، تمرین‌های ورزشی با شدت کم به دلیل نقشی که در نرمال کردن PH، کاهش لاکتات، مهار بیان VEGF و در نتیجه کاهش آنژیوژنز در سلول‌های سرطانی دارند، لازم است مورد توجه قرار گیرند (۴۷).

اگرچه در تحقیق حاضر بسیاری از متغیرها از قبیل: گونه، نژاد، جنس، وزن، عوامل محیطی (صدا، نور، رطوبت، دما)، عوامل تمرینی (نوع، مدت و شدت فعالیت ورزشی) و برنامه غذایی تحت کنترل بودند؛ ولی با این وجود پژوهش حاضر با محدودیت‌هایی از جمله عدم کنترل فعالیت شبانه آزمودنی‌های پژوهش به‌ویژه گروه‌های بدون تمرین و تداخل احتمالی آن بر نتایج تحقیق و نیز عدم اندازه‌گیری میزان جذب NNK در آزمودنی‌ها مواجه بود.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد قرارگیری در معرض دخانیات و عناصر التهاب‌زای آن مانند NNK می‌تواند باعث تخریب سیستم ایمنی و نیز بافت ریه گردد. بنابراین تمرینات شنای منظم هوازی می‌تواند از طریق مهار فعالیت VEGF در کاهش پیامدهای ناشی از القای NNK بر بافت ریه در بهبود التهاب ریه کمک شایانی باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان تشکر خود را از تمامی کسانی که در پیشبرد اهداف رساله یاری نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

از جمله التهاب، تکثیر و آپوپتوز در گیر هستند (۳۷). از یافته‌های مهم دیگر این مطالعه، کاهش معنی‌دار سطوح VEGF رت‌های در معرض NNK به همراه تمرین در مقایسه با گروه NNK بود. هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر، امانی و همکاران در مطالعه خود کاهش سطوح VEGF و IL-6 را پس از ۸ هفته تمرینات استقامتی تداومی در موش‌های مبتلا به سرطان پستان گزارش کردند. این محققین در مطالعه خود، مکانیزم کاهش VEGF را اثر کاهشی تمرین بر سطوح سایتوکین‌های پیش‌التهابی، از قبیل IL-6 در بافت تومور عنوان کردند؛ زیرا IL-6 نقش مؤثری بر بیان VEGF دارد (۳۸). کاهش سطح VEGF می‌تواند ناشی از اتصال آن به گیرنده‌های موجود بر روی سلول‌های اندوتلیال باشد (۳۸). اتصال VEGF به VEGFR-1 و VEGFR2 منجر به آغاز فرآیند آنژیوژنز و نیز گسترش شبکه مویرگی در بافت‌ها می‌شود. همچنین با اتصال VEGF به سولفات هیپارین (۳۹)، ۲-آلفا ماکروگلوبولین (۴۰) نیز می‌تواند منجر به کاهش سطوح VEGF پس از تمرینات ورزشی گردد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد متعاقب انجام فعالیت ورزشی، سطح اندوستاتین افزایش می‌یابد که این عامل به‌عنوان فاکتور آنژیوستاتیکی، مانع از بیان و تحریک VEGF می‌شود؛ بنابراین در راستای تحقیقات دیگران، می‌توان کاهش سطح VEGF را با افزایش سطح اندوستاتین مرتبط دانست (۳۹). Hirakawa و همکاران در مطالعه خود اذعان داشتند افزایش رشد و توسعه تومورها تحت تأثیر افزایش شاخص‌های آنژیوژنیک قرار دارد (۴۱). یکی از عوامل مؤثر بر رگزایی در تومورهای سرطانی، سطح VEGF است، بسیاری از رده‌های سلولی توموری در *In vitro* نیز منجر به ترشح VEGF می‌شوند (۴۲،۴۳). همچنین افزایش سطح VEGF باعث افزایش مهاجرت، تکثیر سلول‌های اندوتلیال و تشکیل شبکه عروقی می‌گردد (۴۴). لذا با افزایش سطح VEGF، تولید میکرووزل‌های بین توموری در بیماری سرطان افزایش می‌یابد و سلول‌های توموری بیان و تولید VEGF را در فیروبلاست احاطه‌کننده تومورها القا می‌کنند و از آنجایی که سطح VEGF در تنظیم رگزایی در تومورها بسیار حایز اهمیت است، لذا در درمان بیماری‌های التهابی، از قبیل سرطان، یکی از نقاط هدف محسوب

