

بررسی اثر یک دوره برنامه تمرینی شنا بر سطوح فاکتور القایی هایپوکسی ($HIF-1\alpha$) ریه نوزادان موش های مادر در معرض مسمومیت با کادمیوم

شادمهر میردار^{۱*}، آنا عرب^۲، مهدی هدایتی^۳، اکبر حاجی زاده^۴

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم یکی از مهم ترین آلاینده های زیستی است که مصرف آن در دوران بارداری موجب بیماری و ناهنجاری های بسیاری در مادر و نوزاد می شود. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرینات منظم شنا و مصرف خوراکی کادمیوم در دوران بارداری بر سطوح فاکتور القایی هایپوکسی ($HIF-1\alpha$) ریه نوزادان موش انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۳۲ سر موش ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی 200 ± 20 g، پس از ۲ هفته آشنایی با محیط جدید و باردار شدن به ۴ گروه ۸ تایی، شامل: ۱- کادمیوم؛ ۲- شنا؛ ۳- شنا - کادمیوم؛ ۴- گروه کنترل تقسیم شدند. برنامه تمرینی شنا از روز اول بارداری شروع و یکبار در روز (۵ روز در هفته) تا روز زایمان ادامه داشت. دوز کادمیوم دریافتی 400 mg/l محلول در آب آشامیدنی بود. غلظت $HIF-1\alpha$ ریه با استفاده از روش آنزیم لینک ایمنواسی (ELISA) تعیین شد. داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و هالم-سیداک در سطح معنی داری $p < 0/05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: میانگین وزن نوزادان گروه کادمیوم حاکی از کاهش معنی دار ($p < 0/001$) آن در مقایسه با گروه کنترل بود. همچنین سطوح $HIF-1\alpha$ ریه نوزادان در گروه تمرین شنا به طور معنی داری ($p < 0/001$) افزایش نشان داد و در گروه کادمیوم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($p < 0/001$).

نتیجه گیری: نتایج حاکی از تأثیر تمرینات شنا بر افزایش سطوح $HIF-1\alpha$ ریه نوزادان مادرانی بود که در دوران بارداری به طور منظم شنا می کردند، لذا به نظر می رسد تمرین ورزشی شنا زیربیشینه با جبران کاهش $HIF-1\alpha$ ناشی از کادمیوم می تواند تأثیرات منفی آن را در ریه جنین تعدیل کند.

کلید واژه ها: کادمیوم؛ شنا؛ فاکتور القایی هایپوکسی.

^۱دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

^۲کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

^۳استادیار بیوشیمی، پژوهشگاه غد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

^۴استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

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

آدرس پست الکترونیکی:
shadmehr.mirdar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۹

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۸

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Mirdar Sh, Arab A, Hedayati M, Hajizadeh A. Evaluation of the Effect of a Swimming Training Program on Levels of Lung Hypoxia Inducible Factor-1 α ($HIF-1\alpha$) in Pups of Mother Rats Exposed to Cadmium. Qom Univ Med Sci J 2013;7(3):11-20. [Full Text in Persian]

مقدمه

با توجه به رشد جمعیت و پیشرفت فن آوری و در پی آن شیوع آلاینده های محیط زیست، سلامت افراد جامعه بیش از پیش مورد تهدید قرار گرفته است. میلیون ها نفر در دنیا در معرض سطوح بالای فلزات سنگین موجود در آب آشامیدنی قرار دارند. مطالعات نشان می دهد این فلزات سنگین قادر به تولید گونه های اکسیژن واکنشی (ROS) در بدن انسان بوده و می توانند به سلامت انسان آسیب های جدی وارد کنند (۱). همچنین کادمیوم به عنوان یکی از شایع ترین آلاینده های موجود می تواند باعث مسمومیت های حاد (از طریق استنشاق) و مزمن (در صورت مصرف خوراکی درازمدت) در انسان شود (۲). انباشتگی کادمیوم در کلیه و اندام های جنسی؛ نارسایی های کلیوی و نکروز بیضه ای را به همراه دارد (۳، ۴). شدیدترین شکل سمی بودن مزمن کادمیوم از طریق مصرف درازمدت خوراکی در بیماری ایتای ایتای (Itai Itai) خود را نشان می دهد که با کوچکترین حرکت اعضای بدن موجب شکستگی استخوان می شود (۵). از سوی دیگر، دود سیگار و مصرف مواد غذایی حاوی کادمیوم در دوران بارداری و امکان انتقال اثرات آن به جنین، از مهم ترین نگرانی هایی است که زنان باردار را تهدید می کند (۶).

از جمله پروتئین های کلیدی در واکنش به کاهش اکسیژن، فاکتور القایی هایپوکسی (Hypoxia-inducible Factor-1, HIF-1) می باشد که در سال ۱۹۹۲ توسط Wang و Semenza کشف شد (۷). HIF-1 یک فاکتور رونویسی است که تقریباً در همه انواع سلولی وجود دارد و به وسیله میزان اکسیژن، تنظیم و موجب بیان صدها ژن می شود. HIF-1 به شکل Heterodimer بوده و از زیر واحدهای α و β تشکیل شده است. HIF-1 β به صورت یک بخش ساختاری در همه جا یافت می شود، در حالی که HIF-1 α در شرایط نورموکسیک در مقادیر خیلی کم وجود دارد (۸). همچنین HIF-1 α از طریق اتصال به عناصر تنظیمی ژن های هدف فعال می شود. برای انجام این عمل، HIF-1 α ابتدا باید به HIF-1 β متصل شود، که این فعل و انفعالات به وسیله سطوح اکسیژن قابل کنترل است (۹). وقتی میزان اکسیژن زیاد است، مقدار ناچیزی HIF-1 α وجود دارد که با فرمان پروتئین VHL (Von Hippel-Lindau) از بین رفته و نمی تواند به HIF-1 β متصل شود (۸).

