اثر تمرین هوازی فزاینده، تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی و ترکیب آنها بر میزان پروتیین Bax و Bcl-2 سلول‌های بتای پانکراس موش‌های دیابتی

سید حسین بابایی ساداتی *(Ph.D student)، عبدالرضا جعفری چاشمی (Ph.D)، سید عبدالله هاشم‌ورزی (Ph.D)

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۲۵۶۱۰۹۵ syedhoseinbabaeesadati@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۳۱

چکیده

هدف: آپوپتوز یک فرآیند سلولی محافظت‌کننده است که نقش مهمی در توسعه و هومئوستاز بافت طبیعی و نیز پیدایش بیماری‌ها دارد. مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر تمرین هوازی فزاینده به همراه تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بر میزان پروتیین Bax و Bcl-2 سلول‌های بتای پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین بود.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه تجربی، ۴۸ سرموش به شش گروه: کنترل، شم، دیابت، تمرین، سلول درمانی ، تمرین+ سلول درمانی تقسیم شدند. برای ایجاد مدل دیابت، STZ با دوز ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در ترکیب با بافرسیترات و pH =۴/۵ به صورت درون صفاقی تزریق شد. گروه تمرینی، شش هفته و هفته‌ای پنج روز با شدت ۷۰-۶۰ درصد VO2max روی نوارگردان دویدند. به گروه سلول درمانی، ۵ میلی لیتر PBS حاوی $۱/۵\times۱۰^{۶}$ عدد سلول استخراج شده از بافت چربی انسانی از طریق سیاهرگ دمی تزریق شد.. مقادیر Bax (به عنوان یک پروتیین پیش برنده مرگ سلولی) و Bcl2 (به عنوان یک پروتیین ضد مرگ سلولی) سلول‌های بتای پانکراس، بعد از هموژنیزوسانتریفیوژ، به وسیله کیت آزمایشگاهی با روش الایزا اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل، سطح Bax به میزان معنی داری افزایش و میزان Bcl-2 به میزان معنی داری کاهش یافت و نسبت Bax/Bcl2 نیز افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). این مقادیر، در گروه های دیابتی با تمرین، سلول درمانی ، تمرین+ سلول درمانی اصلاح شد به گونه ای که تفاوت معنی داری در همه شاخص ها با گروه دیابتی فاقد مداخله وجود داشت (P<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که ورزش، سلول درمانی و استفاده ترکیبی آنها می تواند از آپوپتوز سلولهای بتا جلوگیری نماید.

واژه‌های کلیدی: ورزش، سلول‌های بنیادی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، لوزالمعده، استرپتوزوسین

مقدمه

بیماری قند خون یا همان دیابت یک اختلال متابولیکی می‌باشد که به وسیله افزایش سطح گلوکز خون (هیپرگلیسمی) به دنبال نقص در ترشح انسولین، به عمل انسولین، یا هر دو مشخص می‌گردد. این بیماری با اختلالات غدد درون‌ریز و عوارض متابولیکی حاصل از آن همراه است [۱]. سلول‌های بتای بالغ که در جزایر لانگرهانس پانکراس قرار دارند مسئول ترشح انسولین هستند [۲،۳]. اختلال در گیرنده‌های بتای انسولین یا گلوکزی روی غشای سلول و یا به عبارتی افزایش مقاومت به انسولین، مشکل اصلی بیماران دیابتی نوع دو می‌باشد [۴]. هم‌چنین در دیابت نوع دو، کاهش جرم سلولی سلول‌های بتا، منجر به پدیده آپوپتوتیک و در نهایت مرگ سلول‌های بتای پانکراس را در بر خواهد داشت [۵]. هم‌چنین بعضی محققین معتقدند که واکنش‌های ایمنی و التهابی در دیابت نوع دو در درازمدت باعث ناهنجاری‌هایی، از قبیل نوروپاتی، نفروپاتی، رتینوپاتی و بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند [۶]. مکانیسم تخریب سلول‌های بتا در دیابت نوع یک نتیجه بیماری خود ایمنی و خود التهابی می‌باشد [۵]. حفظ توده سلول‌های بتای پانکراس از تعادل بین نئوژنز، تکثیر و آپوپتوز ناشی می‌شود. آپوپتوز یک فرآیند سلولی محافظت‌کننده است که برای تکامل و ترمیم بافت ضروری است. هر گونه اختلال در روند آپوپتوز، باعث کاهش یا افزایش نامتعارف مرگ سلولی می‌شود [۷،۸،۹]. رویدادهای مولکولی که منجر به فعال‌سازی و اجرای برنامه‌ی آپوپتوتیکی می‌شوند، اغلب به واسطه‌ی تعادل بین پروتئین‌های پیش و ضدآپوپتوزی Bax و Bcl-2 می‌باشد که به عنوان پروتئین‌های کلیدی در غشاء میتوکندری در القا، شکل‌گیری، تنظیم و مهار آپوپتوز میتوکندریایی سلول‌های پانکراس نقش دارند [۱۰،۱۱]. مرگ سلول‌های بتای پانکراس که در نتیجه