## References:

1. Xue J, Yang S, Seng S. Mechanisms of cancer induction by tobacco-specific NNK and NNN. *Cancers (Basel)* 2014;6(2):1138-56.
2. Warren GW, Singh AK. Nicotine and lung cancer. *J Carcinog* 2013;12:1.
3. Koutsokera A, Kiagia M, Saif MW, Souliotis K, Syrigos KN. Nutrition habits, physical activity, and lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2013;14(4):342-50.
4. Montuenga LM, Pio R. Tumour-associated macrophages in nonsmall cell lung cancer: The role of interleukin-10. *Eur Respir J* 2007;30(4):608-10.
5. Dong Z, Jianjun L, Jiguang M, Xin C, Liang S, Zhengdong J, et al.  $\beta$ 2-Adrenogenic signaling regulates NNK-induced pancreatic cancer progression via up regulation of HIF-1 $\alpha$  *Oncotarget* 2016;7(14):17760-72.
6. Lu H, Ouyang W, Huang C. Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer Res* 2006;4(4):221-33.
7. Negrier S, Perol D, Menetrier-Caux C, Escudier B, Pallardy M, Ravaud A, et al. Interleukin-6, Interleukin-10, and vascular endothelial growth factor in metastatic renal cell carcinoma: Prognostic value of Interleukin-6 from the Groupe Francais d'Immunotherapie. *J Clin Oncol* 2004;22(12):2371-8.
8. Wada J, Suzuki H, Fuchino R, Yamasaki A, Nagai S, Yanai K, et al. The contribution of vascular endothelial growth factor to the induction of regulatory T-Cells in malignant effusions. *Anticancer Res* 2009;29(3):881-8.
9. Zhang N, Sun X, Sun M, Zhu S, Wang L, Ma D, et al. 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-Pyridyl)-1-Butanone promotes esophageal squamous cell carcinoma growth via Beta-Adrenoceptors In vitro and in vivo. *PLoS One* 2015;10(3):e0118845.
10. Khaghanzadeh N, Mojtahedi Z, Ramezani M, Erfani N, Ghaderi A. Umbelliprenin is cytotoxic against QU-DB large cell lung cancer cell line but anti-proliferative against A549 adenocarcinoma cells. *Daru* 2012;20(1):69.
11. Wang CY, Lin CF. Annexin A2: Its Molecular Regulation and Cellular Expression in Cancer Development. *Disease Markers* 2014;1-10.
12. Farhat FS, Tfayli A, Fakhruddin N, Mahfouz R, Otrock ZK, Alameddine RS, et al. Expression, prognostic and predictive impact of VEGF and bFGF in non-small cell lung cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012;84(2):149-60.
13. Wu WK, Llewellyn OP, Bates DO, Nicholson LB, Dick AD. IL-10 regulation of macrophage VEGF production is dependent on macrophage polarisation and hypoxia. *Immunobiology* 2010;215(9-10):796-803.
14. Ávila LCM, Bruggemann TR, Bobinski F, da Silva MD, Oliveira RC, Martins DF, et al. Effects of high-intensity swimming on lung inflammation and oxidative stress in a murine model of DEP-Induced injury. *PLoS One* 2015;10(9):e0137273.
15. Vieira RP, Toledo AC, Silva LB, Almeida FM, Damaceno-Rodrigues NR, Caldini EG, et al. Anti-inflammatory effects of aerobic exercise in mice exposed to air pollution. *Med Sci Sports Exerc* 2012;44(7):1227-34.
16. Ghiasi R, Ghadiri Soufi F, Mohaddes G, Ebrahimi H, Alihemmati AZ, Mirzaie Babil F, et al. Effects of regular swimming on WBC profile, inflammatory mediators and histopathology of pancreatic tissue of high fat-induced diabetes in adult male rats. *Bull Env Pharmacol Life Sci* 2014;3(10):14-20.
17. Mirdar Harijani Sh, Aliasgharzade OH, Musavi N, Hamidian Gh. Effects of swimming endurance training during pregnancy on apoptotic index of rat's neonate liver. *Sci J Manage Sys* 2014;8(4):31-38.
18. Demarzo MM, Martins LV, Fernandes CR, Herrero FA, Perez SE, Turatti A, et al. Exercise reduces inflammation and cell proliferation in rat colon carcinogenesis. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40(4):618-21.