یافته های همه گیرشناسی نشان می دهد ارتباط مشخصی بین فعالیت های جسمانی شدید با محدودیت رشد جنین در رحم مادر وجود دارد، که خود باعث کاهش طول مدت بارداری و تولد نوزادان با وزن پایین می شود. از طرفی، نشان داده شده است این امر در مورد فعالیت هایی که جنبه تفریحی دارند، صدق نمی کند (۱۰). رشد ریه در جنین بستگی زیادی به مصرف اکسیژن در زمان افزایش نیازهای متابولیک دارد. برخی پژوهشگران معتقدند هایپوکسی ناشی از ارتفاع در دوران بارداری ممکن است باعث ناهنجاری های مادرزادی شود (۱۱). همچنین بارداری بر تمامی عوامل مؤثر تحویل اکسیژن در مسیر گردش جفتی رحمی تأثیرگذار است (۱۲). همچنین بروز شرایط هیپوکسی به عوامل مختلفی وابسته است، که می تواند به عنوان یک محرک محیطی موضعی، سیگنال های لازم را برای تحریک تشکیل عروق خونی موجب شود (۱۳). از این رو به نظر می رسد HIF-1 یک تنظیم کننده رونویسی کلیدی برای تنظیم هایپوکسیک رشد عروق جنینی است (۱۴). Lundby و همکاران (سال ۲۰۰۶) نشان دادند بیان HIF-1 α با انجام یک وهله فعالیت استقامتی افزایش می یابد. بنابراین، ممکن است به عنوان یک فاکتور مهم در گیر در پاسخ های سازگاری به تمرینات استقامتی به شمار آید (۱۵). لذا با توجه به تأثیر آلودگی بر کاهش میزان اکسیژن که می تواند میزان HIF-1 α را تحت تأثیر قرار دهد و نیز حساسیت آلودگی های ناشی از کادمیوم در طی دوران بارداری که سلامت جنین و نوزاد را در معرض تهدید قرار می دهد، همچنین واکنش شاخص HIF-1 α به فعالیت های ورزشی، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مصرف کادمیوم محلول در آب آشامیدنی و یک دوره برنامه تمرین استقامتی شنا بر ریه نوزادان موش های مادر صورت گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 20 g استفاده شد. حیوانات در اتاق مخصوص با درجه حرارت $23 \pm 2^\circ \text{C}$ و در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و دسترسی به آب و غذای کافی داشتند. پس از یک هفته انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و یک هفته آشنایی با تمرین شنا، یک موش نر با ۲ موش

ریه بلافاصله توزین شده و در میکروتیوپ های ویژه در مایع نیتروژن قرار گرفت، سپس تا زمان هموژنیزه شدن در یخچال 8°C - نگهداری شد. غلظت HIF-1α ریه با استفاده از کیت ویژه (ساخت کشور چین) به روش آنزیم لینک ایمنواسی (ELISA) تعیین گردید.

یافته ها با استفاده از آزمون های شاپیرو- ویلک از آنالیز واریانس یک طرفه و هالم سیداک، برای مقایسه بین گروه های مختلف تجزیه و تحلیل شدند، و تمامی محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری Sigma plot نسخه ۱۱ انجام شد، سطح معنی داری آزمون ها $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

بین میانگین وزن تولد نوزادان گروه های شنا ($7/29 \pm 0/59\text{g}$) و کادمیوم ($6/21 \pm 0/38\text{g}$)، تفاوت معنی داری ($p < 0/001$) مشاهده شد. به عبارت دیگر، میانگین وزن تولد نوزادان گروه شنا نشان دهنده افزایش معنی دار $17/4$ درصدی نسبت به گروه کادمیوم بود. به علاوه، میانگین وزن تولد نوزادان گروه کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی دار $9/7$ درصدی را نشان داد ($p < 0/008$). اما از طرفی، با وجود افزایش $5/9$ درصدی میانگین وزن تولد نوزادان در گروه شنا در مقایسه با گروه پایه (کنترل)، این تفاوت معنی دار نبود ($p < 0/09$). همچنین بررسی میانگین وزن تولد نوزادان در گروه شنا - کادمیوم در مقایسه با گروه مادرانی که تنها از کادمیوم خوراکی استفاده کرده بودند، حاکی از تفاوت معنی داری در سطح ($p < 0/009$) بود (نمودار شماره ۱).

علاوه بر وزن تولد نوزادان گروه های مختلف پژوهش، وزن ریه نوزادان نیز پس از ۲ روز از تولد آنها اندازه گیری شد. نتایج، تفاوت معنی داری را بین هیچ یک از گروه ها نشان نداد. اگرچه وزن ریه نوزادان در گروه کادمیوم ($0/19 \pm 0/03\text{g}$)، نشان دهنده افزایش $26/6$ و $11/76$ درصدی نسبت به گروه های پایه ($0/15 \pm 0/01\text{g}$) و شنا ($0/17 \pm 0/01\text{g}$) بود. همچنین وزن ریه نوزادان گروه کادمیوم نسبت به گروه شنا - کادمیوم ($0/16 \pm 0/04\text{g}$)، افزایش $18/75$ درصدی را نشان داد (نمودار شماره ۲).

ماده در قفس برای جفت گیری قرار داده شدند. ۲۴ ساعت پس از آن با بررسی توده واژینال، اولین روز بارداری مشخص شد و آزمودنی ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند:

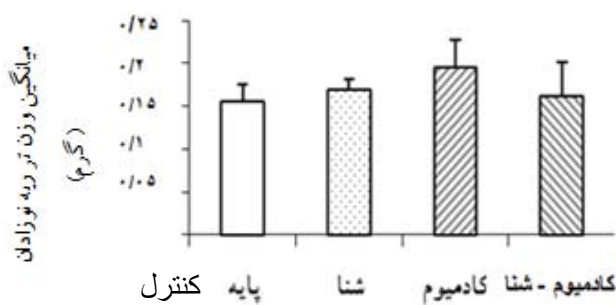
۱- گروهی که کلراید کادمیوم 400mg/l (۱۶) را به صورت محلول در آب آشامیدنی خود دریافت می کردند.

۲- گروه تمرینی که ۵ روز در هفته روزانه به مدت ۶۰ دقیقه شنا می کردند (۱۷).