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

افزایش مقادیر پروتئین‌های پیش آپوپتوزی Bax ایجاد می‌شود را می‌توان با اتخاذ تدابیر گسترده‌ای به صورت زیر درمان یا پیشگیری کرد. استفاده از روش سلول درمانی، که شامل خود سلول‌های بتا، سلول‌های تمایز یافته (سلول‌های کبد، روده، طحال و ...) و سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی و فعالیت‌های ورزشی که می‌توانند در این زمینه مورد استفاده قرار گیرند [۱۲،۱۳].

امروزه از سلول‌های بنیادی برای جبران سلول‌های از دست رفته استفاده می‌شود. زیرا به‌عنوان یک روش برای جلوگیری از ایجاد آپوپتوز در بافت‌های مختلف در بین محققین رواج دارد [۱۴]. اما در این میان، سلول درمانی و استفاده از سلول‌ها، به ویژه سلول‌های بنیادی برای ترمیم بافت‌های از دست رفته، نتایج مفیدی را در بر داشته است. به عنوان مثال در انسان، سلول‌های بنیادی منزانشیمی مشتق از بافت چربی، رشد سریع‌تری نسبت به سلول‌های بنیادی خون بند ناف و استخوان دارند، هم‌چنین توانایی تکثیری سلول‌های خون بندناف، نسبت به سلول‌های مغز استخوان بیش‌تر است [۱۵،۱۶]. مهم‌ترین امتیاز سلول‌های بنیادی بافت چربی این است که آن‌ها را می‌توان به راحتی از بیماران به دست آورد و هم‌چنین به سادگی کشت داد. تکثیر سریع، حفظ خصوصیات چند توانی به مدت طولانی و بعد از چندین پاساژ، نشان می‌دهد که این سلول‌ها می‌توانند انتخاب مناسبی برای اهداف درمانی باشند [۱۴]. بعد از آماده شدن، سلول‌های بنیادی در محل ضایعه از طریق داخل وریدی تزریق می‌شود [۱۴]. بعد از تزریق، این سلول‌ها می‌تواند به محل بافت در بتای پانکراس مهاجرت کرده و در محل ضایعه تجمع پیدا کنند [۱۷]. این سلول‌ها موجب ایجاد سلول‌های جدید و ایجاد رگ‌های تازه و در کل، موجب بهبود عملکرد می‌شوند [۱۵]. مطالعات نشان داد که فعالیت ورزشی به عنوان یک درمان غیر دارویی نقش بسزایی در تنظیم و کاهش سیتوکین التهابی مرتبط با عملکرد سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین، ایفا می‌کند [۱۸،۱۹]. هم‌چنین تمرینات هوازی به عنوان یک روش درمانی مناسب، سطوح حامل‌های گلوکز در عضلات اسکلتی و هم‌چنین سطوح سنتز گلیکوژن عضلات و هگزوکیناز را افزایش داده، و باعث پیشرفت جذب گلوکز می‌شود و فسفوریلزه شدن را در پاسخ به تحریک انسولین و هم‌چنین مقاومت به انسولین را بهبود، و حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد و در پیشگیری از تخریب سلول‌های بتای پانکراس مؤثر می‌باشد، در نتیجه حجم و توده‌ی سلول‌های بتای از طریق فرایند هایپرپلازی افزایش می‌یابد و این فرایند ناشی از افزایش و تکثیر سلول‌های بتای پانکراس و کاهش آپوپتوز سلولی می‌باشد [۲۰].

