• **مقاله تحقیقی**

بررسی سطح اینترلوکین-۶ و سلول‌های التهابی ریه پس از اجرای یک دوره تمرینات تناوبی شدید و اقامت در محیط هایپوکسی

مهدی یادگاری[۱]، *سیمین ریاحی[۲]، شادمهر میردار[۳]، غلامرضا حمیدیان[۴]، پریناز مصدق[۵]

چکیده

مقدمه: به‌نظر می‌رسد اثر تمرینات ورزشی بر ارتقای عملکرد جسمانی همیشه با تأثیرات مفید بر ارگان‌های داخلی بدن همراه نیست. تاکنون تأثیر تمرینات تناوبی شدید و هایپوکسی پس از آن، بر پارانشیم ریه بررسی نشده است. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر هایپوکسی مزمن به‌دنبال یک دوره تمرین تناوبی شدید بر میزان التهاب ریه بود.

روش بررسی: ۲۴ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار (سن ۴ هفته، وزن ۴±۷۱ گرم) به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: کنترل ۶ هفته (n=۶)، تمرین ۶ هفته (n=۶)، کنترل ۹ هفته (n=۶) و گروه تعامل تمرین وهایپوکسی (n=۶). برنامه تمرین ورزشی (دویدن بر روی نوارگردان) با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه شروع و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه در پایان دوره خاتمه پذیرفت. در هر جلسه تمرین، رت‌ها به اجرای ۱۰ تکرار دویدن شدید با مراحل استراحت ۲ دقیقه‌ای در بین تکرارها پرداختند و نسبت مرحله کار- استراحت ۱ به ۲ بود. پس از ۶ هفته تمرین تناوبی، رت‌ها در محیط هایپوکسی قرار داده شدند و به مدت۳ هفته در آن جا نگهداری شدند. در پایان، جهت انجام آزمایش‌های ایمونوهیستوشیمیایی و استریولوژی بافت ریه خارج گردید.

یافته‌ها: در گروه تمرین ۶ هفته و گروه تعامل تمرین و هایپوکسی، میزان بافت لنفوئیدی اطراف برونش و برونشول، جمعیت ماکروفاژ و IL-6 نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین پس از ۳ هفته قرارگیری در محیط هایپوکسی حجم فت لنفوئیدی اطراف برونش، جمعیت ماکروفاژ ($p<۰/۰۰۱$) و IL-6 ($p=۰/۱۹۸$) نسبت به گروه تمرین ۶ هفته افزایش یافت.

بحث و نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد یک دوره تمرین تناوبی شدید احتمالاً می‌تواند بافت ریه را ملتهب کند. همچنین احتمالاً قرارگیری در معرض هایپوکسی مزمن سبب تشدید اثرات التهابی تمرین شدید می‌شود.

کلمات کلیدی: تمرین ورزشی، التهاب، هایپوکسی، ریه، ماکروفاژ

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، بابلسر، ایران، دانشگاه مازندران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی

۲. دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، تهران، ایران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده طب هوافضا و زیر سطحی (*مؤلف مسئول)

riahy_simin@yahoo.com

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

۴. استادیار، تبریز، ایران، دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

۵. کارشناس ارشد، تهران، ایران، دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی

فصلنامه علمی پژوهشی ابن سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهاجا (سال هجدهم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۵، مسلسل ۵۶)

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۹

مقدمه

ریه و مجاری دستگاه تنفسی از جمله بافت‌هایی هستند که تحت تأثیر تمرینات ورزشی شدید، در معرض آسیب ناشی از سطح بالای اکسیژن قرار گرفته و احتمال آسیب در آنها وجود دارد [۱، ۲]. در اکثر پژوهش‌ها، آسیب مجاری تنفسی فوقانی با تمرینات ورزشی شدید مورد بررسی قرار گرفته است [۱] اما تاکنون به آسیب مجاری تنفسی تحتانی و بافت پارانشیم ریه توسط تمرینات شدید توجه نشده است. فعالیت‌های ورزشی شدید سبب تحریک بیان اینترلوکین‌های پیش التهابی می‌شوند که اینترلوکین-۶ یکی از قوی‌ترین آنهاست [۲]. گزارش شده IL-6 [1] به فراخوانی سلول‌های التهابی و بیان سایر فاکتورهای پیش التهابی در ریه کمک می‌کند. افزایش غیرطبیعی در بیان این پروتئین، ریه را به سمت ابتلا به التهاب سوق می‌دهد [۳، ۴]. در مورد تأثیر تمرینات ورزشی شدید بر بیان IL-6 بافت ریه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. لذا مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به‌نظر می‌رسد و نتایج چنین مطالعاتی احتمالاً بتواند پاسخگوی برخی سؤالات در زمینه تجویز پروتکل‌های تمرینی سالم برای کارکنان نظامی، ورزشکاران تیم‌های ورزشی و بیماران دارای نارسایی‌های تنفسی باشد.

از سوی دیگر افراد زیادی همچون نیروهای نظامی و ورزشکاران نخبه، به‌دلایل مختلفی همچون انجام مأموریت‌های مربوطه یا افزایش آمادگی هوازی (قلبی- تنفسی) به اقامت و یا تمرین در محیط‌های مرتفع با فشار سهمی اکسیژن پایین (هایپوکسی[2]) رو می‌آورند [۵، ۶]. هایپوکسی به موقعیت‌هایی اطلاق می‌شود که هموستاز اکسیژن بافتی را به مخاطره می‌اندازد [۷]. هایپوکسی به‌طور مستقیم بیان اینترلوکین‌ها و پیام رسان‌های درون سلولی پیش التهابی را تغییر می‌دهد و تعداد سلول‌های التهابی فراخوان شده به بافت را تنظیم می‌کند که از مهم‌ترین این سلول‌ها در واکنش‌های التهابی مزمن ماکروفاژها[3] هستند [۸]. گزارش شده حضور پر شمار و طولانی مدت ماکروفاژ در موضع از علائم بالینی التهاب مزمن به‌شمار می‌رود [۹]. از آنجا که ریه یک ارگان حیاتی برای تبادل گاز است، التهاب آن می‌تواند تهدید کننده سلامت باشد. حجم بافت لنفوئیدی اطراف برونش و برونشول (BALT[4]) از دیگر شاخص‌های التهابی ریه است که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. تشکیل BALT با طیف وسیعی از بیماری‌های التهابی مزمن، عفونت و بیماری‌های خود ایمن[5] در ارتباط است [۱۰]. ارتفاعات ۱۵۰۰ متر یا بیشتر اثرات فیزیولوژیکی قابل توجهی بر بدن انسان وارد می‌آورد که شناخت آنها ضروری به‌نظر می‌رسد [۱۱]. بررسی ادبیات پژوهش نشان می‌دهد که به تأثیر هایپوکسی طولانی‌مدت بر تعداد سلول‌های التهابی و بیان IL-6 در ریه سالم کمتر توجه شده است و اطلاعات موجود در این زمینه محدود است. ویرا[6] و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی تأثیر تمرین زیر بیشینه هوازی بر التهاب ریه نمونه‌های قرار گرفته در معرض ماده حساسیت‌زای ریوی (DEP[7]) پرداختند. یافته‌ها نشان داد ۵ هفته تمرین هوازی موجب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، کاهش بیان IL-6، TNF-α و همچنین کاهش حضور سلول‌های نوتروفیل در مایع لاواژ ریه شد [۱۲]. چاوو و همکاران[8] (۲۰۱۱) در مطالعه مروری خود گزارش کردند هایپوکسی آلوئولار به‌عنوان یک نتیجه از کاهش PO_2 زیستی در حبابچه‌ها، در ارتفاعات یا در وضعیت‌های بالینی مانند بیماری‌های ریوی رخ می‌دهد که ناشی از کاهش تهویه حبابچه‌ای به‌طور سراسری یا ناحیه‌ای است. در اکثر موارد یک جزء التهابی در پاسخ به هایپوکسی حاد یا مزمن آلوئولی به‌عنوان اثر سیستمیک مشاهده می‌شود.