۳- گروهی که علاوه بر تمرین شنا، آب آشامیدنی شامل کلرید کادمیوم را نیز دریافت می کردند.

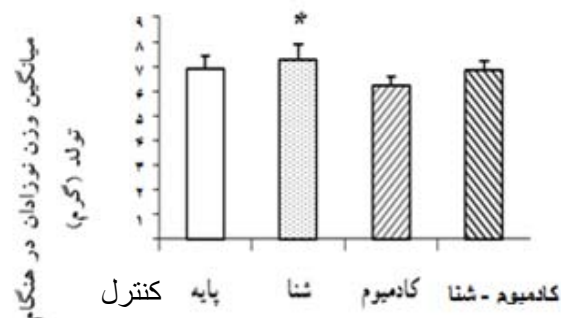
۴- گروه پایه شامل موش های بارداری که تحت شرایط طبیعی قرار داشتند.

وزن موش های باردار ۲ بار در هفته اندازه گیری می شد، و پس از زایمان نیز تعداد و وزن نوزادان ثبت گردید. قبل از اجرای مرحله اصلی پژوهش، مطالعه مقدماتی برای اجرای پژوهش انجام شد، سپس با تنظیم برنامه تمرینی و اصلاحات لازم، برنامه نهایی به اجرا درآمد. قبل از اجرای برنامه تمرینی، به منظور آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، موش ها در طی ۲ هفته در داخل استخر آب قرار گرفتند. مدت زمان تمرین در آب، روز اول ۱۰ دقیقه بود که این مدت در پایان هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید. این زمان ۶۰ دقیقه برای گروه های تمرینی تا پایان هفته سوم بارداری حفظ شد. آزمودنی ها در گروه های تمرینی یک بار در روز (۵ روز در هفته) تا روز زایمان در یک مخزن آب به ابعاد $100 \times 50 \times 50\text{cm}$ با درجه حرارت 35°C - 30°C شنا کردند. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام شد (۱۸). برای این منظور قدرت و سرعت آب به طور هفتگی از ۷ لیتر به ۱۲ لیتر در دقیقه افزایش یافت. تمامی مراحل تمرین و اجرای پژوهش مطابق با دستورالعمل مؤسسه سلامت و تغذیه در مورد مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد. پس از تولد نوزادان بلافاصله وزن آنها ثبت گردید. برای انجام نمونه گیری از هر مادر، یک نوزاد ۲ روزه به طور تصادفی انتخاب و بدون بیهوشی و با قیچی سر بریده شد. سپس نمونه گیری بافتی از ریه نوزادان به سرعت انجام گرفت.



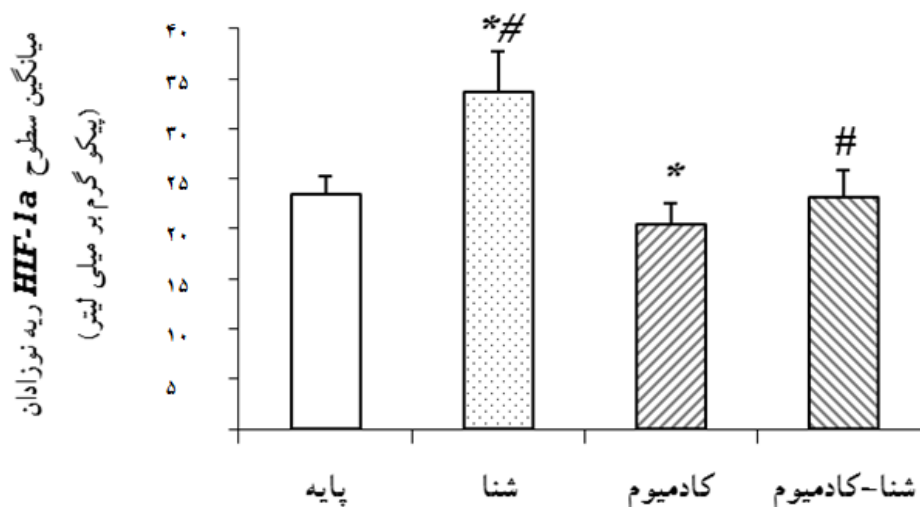
نمودار شماره ۲: میانگین و انحراف معیار وزن ریه نوزادان ۲ روزه

تمرین همراه با کادمیوم در سطح ($p < 0.001$)، تفاوت معنی داری نشان داد. در عین حال سطوح پروتئین HIF-1α ریه نوزادان در گروه شنا - کادمیوم ($23/14 \pm 2/7 \text{ pg/ml}$)، بیانگر کاهش غیرمعنی دار ۱/۲ درصدی و افزایش غیرمعنی دار ۱۳/۳۲ درصدی به ترتیب نسبت به گروه های پایه ($p < 0.83$) و کادمیوم ($p < 0.06$) بود. همچنین سطوح پروتئین HIF-1α ریه نوزادان در گروه شنا، نشان دهنده افزایش ۶۴/۵۹ درصدی نسبت به گروه کادمیوم را نشان داد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۱: میانگین و انحراف معیار وزن تولد نوزادان ۲ روزه

یافته های پژوهش در مورد سطوح HIF-1α ریه نوزادان، نشان دهنده افزایش آن با میزان سطح معنی داری ($p < 0.001$) و کاهش معنی داری آن در سطح ($p < 0.04$) به ترتیب در گروه های شنا ($33/61 \pm 4/04 \text{ pg/ml}$) و کادمیوم ($20/42 \pm 2/05 \text{ pg/ml}$) به میزان ۴۳/۴ و ۱۴/۸٪ در مقایسه با گروه کنترل ($23/44 \pm 1/8 \text{ pg/ml}$) بود. علاوه بر این، فاکتور القایی هیپوکسی ریه نوزادان در گروه شنای استقامتی زیربیشینه در مقایسه با گروه کادمیوم خوراکی در سطح ($p < 0.001$) و در مقایسه با گروه



نمودار شماره ۳: میانگین و انحراف معیار سطوح پروتئین HIF-1α ریه نوزادان گروه های مختلف پژوهش ۲ روز پس از تولد * نشانه معنی داری نسبت به گروه کنترل # نشانه معنی داری نسبت به گروه کادمیوم بود.