با توجه به این که اکثر تحقیقات انجام شده به اثر جداگانه ورزش و سلول بنیادی پرداخته شده و اثر تعاملی تمرینات هوازی به همراه تزریق درون وریدی سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین (STZ) بر سطوح Bax و Bcl-2 سلول بتای پانکراس توسط محقق مشاهده نشده، پژوهش حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که آیا این روش درمانی می‌تواند چشم‌انداز روشن‌تری در درمان آپوپتوز حاصل از بیماری دیابت در سلول‌های بتای پانکراس ایجاد کند؟

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر، با تصویب کمیته ملی اخلاق در پژوهش، و با شناسه اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1398.206 و با رعایت استانداردهای اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی، ۴۸ سر موش صحرائی نر بالغ ۸ هفته‌ای نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۴۰-۲۲۰ گرم تهیه شد. موش‌ها توسط محقق در آزمایشگاه جوندگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به مدت ۱ هفته به منظور سازگاری با محیط نگهداری شدند. این حیوانات در ۹ هفتگی پس از آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی نوارگردان (ساخت ایران) به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، شم، دیابت، سلول بنیادی، تمرین، تمرین+سلول بنیادی تقسیم شدند. همه گروه‌ها به صورت آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. جهت تطابق با محیط جدید، حیوانات به صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفس پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند. جهت القا دیابت در رت‌ها، از محلول استرپتوزوسین (ساخت کشور چین) با دوز ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت درون صفاقی (IP) به حیوانات تزریق شد [۲۱]. STZ در سرم فیزیولوژی سرد حل شده و به صورت تازه استفاده شد. ۷۲ ساعت بعداز القا دیابت از دم حیوان خون‌گیری شد. میزان قند خون با دستگاه گلوکومتر (Bionime مدل Gm110 ساخت سوئیس) اندازه‌گیری شد. حیوان با قند خون ناشتا بیش‌تر از ۲۵۰ mg/dl دیابتی تلقی شدند [۲۱] (جدول ۱).

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

جدول ۱. میانگین قند خون گروه ها (mg/dl) و تایید دیابتی شدن گروه‌های مدل

گروه‌ها	میانگین قند خون(mg/dl)	انحراف استاندارد	تعداد (سر)
کنترل	۱۱۳/۲۸	۴/۴۲	۸
شم	۱۱۴/۴۲	۴/۲۳	۸
کنترل دیابت	۳۳۴/۷۱	۱۱/۴۸	۸
تمرین + دیابت	۲۹۳/۵۷	۱۱/۵۸	۸
سلول بنیادی+ دیابت	۳۳۴/۸۵	۴/۷۰	۸
دیابت+ سلول بنیادی+ تمرین	۳۳۶/۴۲	۶/۵۲	۸

برای تهیه سلول‌های بنیادی مشتق از چربی قطعات چربی از ناحیه اطراف شکم بیماران مراجعه‌کننده به بخش جراحی جهت عمل لیپوساکشن گرفته شد. بافت مورد نظر بعد از عمل لیپوساکشن درون محفظه استریل در دمای محیط به آزمایشگاه منتقل شد. بافت با PBS حاوی آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین–استرپتومایسین) در چهار نوبت شست‌وشو داده شد تا مطمئن شویم که خون از محلول خارج شده است. سپس برای جدا شدن سلول‌ها، بافت مورد نظر توسط آنزیم کلاژناز–۱ به مدت ۱,۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد هضم قرار گرفت. بعد از این مرحله، فعالیت آنزیمی و پلاک سلولی به دست آمد. گلبول قرمز موجود با محلول بافر لیزکننده تریس حذف شدند. سلول‌های به دست آمده برای شمارش و کشت در فلاکس مخصوص کشت سلول و در نهایت تزریق به مدل حیوانی بعد از تعیین هویت با روش فلوسایتومتری، استفاده شدند. در این پژوهش برای تعیین ویژگی‌های فنوتیپ سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، میزان بیان شاخص‌های سطح سلولی CD29 و CD90 در این سلول‌ها ارزیابی شدند [۲۱،۲۲]. سپس، پس از القا بی‌هوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و زایلازین ۲ درصد با دوز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، دم موش را به مدت یک دقیقه در آب گرم نگه داشته تا عروق دم متسع شوند و بدین‌سان سیاهرگ دمی نمایان شود. سپس به کمک سرنگ انسولینی بعد از شست‌وشو سلول‌ها با PBS و پیپتاژ کردن در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار، حدود $۱/۵\times۱۰^{۶}$ عدد سلول بنیادی استخراج شده از بافت چربی انسانی به سیاهرگ دم موش‌های دیابتی تزریق شد [۲۱].