1. Interleukin-6
2. hypoxia
3. Macrophages
4. Bronchus associated lymphoid tissue
5. autoimmune disease
6. vieira
7. diesel exhaust particles
8. Chao

شواهد تجربی نشان داده‌اند که قرارگیری در معرض هایپوکسی حاد سبب پاسخ‌های التهابی گسترده سیستمیک در رت‌ها می‌شود [۱۳].

بررسی‌ها نشان می‌دهد که در تمامی مطالعات، مداخله هایپوکسی کمتر از یک هفته بوده و اطلاعات در رابطه با تأثیر هایپوکسی طولانی مدت بر التهاب ریه محدود است. همچنین تاکنون گزارشی در ارتباط با اثرات هایپوکسی در ورزشکارانی که پس از تمرینات شدید ورزشی به ارتفاعات عزیمت می‌کنند مشاهده نشده است. با توجه به شیوع استفاده از تمرینات تناوبی شدید و قرارگیری در شرایط هایپوکسی توسط ورزشکاران نخبه و کارکنان نظامی، هدف محققین در این پژوهش بررسی تأثیر این نوع از تمرینات ورزشی و هایپوکسی طولانی‌مدت بر شاخص‌های التهابی ریه بود.

روش بررسی

نمونه‌های پژوهش حاضر ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (سن ۴ هفته، میانگین وزنی ۴± ۷۱ گرم) بودند که به‌صورت همگن‌سازی وزنی و تصادفی به تعداد ۶ سر در گروه‌های ۴ گانه پژوهش شامل کنترل ۶ هفته، کنترل ۹ هفته، تمرین تناوبی ۶ هفته و گروه تعاملی تمرین-هایپوکسی ۹ هفته (۶ هفته تمرین+۳ هفته هایپوکسی) تقسیم شدند. نمونه‌ها از نظر سلامت بدنی کاملاً سالم و هیچ‌گونه سابقه بیماری نداشتند. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه، به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط جدید، به‌صورت گروه‌های ۴ تایی در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵٪ و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. یک هفته نیز با نحوه دویدن بر روی نوارگردان آشنا شدند. در طول دوره پژوهش غذای استاندارد پلت و آب به‌صورت آزاد در اختیار نمونه‌ها قرار گرفت.

تمرین تناوبی شدید فزاینده به‌مدت ۶ هفته و به‌صورت ۵ جلسه در هفته برگزار شد. هر جلسه به‌صورت ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای کار و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای انجام می‌شد به‌گونه‌ای که سرعت استراحت نصف سرعت دویدن بود و کل تمرین روزانه برای هر رت ۳۰ دقیقه طول می‌کشید. برنامه تمرین با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه شروع و با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه در پایان هفته ششم پایان پذیرفت (جدول ۱) [۱۴]. پس از پایان مرحله اول پژوهش (تمرین تناوبی شدید فزاینده ۶ هفته‌ای)، مرحله دوم پژوهش که القای هایپوکسی بود اجرا شد. این مرحله سه هفته بود به‌گونه‌ای که نمونه‌های گروه تمرین پس از ۶ هفته تمرین تناوبی وارد محیط هایپوکسی شدند و در اتاقک کم فشار[1] در ارتفاع شبیه‌سازی شده معادل ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ متر به‌مدت ۳ هفته به‌طور شبانه روز زندگی کردند و جز در موارد تمیز کردن و جایگزینی آب و غذا از اتاقک خارج نشدند.

جدول ۱- برنامه ٦ هفته‌ای تمرین تناوبی شدید فزاینده

	هفته						
	ابتدا	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
سن (هفته)	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
سرعت دویدن (m/min)	۱۰-	۲۵-	۳۵-	۴۵ -	۵۵-	۶۵-	۶۵-
	۲۵	۳۵	۴۵	۵۵	۶۵	۷۰	۷۰
زمان هر تکرار (min)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
استراحت بین دورها (min)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تعداد دور	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تواتر در هفته	۴	۵	۵	۵	۵	۵	۵

نمونه‌گیری بافتی از ریه رت‌ها طی ۲ مرحله یعنی ۴۸ ساعت پس از اتمام دوره تمرین تناوبی و ۴۸ ساعت پس از اتمام دوره قرارگیری در معرض هایپوکسی انجام شد (در انتهای هفته ششم و نهم). برای این منظور با تزریق ۳ واحد محلول کتامین[2] (۵۰-۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین[3] (۵-۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) رت‌ها بیهوش و بلافاصله بافت ریه خارج و در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. پس از ۵ روز از تثبیت بافتی، با استفاده از روش اورینتیتور[4] و رعایت

1. Hypoxic chamber
2. Ketamine
3. Xylazine
4. Orientator method

اصول IUR[1]، برش‌هایی از بافت ریه تهیه و با انجام مراحل پاساژ (با استفاده از دستگاه اتوماتیک هیستوکینت مدل ۲۰۰۰ ساخت شرکت لایکا[2]) و آماده‌سازی قالب‌های پارافینی، با استفاده از دستگاه میکروتوم[3] دورانی مدل ۸۲۰، برش‌های متوالی به ضخامت ۲۰ میکرومتر جهت مطالعات استریولوژی تهیه و با روش استاندار با رنگ هماتوکسیلین-ائوزین[4] (H&E) مورد رنگ آمیزی قرار گرفت [۱۵] و میزان BALT و جمعیت ماکروفاژ ریوی در ریه چپ تخمین زده شد [۱۶]. کلیه مطالعات استریولوژیک با روش شکست نوری[5] و با استفاده از میکروسکوپ متصل به میکرو اریتور[6]، دوربین و سیستم تمام دیجیتال و نسخه شماره ۹ نرم افزار استریو-اینوستیگیتور[7] انجام انجام شد.

تکنیک ایمونوهیستوشیمی به روش انویژن[8] و با استفاده از آنتی بادی اختصاصی IL-6 کد ab9530 ساخت شرکت Abcam انجام شد. به‌طور خلاصه پس از تهیه برش‌های پارافینی و قرار دادن آنها بر روی لام‌های سیالینه شده[9] کد S3003 شرکت Dako [10] و طی مراحل پارافین‌زدایی با گزیلول و آبدهی با غلظت‌های نزولی الکل، مرحله بازیابی آنتی‌ژن[11] با استفاده از بافر Tris/EDTA و مایکروویو انجام شد. بعد از شستشو و آماده سازی[12] با محلول ۳٪ پراکسید هیدروژنه در متانول و شستشو با محلول بافر فسفات و تعیین محدوده برش با قلم داکو، آنتی بادی اولیه به بافت اضافه شد و پس از تیمار با پلیمر لیبل شده با پراکسیداز، سطح برش با محلول کروموژن DAB و سوبسترای آن پوشانده شد. بعد از شستشوی کامل و رنگ آمیزی افتراقی با هماتوکسیلین، اسلایدها مونته شده با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند [۱۷]. سپس با استفاده از دوربین از هر اسلاید میکروسکوپیک ۵ فیلد مختلف انتخاب و تصویربرداری صورت گرفت و در نهایت تصاویر برای بررسی کیفیت واکنش با نسخه ۱/۴۹ نرم افزار ImageJ مورد آنالیز قرار گرفتند. در نهایت بیان IL-6 به‌صورت درصدی از جمعیت کل بیان شد [۱۸].