این پژوهشگران با بررسی تأثیر تمرین ورزشی در طی دوران بارداری (۲۰ دقیقه تمرین بر روی نوارگردان در روز با سرعت ۱۵/۵ متر بر دقیقه) بر وزن نوزادان، کاهشی در وزن نوزادان مادران تمرین کرده، مشاهده نکردند (۱۹). علاوه بر این، مطالعات Treadway و Lederman نیز نشان داد ۱/۵-۲ ساعت تمرین شنای منظم روزانه مادران باردار، تأثیر معنی داری در وزن نوزادان

بحث

با توجه به یافته های پژوهش حاضر، وزن نوزادان در گروه شنا، نشان دهنده افزایش ۵/۹ درصدی نسبت به گروه کنترل بوده است، که این افزایش معنی دار نیست. این نتیجه که حاکی از عدم تفاوت معنی دار در وزن نوزادان گروه شنا می باشد با نتایج مطالعه COBRIN و همکاران همخوانی دارد (۱۹).

گروه های تمرینی نداشته است؛ هرچند نوزادان گروه تمرینی، گرایش به وزن کمتری داشتند (۲۰). Mottola و همکاران نیز پس از دوییدن آزمودنی های باردار بر روی نوارگردان (روزی یک ساعت با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه بر روی یک شیب یک درجه)، تغییر معنی داری در وزن نوزادان گروه های تمرینی نسبت به گروه های بی تحرک مشاهده نکردند (۲۱). به علاوه، Hopkins و همکاران پس از تحقیق بر روی تعدادی از زنان باردار که به طور داوطلبانه به تمرین ایروبیک (۵ جلسه ۴۰ دقیقه ای در هفته) پرداخته بودند، تفاوت معنی داری را در وزن نوزادان مادران تمرین کرده نسبت به گروه کنترل مشاهده نکردند (۲۲). نتایج تمام این مطالعات با یافته های به دست آمده در پژوهش حاضر همسو بوده و نشان دهنده آن است که ورزش مادر در دوران بارداری تأثیری در کاهش رشد وزنی جنین ندارد و اثرات مثبت آن بدون تداخلی در کاهش وزن می تواند مورد توجه قرار گیرد. همچنین یافته های پژوهش حاضر، نشان دهنده تفاوت معنی دار در وزن نوزادان مادرانی است که در دوران بارداری کادمیوم دریافت می کرده اند. البته لازم به ذکر است که در نوزادان گروه کادمیوم، کاهش معنی داری در حدود ۱۰٪ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد که این خود نشان دهنده گرایش این نوزادان به داشتن وزن کمتر نسبت به نوزادان گروه کنترل می باشد. Nishijo و همکاران، Ronco و همکاران و محمدزاده و همکاران نیز نشان دادند مصرف کادمیوم در دوران بارداری منجر به کاهش وزن تولد نوزادان می شود که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. بنابراین، به نظر می رسد در پژوهش حاضر، دوز کادمیوم خوراکی نقش مؤثری در کاهش وزن نوزادان مادران در معرض مسمومیت این ماده داشته است (۲۳-۲۵). علاوه بر این، اندازه گیری وزن ریه نوزادان ۲ روز پس از تولد، تفاوت معنی داری را در هیچ یک از گروه ها نشان نداد، اما وزن ریه نوزادان گروه کادمیوم یک افزایش غیرمعنی دار ۲۵ درصدی را نسبت به گروه کنترل نشان داد که آن را شاید بتوان به تغییرات بافتی ریه و احتمال افزایش ضخامت بافت پوششی برونش و برونشیول ریه نوزادان مادران در معرض کادمیوم نسبت داد (۲۶). طبق نتایج مطالعه حاضر، سطح HIF-1 α ریه نوزادان گروه تمرین شنا، افزایش معنی داری نسبت به سایر گروه ها داشته است.

در رابطه با اثر فعالیت ورزشی بر میزان HIF-1 α ، تحقیقات اندکی وجود دارد و بیشتر مطالعات انجام شده به طور جانبی به این فاکتور پرداخته اند. Rundqvist (سال ۲۰۰۸)، تعداد اندک تحقیقات پیرامون میزان فعالیت HIF-1 α پس از یک دوره فعالیت ورزشی درازمدت را در نتیجه تنظیم گذرا و موقت پروتئین ذکر کرد و اظهار داشت به همین دلیل بیان ژن هدف و سطوح HIF- mRNA 1 α اغلب به عنوان نشانه فعالیت HIF-1 α مورد استفاده قرار می گیرد (۲۷). Vogt و همکاران (سال ۲۰۰۱) نیز نشان دادند سطوح HIF-1 α پس از یک دوره برنامه استقامتی ۶ هفته ای دوچرخه کارسنج در شرایط هایپوکسیک و پس از تمرین حاد در هر دو شدت بالا (۸۲٪) و پایین (۷۸٪) تحت شرایط هایپوکسیک، حاکی از افزایش غلظت های کنترل HIF-1 α mRNA بوده است (۲۸).