گروه‌های تمرینی روی نوارگردان به مدت ۶ هفته به تمرین هوازی پرداختند. در پژوهش حاضر از سرعت تمرینی ۱۸ تا ۱۰ متر در دقیقه معادل ۷۰–۶۰ درصد VO2max استفاده شد. بدین صورت که گروه تمرینی در معرض تمرین روی نوار گردان، ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفت. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۴ تا ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۴ تا ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، ۱۷ تا ۱۸ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. به منظور رسیدن سازگاری‌های به‌دست آمده به حالت یک‌نواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند [۲۲] (جدول ۲).

به منظور تهیه بافت پانکراس، ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به۴۰ بی‌هوش شدند. بلافاصله پس از شکافتن قفسه سینه و شکم، پانکراس جدا و در نیتروژن مایع قرار گرفت. پس از منجمد شدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای زیر ۸۰– درجه نگهداری شد. بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ، میزان غلظت شاخص‌ها به وسیله کیت آزمایشگاهی شرکت HANGZHOU چین با روش الایزا ریدر با طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شده و با ۸۸ درصد حساسیت اندازه‌گیری شد.

همه تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. جهت مقایسه کمی از آزمون آنالیز یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در این بررسی‌ها سطح معنی‌داری $P\leq۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

جدول ۲. جزئیات پروتکل تمرین هوازی شش هفته ای مورد استفاده در پژوهش

هفته ها / متغیرهای تمرین	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
سرعت به متر در دقیقه	۱۰	۱۰	۱۵-۱۴	۱۵-۱۴	۱۸-۱۷	۱۸-۱۷
مدت فعالیت به دقیقه	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
تعدادجلسات تمرین در هفته	۵	۵	۵	۵	۵	۵

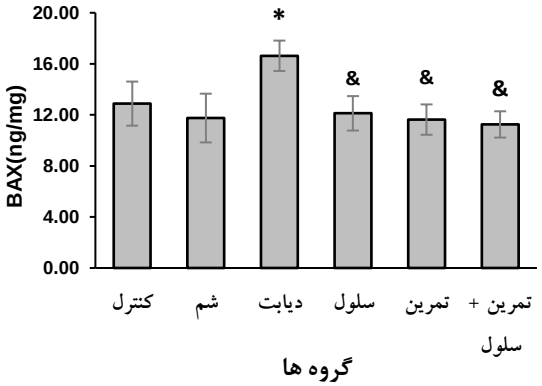
[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

نتایج

نتایج نشان داد که سطوح Bax سلول‌های بتاپانکراس گروه دیابت نسبت به سایر گروه‌ها بالاتر بود. در حالی که کم‌ترین مقدار مربوط به گروه تمرین+سلول بود با توجه به جدول ۳، نتایج تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد، اختلاف معنی‌داری بین سطوح Bax سلول‌های بتاپانکراس موش‌های دیابتی گروه‌های مختلف وجود دارد (۰/۰۰۱).

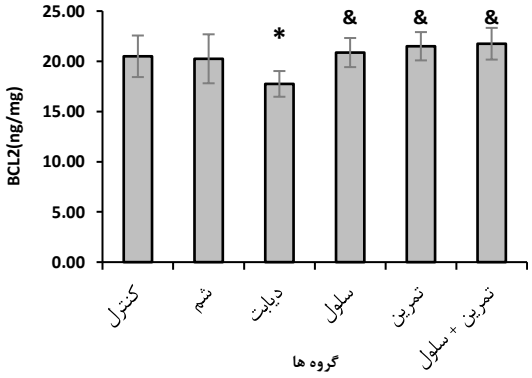
نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطوح Bax در گروه دیابت، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P<۰/۰۰۰۱$). هم‌چنین سطوح Bax در گروه‌های سلول، تمرین و تمرین+ سلول کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشته است ($P<۰/۰۰۰۱$) که این کاهش در گره تمرین+سلول مشهودتر بوده است (شکل ۱).