19. Colombo R, Siqueira R, Conzatti A, de Lima Seolin BG, Fernandes TR, Godoy AE, et al. Exercise training contributes to H2O2/VEGF signaling in the lung of rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Vascul Pharmacol* 2016;87:49-59.
20. Krenc Z, Mazurowski W, Wosik-Erenbek M. Changes in VEGF and bFGF serum concentration after long-term sports training in young athletes—The significance of adaptive angiogenesis in arterial blood pressure adjustment. *Pediatr Pol* 2016;91(6):552-58.
21. Sinner P, Folsom Ar, Harnack L, Eberly Le, Schmitz Kh. The association of physical activity with lung cancer incidence in a cohort of older woman: The Iowa Woman's Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15(12):2359-63.
22. Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. Guide to the care and use of experimental animals. 2<sup>nd</sup> ed. Ottawa: Canadian Council on Animal Care Ottawa Pub; 1993. p. 1-193.
23. Belinsky SA, Foley JF, White CM, Anderson MW, Maronpot RR. Dose-response relationship between O6-methylguanine formation in Clara cells and induction of pulmonary neoplasia in the rat by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Res* 1990;50(12):3772-80.
24. Hansen HH. Lung Cancer (Advances in Basic and Clinical Research). 1995<sup>th</sup> ed. NewYork: Springer; 2012. p. 25-6.
25. Mirdar Sh, Arab A, Hedayati M, Hajizade A. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  levels of neonatal lung. *Tehran Univ Med Sci* 2012;69(12):754-60.
26. Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol* 2004;4:2.
27. Ribatti D, Conconi MT, Nussdorfer GG. Nonclassic endogenous novel regulators of angiogenesis. *Pharmacol Rev* 2007;59(2):185-205.
28. Shapiro B, Borer KT, Fig LM, Vinik AI. Exercise-induced hyperphagia in the hamster is associated with elevated plasma somatostatin-like immunoreactivity. *Regul Pept* 1987;18(2):85-92.
29. Czarkowska-Paczek B, Bartłomiejczyk I, Przybylski J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after strenuous physical exercise. *J Physiol Pharmacol* 2006;57(2):189-97.
30. Tsai MS, Kuo ML, Chang CC, Wu YT. The effects of exercise training on levels of vascular endothelial growth factor in tumor-bearing mice. *Cancer Biomark* 2013;13(5):307-13.
31. Mirdar sh, Mehdiinia e, Bayani t. The effect of swimming endurance training on the level of lung VEGF in pregnant mice that exposed to cadmium. *Sport Biosci* 2016;8(2):177-91.
32. 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 Univ Med Sci* 2014;16(4):106-10. [Full Text in Persian]
33. Kraus RM, Stallings HW, Yeager RC, Gavin TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J Appl Physiol* 2004;96(4):1445-50.
34. Tang J, Li Z, Lu L, Cho CH.  $\beta$ -Adrenergic system, a backstage manipulator regulating tumour progression and drug target in cancer therapy. *Semin Cancer Biol* 2013;23(6 Pt B):533-42.
35. Shin VY, Jin HC, Ng EK, Cho CH, Leung WK, Sung JJ, et al. 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone promoted gastric cancer growth through prostaglandin E receptor (EP2 and EP4) in vivo and in vitro. *Cancer Sci* 2011;102(5):926-33.

36. Herzog CR, Desai D, Amin S. Array CGH analysis reveal schromosomal aberrations in mouse lung adenocarcinomas induced by the human lung carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;341(3):856-63.
37. Akopyan G, Bonavida B. Understanding tobacco smoke carcinogen NNK and lung tumorigenesis. *Int J Oncol* 2006;29(4):745-52.
38. Amani S, Agha-Alinejad H, Alizadeh Sh, Shahbazi Sh, Kashani Khatib Z, Kazemi AR, et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17(4):231-58.
39. Suhr F, Brixius K, de Marees M, Bolck B, Kleinoder H, Achtzehn S, et al. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. *J Appl Physiol* 2007;103(2):474-83.
40. Rullman E, Rundqvist H, Wagsater D, Fischer H, Eriksson P, Sundberg CJ, et al. A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985) 2007;102(6):2346-51.
41. Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiyak, Brown LF, Detmar M. VEGF-A induces tumorand sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med* 2005;201(7):1089-99.
42. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, PaavonenK. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovasc Res* 2005;65(3):550-63.
43. Bao S, Wu Q, Sathornsumetee S, Hao Y, Li Z, Hjelmeland AB, et al. Stem Cell-like Glioma Cells Promote Tumor Angiogenesis through Vascular Endothelial Growth Factor. *Cancer Res* 2006;66(16):7843-8.
44. Tomanek RJ, Schatteman GC. Angiogenesis: New insights and therapeutic potential. *Anat Rec* 2000;261(3):126-35.
45. Kerbel R, Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2002,2(10):727-39.
46. Dupont J, Schwartz L, Koutcher J, Spriggs D, Mendelson GD. Phase I and pharmacokinetic study of VEGF Trapadministered subcutaneously (sc) to patients (pts) with advanced solid malignancies. *J Clin Oncol* 2004;22(14):3009.
47. Verma, VK, Singh V, Singh MP, Singh SM. Effect of physical exercise on tumor growth regulating factors of tumor microenvironment: Implications in exercise-dependent tumor growth retardation. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2009;31(2):274-82.