Schaible و همکاران (سال ۲۰۰۹)، افزایش سطوح HIF-1 α لکوسیت را پس از یک وهله دوییدن تداومی به مدت ۶۰ دقیقه بر روی نوارگردان نشان دادند، که این مقادیر پس از ۳ ساعت به سطوح اولیه بازگشت و در همان سطوح باقی ماند. آنها همچنین بیان داشتند مقادیر پایه HIF-1 α در فاز فولیکولار نسبت به فاز لوتال، به طور معنی داری بالاتر می باشد (۲۹). براساس نتایج Jones و همکاران (سال ۲۰۱۰)، پس از یک دوره تمرینی ۶ هفته ای با استفاده از Wheel Running که نوعی ورزش اختیاری محسوب می شد، سطوح پروتئین HIF-1 α آزمودنی ها به طور معنی داری افزایش می یابد (۳۰). Koltai و همکاران (سال ۲۰۱۱)، افزایش سطوح HIF-1 α را پس از یک دوره برنامه تمرینی ۶ هفته ای در آزمودنی های سالمند نشان دادند، درحالی که سطوح آن در آزمودنی های جوان بدون تغییر بود (۳۱)، همچنین بیان کردند تمرینات ورزشی منظم، موجب کاهش تفاوت بین موش های پیر و جوان در ارتباط با مارکرهای استرس اکسایشی می شود (۳۱). Lum و همکاران (سال ۲۰۰۷)، هیچ تغییر معنی داری در سطوح HIF-1 α پس از یک وهله پرش های تداومی در پی ۱۰۰ پرش بیشینه نشان ندادند (۳۲). مطالعات Zoll و همکاران (سال ۲۰۰۶) نیز حاکی از افزایش HIF-1 α mRNA در پاسخ به تمرین هایپوکسیک دوندگان استقامتی بود (۳۳). یافته های Ookawara و همکاران (سال ۲۰۰۲) پس از اجرای یک

برنامه سه ماهه شنا برای ۵ جلسه در هفته (۳۴) و Lundby و همکاران (سال ۲۰۰۶)، افزایش ناشی از تمرین سطوح کنترل HIF-1α را تأیید نکرده است (۱۵).

Ameln و همکاران (سال ۲۰۰۵) نشان دادند یک وهله ورزش شدید، منجر به تثبیت پروتئین HIF-1α می شود (۳۵). این داده ها مشخص می کند بیان HIF-1α mRNA در پاسخ به تمرین هایپوکسیک و نورموکسیک، به طور مثبتی تنظیم شده و شواهد زیادی برای تنظیم هایپوکسیک سطوح HIF-1α mRNA وجود دارد (۳۶-۳۸). یافته های به دست آمده در پژوهش حاضر با نتایج حاصل از مطالعات توسط Zoll و همکاران (سال ۲۰۰۶) (۳۳)، Vogt و همکاران (سال ۲۰۰۱) (۲۸)، Jones و همکاران (سال ۲۰۱۰) (۳۰) و Lundby و همکاران (سال ۲۰۰۶) (۱۵) همخوانی داشت و با نتایج Ookawara و همکاران (سال ۲۰۰۲) (۳۴)، Ameln و همکاران (۲۰۰۵) (۳۵)، Köhl R و همکاران (سال ۲۰۰۷) (۳۹) همخوانی نداشت. با توجه به مطالب اخیر، تحقیقات انجام شده در رابطه با تأثیر تمرین بر سطوح HIF-1α دارای تناقض زیادی بوده و دستیابی به نتیجه واحد و فهم علل تغییرات، نیازمند بررسی های بیشتری است. همچنین لازم به ذکر است تاکنون پژوهشی که به بررسی تمرینات مادر بر سطوح HIF-1α ریه نوزادان بپردازد، یافت نشده و تحقیق حاضر را می توان در زمره اولین پژوهش هایی که به بررسی این موضوع پرداخته اند، به حساب آورد. همچنین با توجه به موارد ذکر شده، افزایش HIF-1α ریه نوزادان پس از ۳ هفته شنای استقامتی را می توان با ایجاد استرس اکسایشی در اثر فعالیت انجام شده و تولید ROS مرتبط دانست و از آنجا که افزایش HIF-1α در ریه نوزادانی که خود به طور مستقیم تحت هیچ برنامه تمرینی نبوده اند، نشان دهنده ایجاد سازگاری های ورزشی بوده است، لذا فعالیت ورزشی در دوران بارداری را می توان برای افزایش استقامت نوزادان مؤثر دانست. در مطالعه حاضر پس از خوراندن کادمیوم به صورت محلول در آب آشامیدنی به آزمودنی ها، در سطوح HIF-1α ریه نوزادان گروه کادمیوم، کاهش معنی داری در مقایسه با گروه پایه مشاهده شد. در رابطه با تأثیر مصرف کادمیوم در دوران بارداری و تأثیر آن بر HIF-1α ریه نوزادان، تاکنون هیچ پژوهشی انجام نشده و از این جهت پژوهش حاضر را می توان در

زمره اولین تحقیقاتی که به این مسئله پرداخته است به شمار آورد. مشخص شده است برای افراد غیرسیگاری، غذا معمولاً مهم ترین منبع کادمیوم بوده، که سطوح آن به وسیله کودهای فسفاته یا ضایعات کشاورزی افزایش می یابد (۴۰). همچنین تحقیقات پیشین نشان داده اند کادمیوم از طریق تنظیم بیان ژن و انتقال سیگنالی، دخالت در آنزیم های سیستم آنتی اکسیدانی سلولی، تولید گونه های اکسیژن واکنشی (ROS)، دخالت در مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی، تحریک تولید گونه های اکسیژن واکنشی (ROS) و تحریک توسعه تومورها؛ تأثیرات مخرب خود را اعمال می کند (۴۱). علاوه بر این، موجب افزایش ناباروری، سقط جنین، کاهش شمار اسپرم ها، استئومالاسی، استئوپروز، التهاب، تومورهای بدخیم، خودایمنی و تخریب رشد عصبی، آرنی و آسیب کلیوی ناشی از اختلال توبولی و گلومرولی می شود (۴۲). برخی مطالعات حاکی از آن است که در پی مسمومیت ناشی از کادمیوم در راه های هوایی فوقانی؛ التهاب مزمن بینی، حلق و حنجره، همچنین اختلالات بویایی و در راه های هوایی تحتانی؛ بیماری انسداد ریوی مزمن در شدت های مختلف قابل مشاهده است (۲). کشیدن سیگار از دیگر منابع مهم کادمیوم بوده، که میزان آن در بدن افراد سیگاری دو برابر غیرسیگاری است (۴۰). مطالعات نشان می دهد یک شیب مادر به جنین در کادمیوم خون وجود دارد و جفت به طور انتخابی مواد را حفظ می کند. حفظ و نگهداری کادمیوم در جفت به سنتز متالوتیونین وابسته است. مکانیزم حفظ انتخابی کادمیوم و انتقال ترجیحی روی و مس، که احتمال می رود به متالوتیونین اتصال یابند، ناشناخته است. در نتیجه حفظ و انباشتگی، کادمیوم در طول بارداری در اندام های مادر افزایش می یابد. کاهش نسبت روی به کادمیوم در جفت، به ویژه در مادران سیگاری مشاهده شده است. همچنین ثابت شده که وزن هنگام تولد نوزادان مادران سیگاری پایین تر است. این فرضیه نیز وجود دارد که کاهش وزن تولد ممکن است به علت فقدان روی در اثر کاهش نسبت روی به کادمیوم در جفت باشد (۴۳، ۴۲). مطالعات رشدی در انسان نیز نشان داده اند نوزاد مادران در معرض کادمیوم دارای وزن کمتری هستند (۴۰). همچنین طبق شواهد مطالعات حیوانی، کادمیوم دارای تأثیرات رشدی از قبیل کاهش وزن جنین، ناهنجاری های اسکلتی، دخالت در متابولیسم