شکل ۱. میانگین و انحراف استاندارد مقادیر Bax در گروه‌های مختلف پژوهش. * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل. & اختلاف معنی‌دار با گروه دیابت

نتایج و بررسی‌ها نشان داد که سطوح Bcl2 سلول‌های بتاپانکراس گروه تمرین+ سلول نسبت به سایر گروه‌ها بالاتر بود در حالی که کم‌ترین مقدار مربوط به گروه دیابت بود. تحلیل واریانس یک طرفه مربوط به سطوح Bcl2 در گروه‌های مختلف پژوهش شده (F=۴/۴۲۰، $P=۰/۰۰۰۱$)، حاکی از اختلاف معنی‌داری بین سطوح Bcl2 سلول‌های بتاپانکراس گروه‌های مختلف وجود دارد (جدول۳).

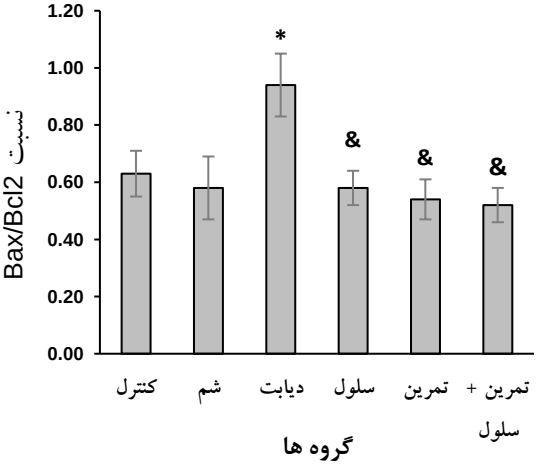
نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطوح Bcl2 در گروه دیابت، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P<۰/۰۰۰۱$). هم‌چنین سطوح Bcl2 در گروه‌های سلول، تمرین و تمرین+سلول افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشته است ($P<۰/۰۰۰۱$) که این افزایش در گره تمرین+سلول مشهودتر بوده است (شکل ۲).



شکل ۲. میانگین و انحراف استاندارد مقادیر Bcl2 در گروه‌های مختلف پژوهش. *؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل. &؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه دیابت

تحلیل واریانس یک طرفه مربوط به نسبت Bax/Bcl2 در گروه‌های مختلف شده (F=۱۷/۵۶۳، $P=۰/۰۰۱$)، حاکی از اختلاف معنی‌داری بین نسبت Bax/Bcl2 سلول‌های بتای پانکراس موش‌ها در گروه‌های مختلف وجود دارد (جدول۳).

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطوح نسبت Bax/Bcl2 در گروه دیابت، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P<۰/۰۰۰۱$). هم‌چنین سطوح نسبت Bax/Bcl2 در گروه‌های سلول، تمرین و تمرین+سلول کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشته است ($P<۰/۰۰۰۱$) که این کاهش در گره تمرین+سلول مشهودتر بوده است (شکل ۳).



شکل ۳. میانگین و انحراف استاندارد نسبت Bax/Bcl2 در گروه‌های مختلف پژوهش. *؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل. &؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه دیابت

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه سطوحBax وBcl2 ونسبت Bax /Bcl2 در گروه‌های مختلف پژوهش

شاخص ها	گروهها	مجموع مربعات(ss)	درجات آزادی	میانگین مربعات	F	P
Bax	بین گروهی	۱۸۶/۵۵۰	۹	۲۰/۷۲۸	۹/۷۲۲	۰/۰۰۰
	درون گروهی	۱۴۹/۲۵۰	۷۰	۲/۱۳۲		
Bcl2	بین گروهی	۱۰۴/۰۰۰	۹	۱۱/۵۵۶	۴/۴۲۰	۰/۰۰۰
	درون گروهی	۱۸۳/۰۰۰	۷۰	۲/۶۱۴		
Bax / Bcl2	بین گروهی	۱/۱۴۴	۹	۰/۱۲۷	۱۷/۵۶۳	۰/۰۰۰
	درون گروهی	۰/۵۰۷	۷۰	۰/۰۰۷		