برای تجزیه و تحلیل یافته‌های پژوهش از آمار توصیفی، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد.کلیه محاسبات با استفاده از نسخه ۲۱ نرم افزار آماری SPSS انجام شد و $p<۰/۰۵$ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۲- نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه گروه‌های پژوهش برای وضعیت BALT، جمعیت ماکروفاژ و میزان IL-6 بافت ریوی

	آماره	مجموع‌مربعات	درجات‌آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	مقدار p
BALT	بین گروهی	۶۳۴۰۵۹/۳۶	۳	۲۱۱۳۵۳/۷۸	۱۸/۳۰	۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۸۵۱/۹۴	۲۰	۴۲/۲۴		
	مجموع	۶۳۴۹۱۱/۳۰	۲۳			
جمعیت ماکروفاژ ریوی	بین گروهی	۱۲۹۹/۹۸	۳	۴۳۳/۹۱	۱۳/۶۱	۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۱۶/۸۴	۲۰	۰/۸۰۱		
	مجموع	۱۳۱۵/۸۲	۲۳			
میزان IL-6 بافت ریوی	بین گروهی	۱۰۰۳/۱۴	۳	۳۳۴/۷۱	۲۶/۳۱	۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۶۰/۲۱	۲۰	۳/۷۵		
	مجموع	۱۰۶۳/۱۴	۲۳			

یافته‌ها

نتایج تحلیل آماری نشان داد (جدول ۲ و ۳) پروتئین

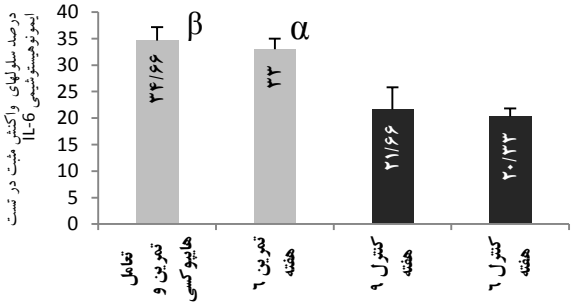
جدول ۳- مقایسه جفتی گروه‌های ٤ گانه تحقیق با استفاده از آزمون تعقیبی بونفرونی در مورد وضعیت BALT، جمعیت ماکروفاژ و IL-6 ریوی

	سطح معناداری در گروه‌های جفتی	کنترل ٦ هفته	کنترل ٩ هفته	تمرین ٦ هفته	تعامل تمرین و هایپوکسی
وضعیت BALT	**کنترل ٦ هفته**	–	–	۰/۰۰۱	-
	کنترل ٩ هفته	–	–	–	۰/۰۰۱
	تمرین ٦ هفته	۰/۰۰۱	–	–	۰/۰۰۱
	تعامل تمرین و هایپوکسی	–	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	–
جمعیت ماکروفاژ ریوی	**کنترل ٦ هفته**	–	–	۰/۰۰۱	–
	کنترل ٩ هفته	–	–	–	۰/۰۰۱
	تمرین ٦ هفته	۰/۰۰۱	–	–	۰/۰۰۱
	تعامل تمرین و هایپوکسی	–	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	–
IL-6 ریوی	**کنترل ٦ هفته**	–	–	۰/۰۰۱	–
	کنترل ٩ هفته	–	–	–	۰/۰۰۱
	تمرین ٦ هفته	۰/۰۰۱	–	–	۰/۱۹۸
	تعامل تمرین و هایپوکسی	–	۰/۰۰۱	۰/۱۹۸	–

1. Isotropic Uniformly Random Sampling
2. Leica
3. Microtome
4. Hematoxylin and Eosin
5. Optical Fractionator
6. Micro-aerator
7. Stereo- investigator
8. Envision method
9. silanized
10. Dako
11. antigen retrival
12. pretreatment

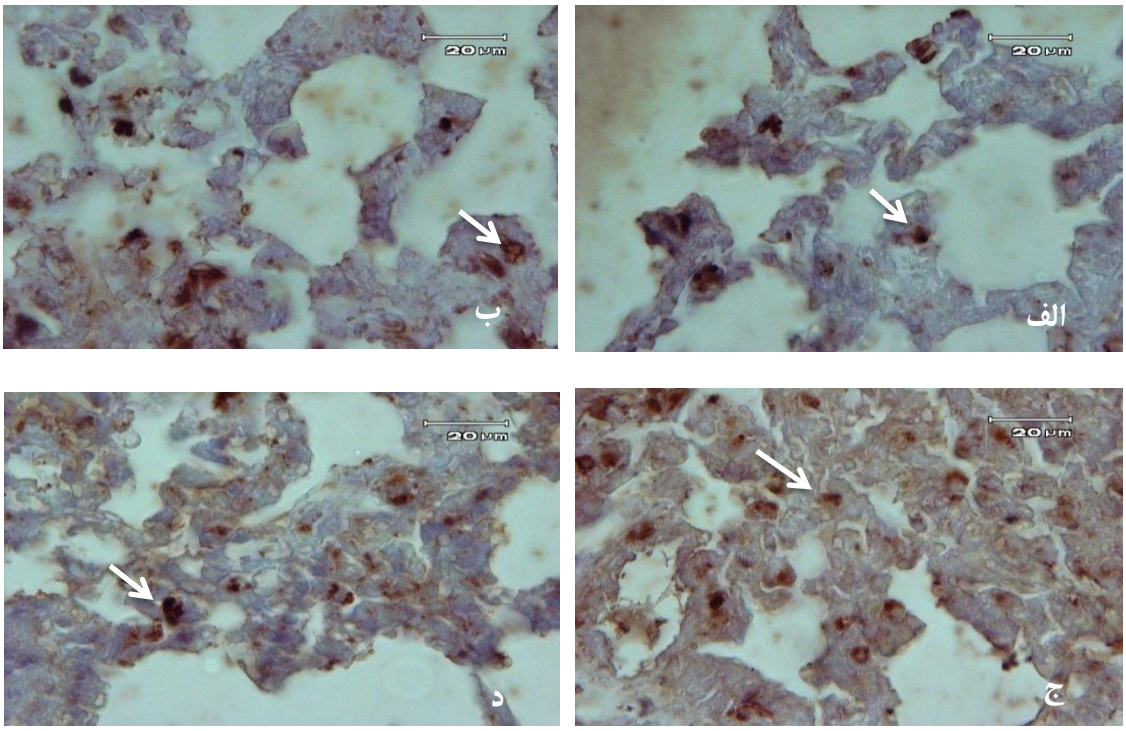
IL-6 ریوی در گروه تمرین ۶ هفته به میزان ۶۲/۳۲٪ نسبت به گروه کنترل ۶ هفته افزایش پیدا کرده است (p<۰/۰۵). در گروه تعامل تمرین و هایپوکسی، سطح IL-6 ریوی به میزان ۶۰/۰۱٪ نسبت به گروه کنترل ۹ هفته‌ای افزایش پیدا کرد (p<۰/۰۵). همچنین ۳ هفته قرارگیری در محیط هایپوکسی متعاقب ۶ هفته تمرین تناوبی، سبب افزایش ۵/۰۳ درصدی IL-6 ریوی نسبت به گروه تمرین تناوبی ۶ هفته‌ای شد (p=۰/۱۹۸)، (نمودار ۱، شکل ۱).