هایپوکسیک $HIF-1$ را متوقف کند (۳۹). کاهش در ظرفیت حمل اکسیژن خون (آئمی) یا غلظت اکسیژن محدود (هایپوکسی)، موجب کدگذاری چندین ژن اریتروپویتین (EPO) القایی هایپوکسی مانند فاکتور رشد آندوتلیال عروقی، فسفوگلیسرات کیناز-۱، انولاز-۱، آلدولاز A و لاکتات دهیدروژناز - A می شود (۳۹). بنابراین، به نظر می رسد القای هایپوکسیک این ژن ها به $HIF-1$ وابسته است که در پی هایپوکسی فعال شده و به توالی ($5'-RCGTG-3'$) در عناصر فزاینده متصل می شود (۴۹). پژوهشگران فوق بر این باورند که کادمیوم ممکن است موجب جلوگیری از فعالیت هایپوکسیک $HIF-1$ ، و در نتیجه توقف بیان بیشتر ژن های القایی هایپوکسی مانند ژن EPO شود. آنها نشان داده اند کادمیوم می تواند باعث تخریب پروتئازوم پروتئین $HIF-1$ ، کاهش فعالیت $HIF-1$ و کاهش بیان ژن های القایی هایپوکسی تحت موقعیت های هایپوکسیک و از سوی دیگر، از طریق یک مسیر حساس به اکسیژن وابسته به ردوکس موجب توقف القای هایپوکسیک $HIF-1\alpha$ شوند (۴۹).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه، کادمیوم تولید و فعالیت شاخص القایی هایپوکسی را متوقف و منجر به کاهش سطوح آن در ریه و نیز افزایش وزن آن می شود. به نظر می رسد کادمیوم از اتصال $HIF-1$ به عنصر پاسخ به هایپوکسی و از انباشتگی پروتئین $HIF-1\alpha$ جلوگیری می کند. علاوه بر این، در گروه شنا - کادمیوم، کاهش $HIF-1\alpha$ ناشی از کادمیوم ریه نوزادان در اثر سازگاری ناشی از تمرین ورزشی شنا جبران شده و سطوح آن تا سطوح پایه افزایش می یابد. در نتیجه شنای استقامتی و زیربیشینه موجب تعدیل تأثیرات منفی کادمیوم بر رشد ریه جنین می شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش براساس برنامه حمایت از توسعه فن آوری های راهبردی معاونت علمی و فن آوری ریاست جمهوری و قرارداد (شماره ۳۳/د/۳۷۹) معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام شده است. بدین وسیله از حمایت های انجام شده قدردانی می گردد.

جنین و تخریب رشد عصبی از طریق استنشاق یا مصرف خوراکی آن است (۴۰). Włodarczyk و همکاران (سال ۲۰۰۰)، ناهنجاری های بسیاری را در جنین های همستری که مادران آنها با تزریق کادمیوم مسموم شده بودند، گزارش کردند (۴۴). این یافته ها نشان داد، مادران بارداری که کادمیوم را به صورت خوراکی و یا حتی استنشاق دریافت می کنند، قادر به انتقال آن از طریق جفت به جنین بوده و جنین در حال رشد را متحمل تأثیرات منفی آن خواهند کرد. علاوه بر این، به نظر می رسد تغییرات ناشی از کادمیوم می تواند سطوح $HIF-1\alpha$ را تحت تأثیر قرار دهد. شواهد به دست آمده نشان می دهد سمی بودن کادمیوم بر اندام هایی مانند کبد، ریه و اندام های خون ساز تأثیرگذار است (۴۳). پژوهش های انجام شده بر مشارکت کادمیوم در تکمیل سطوح O_2 ، H_2O_2 و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی و متعاقب آن ایجاد استرس اکسایشی تأکید داشته اند (۴۵). همچنین این مطالعات افزایش بیان $HIF-1\alpha$ را با شرکت در فعالیت میتوکندریایی، به ویژه تشکیل ROS در موقعیت هایپوکسی نشان داده اند (۴۵). در مطالعات مشخص شده است کادمیوم با مهار فعالیت آنزیم ها و مولکول های ضد اکسایشی موجب اختلال در عملکرد دستگاه دفاعی آنتی اکسیدانی و ایجاد استرس اکسایشی می شود (۴۶). از طرف دیگر، افزایش میزان تولید ROS، افزایش فعالیت $HIF-1\alpha$ را به همراه دارد (۴۷، ۴۸). بنابراین، کلرید کادمیوم از طریق استرس اکسایشی و تولید ROS می تواند موجب افزایش فعالیت $HIF-1\alpha$ شود (۲). با توجه به موارد ذکر شده، انتظار می رود کادمیوم با ایجاد استرس اکسایشی موجب افزایش سطوح پروتئین $HIF-1\alpha$ شده که این انتظار با داده های به دست آمده در این پژوهش مغایرت دارد. با توجه به داده های حاصله در تحقیق حاضر، پس از خوراندن کادمیوم به آزمودنی ها، در سطوح $HIF-1\alpha$ ریه نوزادان گروه کادمیوم در مقایسه با گروه پایه و کنترل، کاهش معنی داری مشاهده شد که این نتیجه با تأثیر جدی کادمیوم بر فرآیند اریتروپویز قابل توضیح است. تحقیقات نشان می دهد کادمیوم با توقف بیان ژن اریتروپویتین موجب وخیم شدن آئمی در بیماران کم خون می شود و از آنجایی که القای هایپوکسیک اریتروپویتین به فاکتور القایی هایپوکسی وابسته است، می توان حدس زد که کادمیوم می تواند فعالیت