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد مقادیر Bcl2 گروه تمرین و گروه سلول بنیادی و هم‌چنین گروه ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل و دیابت افزایش و مقادیر Bax سلول‌های بتای پانکراس کاهش معنی‌داری داشت. به نظر می‌رسد استفاده هم‌زمان از تمرین هوازی و تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی فضای سلول‌های بتای پانکراس را از آپوپتوزی شدن دور نگه داشته و مقادیر پروتئین‌های ضد آپوپتوزی را برای مقابله با پروتئین‌های آپوپتوزی افزایش می‌دهد، که با نتایج تحقیقات کراگر و همکاران (۲۰۰۹) پریرا و همکاران (۲۰۱۲) و آداماپولوس و همکاران (۲۰۰۲) همسو بود (۳۲،۳۳). هم‌چنین نتایج به‌دست آمده با پژوهش اصغرپور ارشد و همکاران (۲۰۱۶) همسو بوده که به بررسی اثر سه ماه تمرین هوازی تناوبی بر برخی از شاخص‌های آپوپتوز عضله‌ی اسکلتی موش‌های صحرایی نر پرداختند، که نشان داد تمرین هوازی بیان پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 را در عضله‌ی نعلی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. نتایج تحقیق قهرمانی و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که تمرینی تناوبی موجب افزایش مقادیر Bcl-2 و کاهش مقادیر Bax شده که همسو با پژوهش حاضر می‌باشد. هم‌چنین در چندین مطالعه گزارش شده است که فعالیت ورزشی منظم پروتئین Bcl-2 عضله را افزایش، و پروتئین Bax را کاهش، و نسبت Bax به Bcl-2 عضله را به سمت یک محیط ضد آپوپتوزی تغییر داده است [۲۳،۲۴،۲۵،۲۶،۲۷]. ماری‌کیو و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی اثر تمرین هوازی بر نشانگرهای آپوپتوز در سلول‌های عضلانی قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین پرداختند که علت وقوع آپوپتوز سلول‌های قلبی در اثر دیابت، علاوه بر افزایش استرس‌های اکسیداتیو، وقوع فرآیند التهابی و حضور سایتوکاین‌هایی نظیر IL-1β، IFN.γ، TNF.α و هم‌چنین تأثیر آن‌ها در تولید اکسید نیتریک بوده که باعث افزایش Fas لیگاند به وسیله سلول‌های التهابی و قلبی شده و در نهایت موجب وقوع مرگ سلولی از نوع آپوپتوز در سلول‌های قلبی شده است [۲۸]. محققان اعلام کردند که سازوکارهای آپوپتوز که گلوکز به واسطه آن‌ها موجب القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود، بسته به نوع سلول و بافت مورد مطالعه متفاوت است [۲۹]. تحقیقات نشان داد که فعالیت ورزشی منظم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود [۳۰]. یکی از مکانیسم‌های مهم احتمالی قابلیت محافظت سلولی ناشی از تمرین ورزشی، می‌تواند در زمینه ظرفیت مسدود کردن تشکیل رادیکال‌های آزاد باشد. گونه‌های فعال اکسیژنی در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری به عنوان یک محصول طبیعی تولید می‌شوند، اما زمانی که سطوح آن‌ها بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی سلول باشد می‌توانند منجر به مرگ سلول شوند. استرس اکسایشی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژنی به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است و می‌تواند مرگ سلولی را از طریق مسیرهای مختلف راه‌اندازی کند [۳۱]. مکانیسم دیگر محافظت سلولی ناشی از تمرین در برابر آپوپتوز، افزایش بیان پروتئین کیناز B است، چرا که مشخص شده است که، پروتئین کیناز B با فعالیت ورزشی هوازی با تنظیم افزایشی مواجه می‌شود [۲۹]. افزایش بیان و افزایش فعالیت پروتئین کیناز B، از طریق فسفوریلاسیون پروتئین‌های ضد آپوپتوز خانواده Bcl2 و غیرفعال‌سازی پروتئین پیش‌برنده آپوپتوز مانند Bax و یا از طریق مهار مستقیم فعالیت کاسپازی باعث مسدود کردن مسیرهای آپوپتوز می‌گردد [۲۹]. مطالعات گزارش کردند که سطوح پروتئین کیناز B در نمونه‌های جانوری در اثر دیابت کاهش می‌یابد [۲۹].