همچنین مشخص شد میزان BALT ریوی در گروه تمرین ۶ هفته به میزان ۴۷ برابر نسبت به گروه کنترل ۶ هفته افزایش پیدا کرده است (p<۰/۰۵). یافته‌ها نشان داد در گروه تعامل تمرین و هایپوکسی، BALT ریوی به میزان ۸۰ برابر نسبت به گروه کنترل ۹ هفته‌ای افزایش پیدا کرد (p<۰/۰۵). علاوه بر این یافته‌ها حاکی از آن بود که ۳ هفته قرارگیری در محیط هایپوکسی متعاقب ۶ هفته تمرین تناوبی سبب ۲۸٪ افزایش BALT ریوی نسبت به گروه تمرین تناوبی ۶ هفته‌ای شد (p<۰/۰۵). (نمودار ۲، شکل ۲).



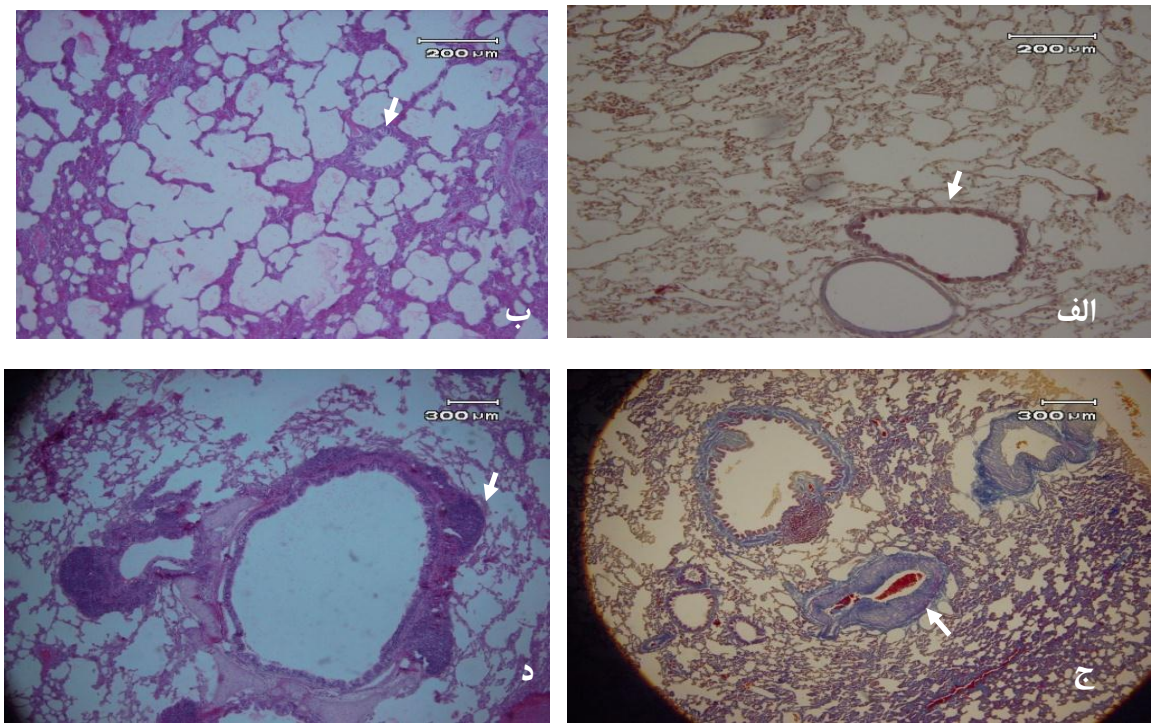
نمودار ۱- میانگین سطح پروتئین IL-6 ریوی در گروههای چهارگانه
α نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به کنترل ٦ هفته.
β نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به کنترل ۹ هفته.
داده ها بر حسب میانگین و انحراف استاندارد و با مقیاس درصد گزارش شده است

همین‌طور مشخص شد که جمعیت ماکروفاژ ریوی در گروه تمرین ۶ هفته به میزان ۴۳٪ نسبت به گروه کنترل ۶ هفته افزایش پیدا کرده است (p≤۰/۰۵). در گروه تعامل تمرین و هایپوکسی، جمعیت ماکروفاژ ریوی به میزان ۱۴۱/۱۱٪ نسبت به گروه کنترل ۹ هفته‌ای افزایش پیدا کرد (p≤۰/۰۵). همچنین ۳ هفته قرارگیری در محیط هایپوکسی متعاقب ۶ هفته تمرین تناوبی، سبب ۶۴/۲۹ ٪ افزایش در جمعیت ماکروفاژ ریوی نسبت به گروه تمرین تناوبی ۶ هفته‌ای شد (p≤۰/۰۵). (نمودار ۳، شکل ۳).



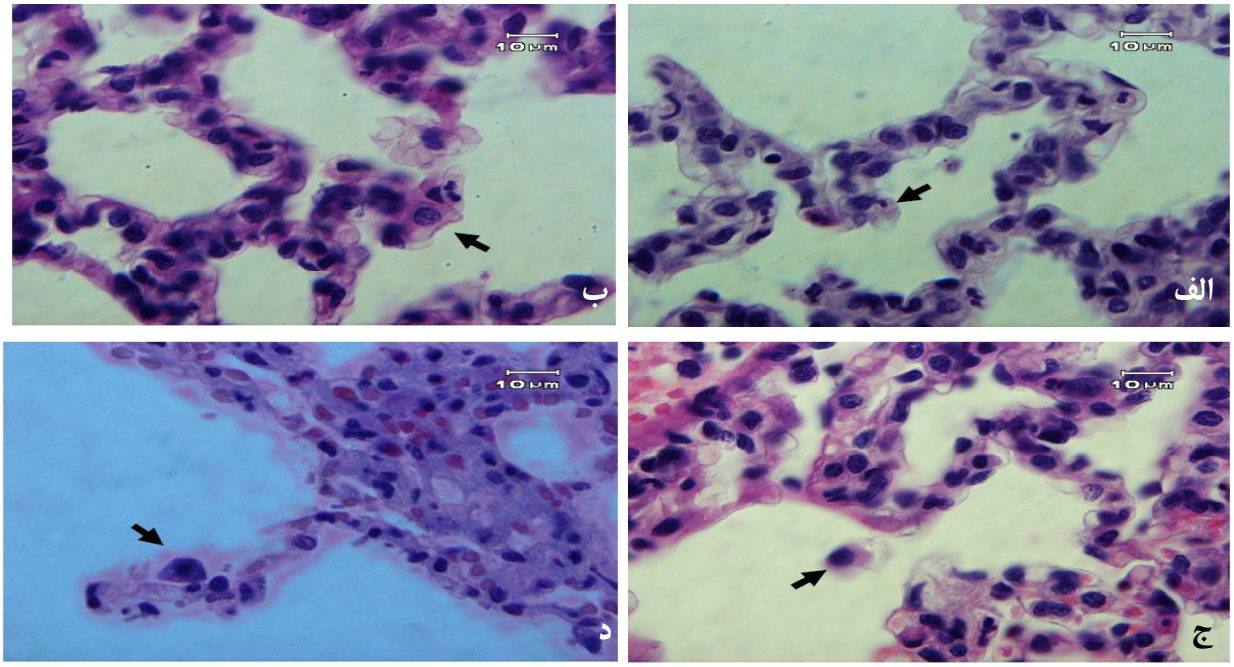
شکل ۱- بررسی ایمونوهیستوشیمیایی سطوح پروتئین IL-6 در برونشیول و آلوئول