References:

1. Mishra S, Dwivedi SP, Singh R. A Review on Epigenetic Effect of Heavy Metal Carcinogens on Human Health. *Open Nutraceuticals J* 2010;3:188-193.
2. Rana SV. Metals and Apoptosis: Recent Developments. *J Trace Elem Med Biol* 2008;22(4):262-284.
3. Höfer N, Diel P, Wittsiepe J, Wilhelm M, Gisela GH, Degen GH. Dose and Route-dependent Hormonal Activity of the Metalloestrogen Cadmium in the Rat Uterus. *Toxicol Lett* 2009;191(2-3):123-131.
4. Eteng MU, Onwuka FC, Umoh IB, Abolaji AO. Transgenerational Effects of Cadmium Toxicity on Gonadal Steroid Levels and Reproductive Outcome of Wistar Rats. *J Appl Sci Res* 2008;4(7):925-928.
5. Zeneli L, Daci N, Paçarizi H, Daci-Ajvazi M. Interaction between Cadmium and Calcium in Human Blood at the Smokers. *Am J Pharmacol Toxicol* 2010;5(1):48-51.
6. Goyer RA. Transplacental Transfer of Cadmium and Fetal Effects. *Fundam Appl Toxicol* 1991;16:22-23.
7. Ke Q, Costa M. Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 2006;70(5):1469-1480.
8. Koçak M, Akçıl E. The Effects of Chronic Cadmium Toxicity on the Hemostatic System. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2006;35(6):411-416.
9. Shimoda LA, Semenza GL. HIF and the Lung; Role of Hypoxia Inducible Factors in Pulmonary Development and Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183(2):152-156.
10. ACOG Committee Obstetric Practice. Exercise During Pregnancy and the Postpartum Period. *Obstet Gynecol* 2002;99(1):171-173.
11. Ingalls TH, Curley FJ. Principles Governing the Genesis of Congenital Malformations Induced in Mice by Hypoxia. *N Engl J Med* 1957;257(23):1121-1127.
12. Mooreab LG, Shriverc M, Bemisb L, Hicklera B, Wilsona M, Brutsaertd T, Parrace E, Vargasf E. Maternal Adaptation to High-altitude Pregnancy: An Experiment of Nature: A Review. *Placenta* 2004;25(Suppl A):60-71.
13. Lee YM, Jeong C, Kool S, Son MJ, Song HS, Bae S, Raleigh JA, Chung H, Yoo M, Kim K. Determination of Hypoxic Region by Hypoxia Marker in Developing Mouse Embryos in Vivo: A Possible Signal for Vessel Development. *Dev Dyn* 2001;220(2):175-186.
14. Gordan JD, Simon MC. Hypoxia-inducible Factors: Central Regulators of the Tumor Phenotype. *Curr Opin Genet Dev* 2007;17(1):71-77.
15. Lundby C, Gassmann M, Pilegaard H. Regular Endurance Training Reduces the Exercise Induced HIF-1α and HIF-2α mRNA Expression in Human Skeletal Muscle in Normoxic Conditions. *Eur J Appl Physiol* 2006;96(4):363-369.
16. Barański B, Stetkiewicz M, Trzcinka-ochocka K, Sitarek W, Szymczak. Teratogenicity, Fetal Toxicity and Tissue Concentration of Cadmium Administered to Female Rats during Organogenesis. *J Appl Toxicol* 1982;2(5):255-259.
17. Yalcin O, Bor-Kucukatay M, Senturk UK, Baskurt OK. Effects of Swimming Exercise on Red Blood Cell Rheology in Trained and Untrained Rats. *J Appl Physiol* 2000;88(6):2074-2080.
18. Matsumoto K, Ishihara K, Tanaka K, Inoue K, Fushiki T. An Adjustable-current Swimming Pool for the Evaluation of Endurance Capacity of Mice. *J Appl Physiol* 1996;81(4):1843-1849.
19. Cobrin M, Koski KG. Maternal Dietary Carbohydrate Restriction and Mildto-Moderate Exercise during Pregnancy Modify Aspects of Fetal Development in Rats. *J Nutr* 1995;125(6):1617-27.