امروزه سلول‌های بنیادی به عنوان یک محصول جدید برای جایگزینی سلول‌های مرده، بازسازی و ترمیم بافت‌های مختلف آسیب‌دیده و هم‌چنین به عنوان یکی از راه‌کارهای درمانی مناسب و جدید برای درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۲،۳۳،۳۴]. در تحقیقی که توسط علی مرادی و همکاران (۲۰۱۶) بر روی موش‌های دیابتی انجام شد، نشان داد که تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی باعث تغییراتی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

در میزان قند خون موش‌ها شده، که بیانگر جایگزینی سلول‌های بنیادی و تمایز آن‌ها به سلول‌های بتای جهت تولید هورمون انسولین که همراه بوده با کاهش معنی‌دار قند خون که نشان‌دهنده‌ی عملکرد صحیح سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بوده است. آثار ترکیب ورزش و تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی می‌تواند به صورت چند مکانیزم احتمالی توضیح داده شود اول تمرین ورزشی می‌تواند در مسیر تولید بیان پروتئین مهارگر آپوپتوز Bcl-2 نقش مثبتی داشته باشد که در پژوهش حاضر این پروتئین افزایش معنی‌دار داشت که احتمالاً دلیلی بر بروز واکنش‌های جبرانی ضد آپوپتوزی است. با توجه به این‌که Bcl-2 مانع افزایش Bax می‌شود، به نظر می‌رسد افزایش Bcl-2 یکی از مکانیسم‌های سرکوب‌کننده Bax بوده است [۲۳]. هم‌چنین افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، سرکوب Bax، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c، تنظیم کلسیم رهاشده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر ROS ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا برده و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند [۲۸].

از طرف دیگر مکانیزم‌های مطرح شده در مورد اثرات سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در موش‌های دیابتی نشان می‌دهد این سلول‌ها بعد از ورود به جریان خون از جدار عروق عبور کرده و وارد بافت‌های آسیب‌دیده می‌شوند و لانه‌گزینی می‌کنند (Homing) سپس سلول‌های پیوندی در ارگان آسیب‌دیده تحت تاثیر محیط (Niche) جدید خود به سلول‌های بافت مورد نظر تمایز یافته و در نهایت از لحاظ ساختاری و عملکردی جایگزین بافت صدمه‌دیده می‌شوند [۳۶،۳۶۵]. پژوهش حاضر دارای محدودیت‌هایی بوده که از جمله می‌توان به عدم کنترل گروه‌های تحقیق در خارج از زمان مطالعه، عدم کنترل دقیق ویژگی‌های مادرزادی و ژنتیکی، عدم کنترل دقیق خستگی آزمودنی‌ها اشاره کرد. بعلاوه پژوهش حاضر با کم بودن پیشینه پژوهش‌های انجام شده ورزش و سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در ارتباط با سلول‌های بتای پانکراس مواجه بوده که این موضوع علاوه بر اعلام داشتن محدودیت یک مزیت نیز محسوب می‌شود چرا که نو بودن موضوع تحقیق را می‌رساند. پیشنهاد می‌شود از ترکیب تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی همراه با انجام تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف مورد تحقیق و بررسی قرار گیرد.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر در خصوص مکانیزم اثرات تعاملی متغیرهای پژوهش، مشخص شده است که افزایش سطوح Bcl2 در پژوهش و هم‌چنین در گروه‌های تحت درمان، تاثیر بسزایی در کاهش پروتئین‌های پیش آپوپتوزی Bax، از طریق به حداقل رساندن نفوذپذیری میتوکندری، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تعدیل استرس اکسایشی و کاهش ژن‌های پیش آپوپتوزی داشته و به نظر می‌رسد هر کدام از این مداخله‌ها، مخصوصاً ترکیب آن‌ها می‌تواند تاثیر افزایشی روی عوامل ضد آپوپتوزی (Bcl2) و کاهش عوامل آپوپتوزی (Bax) داشته و به‌عنوان یک راه‌کار حفاظتی و درمانی در جهت کاهش آسیب‌ها ناشی از این بیماری و هم‌چنین به عنوان یک روش غیردارویی برای کاهش عوارض آپوپتوز در سلول‌های بتای پانکراس ناشی از دیابت مورد استفاده قرار گیرد.

با توجه به پیشرفت علم در حوزه سلول‌های بنیادی و معرفی آن به عنوان روش نوین درمانی که در پژوهش حاضر هم اثرات مثبت آن مشاهده شد، چشم‌انداز روشنی هم در زمینه پژوهش‌های حوزه علوم ورزشی و هم درمان بیماری‌ها ایجاد شده است.

تشکر و قدردانی

از مساعدت و همکاری تمام کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند و موجب تسهیل در اجرای پژوهش شدند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

[1] Havilah P, Pandit Vinodh B, Durga Prasad K. Adenosine deaminase activity in Type-2 diabetes mellitus - an independent marker of glycemic status and stimulator of lipid peroxidation. Int J Chem Life Sci 2013; 02: 1175-1178.