محاسبات بر اساس درصد سلولهای دارای واکنش مثبت در ۱۰۰ درصد جمعیت سلولی با نسخه ۱/۴۹نرم افزار ImageJ می‌باشد. پیکان موجود اشاره به سلولهایی دارد که واکنش مثبت داشته و به رنگ قهوه ای قابل مشاهده می‌باشند. تراکم طبیعی در تصاویر الف و ب و بیان بالا و غیر طبیعی در تصاویر ج و د قابل مشاهده است.
(الف. کنترل ٦ هفته؛ ب. کنترل ۹ هفته؛ ج. تمرین ٦ هفته؛ د. تعامل تمرین و هایپوکسی)



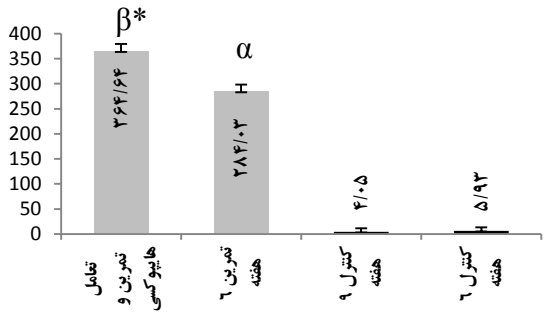
شکل ۲- بررسی وضعیت BALT اطراف برونش و برونشول ریوی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین

اندازه گیری با مطالعات استریولوژیک با روش اوپتیکال فراکشنیتور و با استفاده از میکروسکوپ متصل به میکرواریتور، دوربین و سیستم تمام دیجیتال و نسخه شماره ۹ نرم افزار Stereo- investigator در مقیاس mm^3 صورت گرفته است. پیکان موجود اشاره به تجمع BALT در بافت همبندی اطراف برونش و برونشیول دارد. وضعیت طبیعی بافت همبندی اطراف برونش و برونشیول در تصویر الف و ب و تجمع بیش از حد طبیعی سلول‌های BALT در تصاویر ج و د قابل مشاهده است.
(الف. کنترل ٦ هفته؛ ب. کنترل ۹ هفته؛ ج. تمرین ٦ هفته؛ د. تعامل تمرین و هایپوکسی)



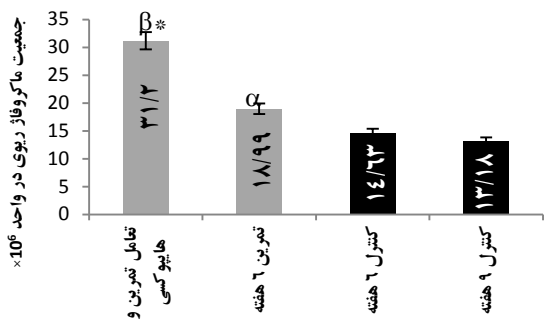
شکل ۳- وضعیت پراکنش ماکروفاژهای اطراف برونشیول و حبابچه ریوی

رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ×۱۰۰. اندازه گیری با مطالعات استریولوژیک با روش شکست نوری و با استفاده از میکروسکوپ متصل به میکرواریتور، دوربین و سیستم تمام دیجیتال و نسخه شماره ۹ نرم افزار Stereo- investigator در مقیاس 10^6 صورت گرفته است. پیکان موجود اشاره به سلولهای ماکروفاژ دارد و با رنگ بنفش قابل مشاهده هستند. تراکم طبیعی در تصاویر الف و ب و حضور بیش از حد طبیعی ماکروفاژ در تصاویر ج و د قابل مشاهده است.
(الف. کنترل ٦ هفته؛ ب. کنترل ۹ هفته؛ ج. تمرین ٦ هفته؛ د. تعامل تمرین و هایپوکسی)



نمودار ۲- میانگین وضعیتBALT ریوی در گروههای پژوهش

α نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به کنترل ٦ هفته.
β نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به کنترل ۹ هفته.
* نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به تمرین ٦ هفته.
داده ها بر حسب میانگین و انحراف استاندارد و در مقیاس mm^3 گزارش شده است.



نمودار ۳- میانگین جمعیت ماکروفاژ ریوی در گروه های مختلف

α نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به کنترل ٦ هفته.
β نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به کنترل ۹ هفته.
* نشان دهنده تفاوت معنادار نسبت به تمرین ٦ هفته.
داده ها بر حسب میانگین و انحراف استاندارد و در در مقیاس $۱۰^{٦}$ گزارش شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه در این پژوهش اجرای یک دوره تمرین تناوبی شدید سبب افزایش معنادار سطوح BALT، جمعیت ماکروفاژ و پروتئین IL-6 ریوی شد. همچنین قرارگیری در معرض هایپوکسی مزمن پس از دوره ۶ هفته‌ای تمرینات تناوبی شدید، افزایش معنادار BALT و جمعیت ماکروفاژ نسبت به گروه تمرین تناوبی را در پی داشت در صورتی که افزایش IL-6 در این گروه غیرمعنادار بود. این یافته‌ها با نتایج پژوهش های بنتی[1] (۲۰۰۴)، نیمن[2] (۲۰۰۰)، باربری[3] (۲۰۰۹) و (۲۰۰۹) و مولدوونو[4] (۲۰۰۹) همسو است [۲۲-۱۹]. سازوکارهایی که در بروز التهاب و عفونت‌های تنفسی ورزشکاران دخالت دارند هنوز به درستی شناخته نشده‌اند. البته در این مورد فرضیات متعددی وجود دارد. تهویه شدید حین ورزش‌های طولانی بر غشاء مخاطی مجرای تنفسی فوقانی که در معرض هوا هستند، تأثیر مخرب دارد. دیده شده چند روز بعد از دوی مارتن، عملکرد مخاط در تصفیه و مرطوب‌سازی هوا به مقدار قابل توجهی کاهش می‌یابد [۲۳]. اختلالات ایمنی ناشی از ورزش زمانی بارزتر می‌شوند که مدت زمان ورزش طولانی شود، شدت ورزش افزایش یابد و یا تمرین ورزشی با تغذیه مناسب همراه نباشد [۲۳، ۲۴]. از سویی فعالیت‌های ورزشی شدید عاملی برای بیش فعال سازی پاسخ‌های ایمنی به‌شمار می‌روند که در طی آن سطح سایتوکاین‌ها و تعداد لکوسیت‌های گردش خون افزایش می‌یابد که با افزایش واکنش‌های کاتابولیکی نسبت به واکنش‌های آنابولیکی همراه است و بر هم خوردن تعادل هموستاز سیستم ایمنی را در پی دارد [۲۰]. تولید گرما حین تمرینات ورزشی شدید سبب عبور عوامل بیماری‌زا از سد ایمنی ذاتی بدن شده و ممکن است آسیب بافتی را در پی داشته باشد [۱۹، ۲۱]. در چنین وضعیتی حضور سلول‌های ماکروفاژ از اهمیت زیادی برخوردار است. این سلول‌ها قادرند ذرات باکتری، ذرات موجود در هوا، سورفکتانت و اجزای نکروز شده خارج سلولی را تشخیص دهند و فاگوسیتوز کنند. ماکروفاژها با ترشح سایتوکاین‌ها، سلول‌های التهابی را به سوی ریه فراخوان می‌کنند [۱۹]. در پژوهش حاضر، احتمال می‌رود با وجود فزاینده بودن برنامه تمرینی تناوبی، زمان کافی جهت ریکاوری به ریه داده نشده تا مکانیسم‌های ایمنی، ریه را به حالت طبیعی برگرداند، لذا التهاب ریوی افزایش پیدا کرده است. از آنجا که ریه ارگان حیاتی برای تبادل گاز است، التهاب بیش از حد آن می‌تواند تهدید کننده سلامت باشد [۲۵]. در بین سلول‌های التهابی فراخوانده شده به بافت ملتهب ریه، ماکروفاژ و نوتروفیل از عملکرد قدرتمندی در گسترش التهاب و تغییر