20. Treadway JL, Lederman SA. The Effects of Exercise on Milk Yield, Milk Composition, and off Spring Growth in Rats. *Am J Clin Nutr* 1986;44(4):481-488.
21. Mottola M, Bagnall KM, Mcfadden KD. The Effects of Maternal Exercise on Developing Rat Fetuses. *Br J Sports Med* 1983;17(2):117-121.
22. Hopkins SA, Baldi JC, Cutfield WS, McCowan L, Hofman PL. Exercise Training in Pregnancy Reduces off Spring Size Without Changes in Maternal Insulin Sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(5):2080-2088.
23. Nishijo M, Nakagawa H, Honda R, Tanebe K, Saito S, Teranishi H, Tawara K. Effects of Maternal Exposure to Cadmium on Pregnancy Outcome and Breast Milk. *Occup Environ Med* 2002;59(6):394-397.
24. Ronco AM, Urrutia M, Montenegro M, Llanos MN. Cadmium Exposure During Pregnancy Reduces Birth Weight and Increases Maternal and Foetal Glucocorticoids. *Toxicology Letters* 2009;188(3):186-191.
25. Moulaei F, Mahdizadeh M, Noubakht MK, Parivar, Mohammadzadeh F. Quantitative Study of the Effect of Cadmium Chloride on the Rat Embryos Growth. *J Iranian Anatomical Sciences* 2003;1(3):9-13.
26. Arab A. The Effect of Maternal Endurance Swimming and Silymarin Supplement on HIF-1 Levels and Histometric Structure Changes in Lungs of Rat Pups Exposed to Cadmium Toxicity. [MSc Thesis]. Mazandaran: University of Mazandaran; 2011. [Text in Persian]
27. Rundqvist H. Skeletal Muscle Hif-1 and Exercise. [PhD Thesis]. Stockholm: Karolinska Institutet; 2008.
28. Vogt M, Puntchart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R, Hoppeler H. Molecular Adaptations in Human Skeletal Muscle to Endurance Training Under Simulated Hypoxic Conditions. *J Appl Physiol* 2001;91(1):173-182.
29. Schaible E, Boehringer A, Callau D, Nieß AM, Simon P. Exercise and Menstrual Cycle Dependent Expression of a Truncated Alternative Splice Variant of Hif1alpha in Leukocytes. *Exerc Immunol Rev* 2009;15:145-56.
30. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of Aerobic Exercise on Tumor Physiology in an Animal Model of Human Breast Cancer. *J Appl Physiol* 2010;108(2):343-348.
31. Koltai E, Szabo Z, Atalay M, Boldogh I, Naito H, Goto S, et al. Exercise Alters SIRT1, SIRT6, NAD and Nampt Levels in Skeletal Muscle of Aged Rats. *Mech Ageing Dev* 2010;131(1):21-28.
32. Lum JJ, Bui T, Gruber M, Gordan JD, DeBerardinis RJ, Covello KL, Simon MC, Thompson CB. The Transcription Factor HIF-1 α Plays a Critical Role in the Growth Factor-dependent Regulation of Both Aerobic and Anaerobic Glycolysis. *Genes Dev* 2007 May 1;21(9):1037-49.
33. Zoll J, Ponsot E, Dufour S, Doutreleau S, Ventura-Clapier R, Vogt M, et al. Exercise Training in Normobaric Hypoxia in Endurance Runners. III. Muscular Adjustments of Selected Gene Transcripts. *J Appl Physiol* 2006;100(4):1258-66.
34. Ookawara T, Suzuk K, Haga S, Ha S, Chung KS, Toshinai K, Hamaoka T, Katsumura T, Takemasa T, Mizuno M, Hitomi Y, Kizaki T, Suzuki K, Ohno H. Transcription Regulation of Gene Expression in Human Skeletal Muscle in Response to Endurance Training. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2002;111(1-4):41-54.
35. Ameln H, Gustafsson T, Sundberg CJ, Okamoto K, Jansson E, Poellinger L, Makino Y. Physiological Activation of Hypoxia Inducible Factor-1 in Human Skeletal Muscle. *FASEB J* 2005;19(8):1009-11.
36. Wiener CM, Booth G, Semenza GL. In vivo Expression of mRNAs Encoding Hypoxia-inducible Factor 1. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;225(2):485-488.
37. Yu AY, Shimoda LA, Iyer NV, Huso DL, Sun X, McWilliams R, Beaty T, Sham JS, Wiener CM, Sylvester JT, et al. Impaired Physiological Responses to Chronic Hypoxia in Mice Partially Deficient for Hypoxia Inducible Factor 1 α . *J Clin Invest* 1999;103(5):691-696.

38. BelAiba RS, Bonello S, Zähringer C, Schmidt S, Hess J, Kietzmann T, Görlach A. Hypoxia Up-Regulates HIF-1 Transcription by Involving PI-3 Kinase and NFKB in Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells. *Mol Biol Cell* 2007;18(12):4691.
39. Köhl R, Zhou J, Brüne B. Reactive Oxygen Species Attenuate Nitric-oxide-mediated Hypoxia-inducible Factor-1 α Stabilization. *Free Radical Biol Med* 2006;40(8):1430-1442.
40. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Cadmium. Draft for Public Comment. Atlanta Georgia: Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; 1999.
41. Wätjen W, Haase H, Biagioli M, Beyersmann D. Induction of Apoptosis in Mammalian Cells by Cadmium and Zinc. *Environ Health Perspect* 2002;110(5):865-867.
42. Järupa L, Åkesson A. Current Status of Cadmium as an Environmental Health Problem. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009;238(3):201-208.
43. Kippler M, Hoque AM, Raqib R, Ohrvik H, Ekström EC, Vahter M. Accumulation of Cadmium in Human Placenta Interacts with the Transport of Micronutrients to the Fetus. *Toxicol Lett* 2010;192(2):162-168.
44. Wlodarczyk B, Minta M, Biernacki B, Szkoda J, Żmudzki J. Selenium Protection Against Cadmium Toxicity in Hamster Embryos. *Pol J Environ Stud* 2000;9(4):323-327.
45. Vaux EC, Metzen Yeates E KM, Ratcliffe PJ. Regulation of Hypoxia-inducible Factor Is Preserved in the Absence of a Functioning Mitochondrial Respiratory Chain. *Blood* 2001;98(2):296-302.
46. Panjehpour M, Bayesteh M. The Cytotoxic Effects of Cadmium Chloride on the Human Lung Carcinoma (Calu-6) Cell Line. *Res Pharm Sci* 2008;3(2):113-117.
47. Daston GP, Grabowski CT. Toxic Effects of Cadmium on the Developing Rat Lung. I. Altered Pulmonary Surfactant and the Induction of Respiratory Distress Syndrome. *J Toxicol Environ Health* 1979;5(6):973-983.
48. Ross KA. Lung Development in Newborn Guinea Pigs and the Effects of Endurance Exercise. Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science. Simon Fraser University; 1984.
49. Chun YS, Choi E, Kim GT, Choi H, Kim CH, Lee MJ, Kim MS, Park JW. Cadmium Blocks Hypoxia-inducible Factor (HIF)-1-mediated Response to Hypoxia by Stimulating the Proteasome-dependent Degradation of HIF-1 α . *Eur. J Biochem* 2000;267(13):4198-4204.