1.Benedetti
2.Nieman
3.Barberi
4.Moldoveanu

ساختار برخوردار هستندکه در نتیجه آن ساختار و ظرفیت عملکردی مسیرهای هوایی و آلوئول‌ها دچار آسیب می‌شود [۲۶، ۲۷].

در پژوهش حاضر، افزایش معنادار بیان پروتئین IL-6 ریوی پس از ۶ هفته تمرین تناوبی شدید دیده شد. تاکنون پژوهشی که به بررسی تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر بیان پروتئین IL-6 بافت ریه پرداخته باشد صورت نگرفته است. IL-6 سایتوکاینی است که هم در ایمنی اکتسابی و هم در ایمنی ذاتی نقش دارد. همچنین در سنتز پروتئین‌های مرحله حاد، هپاتوسیت‌ها را تحریک می‌کند و منجر به ایجاد آثار انتشاری التهاب (پاسخ حاد) می‌شود و در ایمنی اکتسابی رشد لنفوسیت β را تحریک کرده و سبب تمایز آنها به سلول‌های تولید کننده آنتی بادی (پلاسما سل) می‌شود [۲۸، ۲۹]. IL-6 یکی از مهم‌ترین محرک‌های تولید پروتئین‌های مرحله حاد در پاسخ به تحریکات مختلف از جمله استرس‌های ورزشی است [۳۲-۳۰]. در توضیح یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان گفت که فعالیت ورزشی شدید استرس‌زا است و می‌تواند سنتز سایتوکاین‌های پیش التهابی همچون TNF-α، IL-1β و IL-6 را تحریک کند. مخالف با یافته پژوهش حاضر، پژوهش‌های بسیاری کاهش IL-6 بعد از اجرای یک دوره تمرین ورزشی منظم راگزارش کرده‌اند [۳۶-۳۳]. در تفسیر این تضاد باید به مهم‌ترین وجه اختلافی برنامه تمرینی حاضر با برنامه تمرینی پژوهش‌های مذکور اشاره کرد. به‌عبارتی در پژوهش‌های گذشته از پروتکل‌های با شدت زیر بیشینه و یا متوسط استفاده شده بود، در حالی که در پژوهش حاضر شدت فعالیت ورزشی در طی ۶ هفته، بالای متوسط و پیشرونده بود. بنابراین می‌توان گفت که بالا بودن سطح IL-6 در پژوهش حاضر احتمالاً ناشی از شدت بالای تمرین ورزشی بوده است که با توجه به مبانی نظری می‌تواند شاخصی از وجود شرایط التهابی در بافت حساس ریوی باشد [۳۰، ۳۷].

در پژوهش حاضر افزایش تعداد ماکروفاژهای ریوی مشاهده شد. با توجه به اینکه در مطالعات گذشته عنوان شده است که سلول‌های سفید خون مخصوصاً ماکروفاژها از منابع مهم ترشح سایتوکاین‌ها از جمله IL-6 هستند [۲۸، ۲۹]، احتمالاً حضور سلول‌های التهابی در اثر ورزش در بافت ریه می‌تواند یکی دیگر از دلایل افزایش IL-6 در این بافت باشد که در پژوهش حاضر نیز رخ داد. هنگام اجرای تمرینات شدید، لایه‌های پوششی دستگاه تنفس به‌طور مستقیم در معرض هوای بیرون قرار می‌گیرند و پر تهویه‌ای سبب اعمال تنش مکانیکی بر این بافت‌ها می‌شود که سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و بیان اینترلوکین‌های پیش التهابی می‌شود. به‌نظر می‌رسد یک تعامل متقابل میان استرس اکسایشی و التهاب وجود دارد [۲۲، ۳۸]. NF-kB [1] از واسطه‌های مهمی است که رادیکال‌های آزاد از طریق آن بر بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی تأثیر می‌گذارند. رادیکال‌های آزادی که در طول ورزش تولید می‌شوند مسیرهایی را فعال می‌کنند که توانایی القاء تولید سایتوکاین‌ها در سلول‌های گوناگون را دارند. نشان داده شده است که تولید IL-6 تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد [۳۹].

افزایش شاخص‌های التهابی پژوهش حاضر پس از ۳ هفته اقامت در هایپوکسی نسبت به تمرین ۶ هفته تناوبی و گروه کنترل ۹ هفته‌ای، نشان دهنده شدیدتر شدن واکنش‌های التهابی ریه پس از قرارگیری موش‌های تمرین کرده در محیط هایپوکسیک است. در ایجاد التهاب ریه در شرایط هایپوکسی دلایل متفاوت اما وابسته به هم نقش دارند. هایپوکسی بر سیستم ایمنی و التهاب سلول‌های اپی تلیال و اندوتلیالی ریه مؤثر است. هایپوکسی اثرات مختلفی بر بیان پروتئین‌هایی همچون فاکتور القایی هایپوکسی [2] (HIF)، فاکتورهای رشدی و تغییر تولید رادیکال‌های آزاد بر جای می‌گذارد. عملکرد بافت ریه که به علت تبادلات گازی بافت مهمی در فعالیت ورزشی محسوب می‌شود، تحت تأثیر هایپوکسی می‌تواند تغییر یابد که

1. Nuclear factor-kappa B
2-Hypoxia Induced Factor

احتمالاً تغییرات در بیان فاکتورهای پیش التهابی همچون IL-6 و فراخوانی سلول‌های التهابی سیستم ایمنی به بافت در این شرایط نقش مهمی را عهده‌دار هستند [۴۰، ۴۱]. در سال‌های اخیر گام‌های قابل توجهی در راستای درک مسیرهای مولکولی مهم التهاب ناشی از هایپوکسی در ریه برداشته شده است [۴۲]. هایپوکسی و التهاب در سطوح سلولی مولکولی با هم تعامل دو طرفه دارند. همسو با پژوهش حاضر دیده شده در افراد سالمی که به‌صورت داوطلبانه ۳ شب را در ارتفاع بالای۳۴۰۰ متر سپری کرده بودند، سطوح سرمی IL-6 افزایش یافت. علاوه بر این، در موش‌هایی که در محیط هایپوکسیک قرار گرفتند، نشت عروقی، تجمع سلول‌های التهابی در اندام‌ها و افزایش سطح سایتوکاین‌های پیش التهابی سرمی دیده شده است. تشدید التهاب در پاسخ به هایپوکسی یک اختلال بالینی محسوب می‌شود [۱۳، ۴۳]. گزارش شده قرارگیری انسان در معرض هایپوکسی، سبب افزایش ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و سایتوکاین‌های پیش التهابی از جمله IL-1b، IL-6، IL-8 و TNF-a در مایع لاواژ برونش آلوئولی[1] می‌شود [۴۴، ۴۵]. هایپوکسی اثرات تخریبی- التهابی در ریه بر جای می‌گذارد، با این تفاوت که این اثرات در PO_2 بالاتر نسبت به سایر ارگان‌ها رخ می‌نمایانند [۴۶]. در پژوهش‌های گذشته افزایش تعداد ماکروفاژها در مایع لاواژ برونش- آلوئولی در گروه‌های در معرض هایپوکسی دیده شده است. به‌نظر می‌رسد ماکروفاژهای ریوی نقشی برجسته در پاسخ‌های التهابی به هایپوکسی ریوی و بیان فاکتورهای پیش التهابی دارند [۴۷]. از سازوکارهای دیگر تأثیرگذاری هایپوکسی بر بیان IL-6، می‌توان به فعالیت کاتکولامین‌ها اشاره کرد. این تأثیر به صورت عمومی به فعالیت مسیر β-آدرنرژیک مربوط می‌شود. ثابت شده است که ترشح اپی نفرین موجب افزایش غلظت IL-6 در موش‌ها می‌شود. β-آدرنرژیک تولید IL-6 در ارتفاع را تحریک می‌کند که این مسئله با افزایش سریع در میزان اپی نفرین و IL-6 همراه است [۴۸]. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، به‌نظر می‌رسد تمرینات تناوبی شدید سبب ملتهب شدن ریه و ایجاد شرایط پاتولوژیک در آن می‌شوند. شرایطی که می‌تواند منجر به بیماری و یا کاهش عملکرد جسمانی شود. همچنین به‌نظر می‌رسد محیط‌های مرتفع و هایپوکسیک از طریق سازوکارهای مختلف توانایی ایجاد التهاب در بافت ریه را دارا هستند و این پتانسیل را دارند که التهاب ناشی از تمرین ورزشی در بافت ریه را تشدید کنند. لذا در نیروهای نظامی و ورزشکاران که به دلایل مختلف به مناطق مرتفع اعزام و در آنجا اقامت پیدا می‌کنند، احتمال بروز آسیب‌های ریوی مرتبط با التهاب وجود دارد که توجه به این موضوع در حوزه سلامت از اهمیت ویژه برخوردار است.

تشکر و قدردانی

این طرح پژوهشی با حمایت‌های علمی و مالی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران (آجا) و مساعدت‌های دانشگاه مازندران و دانشگاه تبریز به سرانجام رسیده است. بدین وسیله از همکاری صمیمانه اساتید و کارشناسان محترم این سازمان‌ها تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

1- bronchoalveolar

References

1. Araneda OF, Garcia C, Lagos N, Quiroga G, Cajigal J, Salazar MP, et al. Lung oxidative stress as related to exercise and altitude. Lipid peroxidation evidence in exhaled breath condensate: a possible predictor of acute mountain sickness. European journal of applied physiology. 2005;95(5-6):383-390.
2. Vollaard NBJ, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress. Sports medicine. 2005;35(12):1045-1062.
3. Nemet D, Oh Y, Kim HS, Hill M, Cooper DM. Effect of intense exercise on inflammatory cytokines and growth mediators in adolescent boys. Pediatrics. 2002;110(4):681-689.
4. Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Klarlund Pedersen B. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. The Journal of physiology. 2000;529 (1):237-242.
5. Leemans JC, Vervoordeldonk MJ, Florquin S, van Kessel KP, van der Poll T. Differential role of interleukin-6 in lung inflammation induced by lipoteichoic acid and peptidoglycan from Staphylococcus aureus. American journal of respiratory and critical care medicine. 2002;165(10):1445-1450.
6. Kaplanski G, Marin V, Montero-Julian F, Mantovani A, Farnarier C. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. Trends in immunology. 2003;24(1):25-29.
7. Abbrecht PH, Littell JK. Plasma erythropoietin in men and mice during acclimatization to different altitudes. J Appl Physiol. 1972;32(1):54-58.
8. Sobhani V, Hajizadeh B, Bazgir B, Shamsoldini AR, Kazemipour M, Shakibaey A. The effects of omega-3 supplement on pulmonary function of ranger troop volunteers participated in classic training. Ebnesina. 2013;15(2):4-10. [Persian].
9. Dastbarhagh H, Hovanloo F, Agha Alinejad H, Bazgir B. The effect continuous high-intensity interval training in hypoxia-normobaric and normoxi condition on serum cytokines in response to exhaustion exercise. Ebnesina. 2015;16(4):20-25. [Persian].
10. Takagi H, King GL, Ferrara N, Aiello LP. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor receptor KDR/Flk gene expression through adenosine A2 receptors in retinal capillary endothelial cells. Investigative ophthalmology & visual science. 1996;37(7):1311-1321.
11. Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J. Oxygen, a source of life and stress. FEBS letters. 2007;581(19):3582-3591.
12. Bove PF, Hristova M, Wesley UV, Olson N, Lounsbury KM, van der Vliet A. Inflammatory levels of nitric oxide inhibit airway epithelial cell migration by inhibition of the kinase ERK1/2 and activation of hypoxia-inducible factor-1 alpha. The Journal of biological chemistry. 2008;283(26):17919-17928.
13. Maresh CM, Noble BJ, Robertson KL, Sime WE. Maximal exercise during hypobaric hypoxia (447 Torr) in moderate-altitude natives. Medicine and science in sports and exercise. 1983;15(5):360-365.
14. 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. Medicine and science in sports and exercise. 2012;44(7):1227-1234.
15. Chao J, Wood JG, Gonzalez NC. Alveolar macrophages initiate the systemic microvascular inflammatory response to alveolar hypoxia. Respiratory physiology & neurobiology. 2011;178(3):439-448.
16. Ogura Y, Naito H, Kurosaka M, Sugiura T, Junichiro A, Katamoto S. Sprint-interval training induces heat shock protein 72 in rat skeletal muscles. Journal of sports science & medicine. 2006;5(2):194-201.
17. Schneider JP, Ochs M. Stereology of the lung. Methods in cell biology. 2013;113:257-294.
18. Ochs M, Muhlfeld C. Quantitative microscopy of the lung: a problem-based approach. Part 1: basic principles of lung stereology. American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology. 2013;305(1):L15-L22.
19. Kasahara Y, Tuder RM, Taraseviciene-Stewart L, Le Cras TD, Abman S, Hirth PK, et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. The Journal of clinical investigation. 2000;106(11):1311-1319.
20. Di Cataldo S, Ficarra E, Acquaviva A, Macii E. Automated segmentation of tissue images for computerized IHC analysis. Computer methods and programs in biomedicine. 2010;100(1):1-15.
21. Barberi I, D'Arrigo S, Gitto E. Surfactant proteins and the inflammatory and immune response in the lung. Paper presented at: Fifth international neonatal hematology and immunology meeting2009; Italy.
22. De Benedetti F, Meazza C, Martini A. Role of interleukin-6 in growth failure: an animal model. Hormone research. 2002;58 Suppl 1:24-27.
23. Moldoveanu B, Otmishi P, Jani P, Walker J, Sarmiento X, Guardiola J, et al. Inflammatory mechanisms in the lung. Journal of inflammation research. 2009;2:1-11.
24. Nieman DC. Is infection risk linked to exercise workload? Medicine and science in sports and exercise. 2000;32(7 Suppl):S406-S411.
25. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. J Appl Physiol 2007;103(2):693-699.

26. Zavorsky GS, Saul L, Decker A, Ruiz P. Radiographic evidence of pulmonary edema during high-intensity interval training in women. Respiratory physiology & neurobiology. 2006;153(2):181-190.
27. Raza Asim MB, Shahzad M, Yang X, Sun Q, Zhang F, Han Y, et al. Suppressive effects of black seed oil on ovalbumin induced acute lung remodeling in E3 rats. Swiss medical weekly. 2010;140:w13128.
28. Sharafkhaneh A, Hanania NA, Kim V. Pathogenesis of emphysema: from the bench to the bedside. Proceedings of the American Thoracic Society. 2008;5(4):475-477.
29. Brusselle GG, Joos GF, Bracke KR. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease. Lancet. 2011;378(9795):1015-1026.
30. Haase VH. Inflammation and hypoxia in the kidney: friends or foes? Kidney international. 2015;88(2):213-215.
31. Weber RL, Iacono VJ. The cytokines: a review of interleukins. Periodontal clinical investigations: official publication of the Northeastern Society of Periodontists. 1997;19(1):17-22.
32. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. Arthritis research and therapy. 2006;8(2).
33. Mehri Alvar Y, Ramezani AR. The effects of resistance and alternative training on some predictors of heart diseases. Ebnesina. 2016;18(1):19-28. [Persian].
34. Park CS, Chung SW, Ki SY, Lim G-I, Uh S-T, Kim Yh, et al. Increased levels of interleukin-6 are associated with lymphocytosis in bronchoalveolar lavage fluids of idiopathic nonspecific interstitial pneumonia. American journal of respiratory and critical care medicine. 2000;162(3):1162-1168.
35. Papacosta E, Gleeson M. Effects of intensified training and taper on immune function. Revista Brasileira de Educação Física e Esporte. 2013;27(1):159-176.
36. Petersen AMW, Pedersen BK. The role of IL-6 in mediating the anti inflammatory. Journal of physiology and pharmacology. 2006;57:43-51.
37. Rowsey PJ, Metzger BL, Carlson J, Gordon CJ. Long-term exercise training selectively alters serum cytokines involved in fever. Biological research for nursing. 2009.
38. Sarada S, Himadri P, Mishra C, Geetali P, Ram MS, Ilavazhagan G. Role of oxidative stress and NFkB in hypoxia-induced pulmonary edema. Experimental biology and medicine. 2008;233(9):1088-1098.
39. Yende S, Waterer GW, Tolley EA, Newman AB, Bauer DC, Taaffe DR, et al. Inflammatory markers are associated with ventilatory limitation and muscle dysfunction in obstructive lung disease in well functioning elderly subjects. Thorax. 2006;61(1):10-16.
40. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. Dynamic Medicine. 2009;8(1):1-25.
41. Asea AAA, Pedersen BK. Heat shock proteins and whole body physiology. New York: Springer 2009.
42. Dayan F, Mazure NM, Brahimi-Horn MC, Pouysségur J. A dialogue between the hypoxia-inducible factor and the tumor microenvironment. Cancer Microenvironment. 2008;1(1):53-68.
43. Savale L, Tu L, Rideau D, Izziki M, Maitre B, Adnot S, et al. Impact of interleukin-6 on hypoxia-induced pulmonary hypertension and lung inflammation in mice. Respiratory research. 2009;10(6): 1-13.
44. Fröhlich S, Boylan J, McLoughlin P. Hypoxia-induced inflammation in the lung: a potential therapeutic target in acute lung injury? American journal of respiratory cell and molecular biology. 2013;48(3):271-279.
45. Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and inflammation. New England Journal of Medicine. 2011;364(7):656-665.
46. Fitzpatrick SF, Tambuwala MM, Bruning U, Schaible B, Scholz CC, Byrne A, et al. An intact canonical NF-κB pathway is required for inflammatory gene expression in response to hypoxia. The journal of immunology. 2011;186(2):1091-1096.
47. Vergadi E, Chang MS, Lee C, Liang OD, Liu X, Fernandez-Gonzalez A, et al. Early macrophage recruitment and alternative activation are critical for the later development of hypoxia-induced pulmonary hypertension. Circulation. 2011;123(18):1986-1995.
48. Chaouat A, Savale L, Chouaid C, Tu L, Sztrymf B, Canuet M, et al. Role for interleukin-6 in COPD-related pulmonary hypertension. Chest journal. 2009;136(3):678-687.
49. Madjdpour C, Jewell UR, Kneller S, Ziegler U, Schwendener R, Booy C, et al. Decreased alveolar oxygen induces lung inflammation. American journal of physiology-lung cellular and molecular physiology. 2003;284(2):L360-L367.
50. van Gool J, van Vugt H, Helle M, Aarden LA. The relation among stress, adrenalin, interleukin 6 and acute phase proteins in the rat. Clinical immunology and immunopathology. 1990;57(2):200-210.

Assessment of interleukin-6 level and lung inflammatory cells after high-intensity interval training and stay in hypoxic conditions

Yadegari M[1], *Riahy S[2], Mirdar Sh[3], Hamidian G[4], Mosadegh P[5]

Abstract

Background: It seems that the effect of training on improving physical performance is not always associated with beneficial effects on internal organs. So far, the effects of high-intensity interval training and subsequent exposure to hypoxia have not been investigated on lung parenchyma. The purpose of this study was to investigate the effects of chronic hypoxia followed by high-intensity interval training on amount of lung inflammation.

Materials and method: Totally, 24 male Wistar rats (four weeks old, 71±4 gr) were randomly divided into four groups: 6-week control group (n=6), 6-week exercise group (n=6), 9-week control group (n=6), and exercises-hypoxia group (n=6). A training program (running on treadmill) was started with 25 meters per minute and was finished with 70 meters per minute. In each training session, rats performed the intense activity with 10 repetition times and two minutes of rest. The work to rest ratio was 1:2. After six weeks of interval training, rats were kept in a hypoxic chamber for three weeks. At the end, lung tissues extracted for stereological and immunohistochemistry analyses.

Results: Both 6-weeks exercise and exercise-hypoxia groups indicated a significant increase in bronchus-associated lymphoid tissue (BALT), macrophage population and, IL-6 compared to the control group ($p<0.05$). Also, after three weeks of exposure to hypoxic conditions, BALT volume, macrophage population ($p<0.05$), and IL-6 ($p=0.198$) increased compared to 6-week exercise group.

Conclusion: It seems a period of high-intensity interval training could possibly inflamed lung tissue. In addition, chronic hypoxia conditions may aggravate the inflammatory effects of intense exercise.

Keywords: Exercise Training, Inflammation, Hypoxia, Lung, Macrophage

1. PhD student, Department of exercise physiology, Faculty of physical education and sport sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2. PhD of exercise physiology, Faculty of aerospace medicine and subsurface, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding Author) riahy_simin@yahoo.com

3. Associate professor, Department of exercise physiology, Faculty of physical education and sport sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

4. Assistant professor, Department of basic sciences, Faculty of veterinary medicine, Tabriz University, Tabriz, Iran

5. MSc, Department of exercise physiology, Faculty of physical education and sport sciences, University of Tehran, Tehran, Iran