[2] Eickhoff H, Guimaraes A, Louro TM, Seica RM, Sousa FC. Insulin resistance and beta cell function before and after sleeve gastrectomy in obese patients with impaired fasting glucose or type 2 diabetes. Surg Endo 2015; 29: 438-443. https://doi.org/10.1007/s00464-014-3675-7 PMid:24993174

[3] Zhang T, He H, Yang HL, Huang HJ, Zhang MF, An ZM, et al. [Study of glycated albumin cut-off point in diabetes mellitus and impaired glucose regulation]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2014; 45: 274-277.

[4] Krishna KA, Rao GV, Rao KS. Stem cell-based therapy for the treatment of Type 1 diabetes mellitus. Regen Med 2007; 2: 171-177. https://doi.org/10.2217/17460751.2.2.171 PMid:17465749

[5] Yiu KH, Tse HF. Specific role of impaired glucose metabolism and diabetes mellitus in endothelial progenitor cell characteristics and function. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2014; 34: 1136-1143. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.302192 PMid:24743430

[6] Sharma A, Ezekowitz JA. Diabetes, impaired fasting glucose, and heart failure: it's not all about the sugar. Euro J heart Failure 2014; 16: 1153-1156. https://doi.org/10.1002/ejhf.179 PMid:25315254

[7] Hu MJ, Ruan GP, Yao X, Ruan GH, Wang JX, Pang RQ, et al. Induced autologous stem cell transplantation for treatment of rabbit type 1 diabetes. Cell Biol Int 2013; 37: 624-632. https://doi.org/10.1002/cbin.10083 PMid:23483723

[8] Quadrilatero J, Bombardier E, Norris SM, Talanian JL, Palmer MS, Logan H, et al. Prolonged moderate-intensity aerobic exercise does not alter apoptotic signaling and DNA fragmentation in human skeletal muscle. Am J Physiol

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

[23] Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. J Appl Physiol 2008; 105: 1934-1943.
https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00037.2008
PMid:18832755 PMCid:PMC2612474
[24] Koçtürk S, Kayatekin BM, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. Eur J Appl Physiol 2008; 102: 515-524.
https://doi.org/10.1007/s00421-007-0612-7
PMid:18030491
[25] Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SEApoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. The FASEB J 2004; 18: 1150-1152.
https://doi.org/10.1096/fj.03-1291fje
PMid:15132982
[26] Fang J, Wu L, Chen L. Postconditioning attenuates cardiocyte ultrastructure injury and apoptosis by blocking blocking mitochondrial permeability transition in rats. Acta Cardiol 2008; 63: 377-387.
https://doi.org/10.2143/AC.63.3.1020316
PMid:18664030
[27] Marzetti E, Lawler JM, Hiona A, Manini T, Seo AY, Leeuwenburgh C. Modulation of age-induced apoptotic signaling and cellular remodeling by exercise and calorie restriction in skeletal muscle. Free Radic Biol Med 2008; 44: 160-168.
https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.028
PMid:18191752
[28] Mauricio D MP, Orlinick JR, Vaishnam AK. Role of Fas-FasL in insulitis in nonobes diabetic mouse. Chin Med J 2018; 43: 1537-1547.
[29] Allen DA, Yaqoob MM, Harwood SM. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. J Nutr Biochem 2005; 16: 705-713.
https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.06.007
PMid:16169208
[30] Mazzola PN, Terra M, Rosa AP, Mescka CP, Moraes TB, Piccoli B, et al. Regular exercise prevents oxidative stress in the brain of hyperphenylalaninemic rats. Metab Brain Dis 2011; 26: 291.
https://doi.org/10.1007/s11011-011-9264-8
PMid:21947687
[31] Aboutaleb N, Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Nikbakht F. Pre-ischemic exercise reduces apoptosis in hippocampal CA3 cells after cerebral apoptosis in hippocampal CA3 cells after cerebral ischemia by modulation of the Bax/Bcl-2 proteins ratio and prevention of caspase-3 activation. J Physiol Sci 2015; 65: 435-443.
https://doi.org/10.1007/s12576-015-0382-7
PMid:26012958
[32] Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clin Chim Acta 2004; 340: 107-115.
https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.10.003
PMid:14734202
[33] Capitelli CS, Lopes CS, Alves AC, Barbiero J, Oliveira LF, Silva VJ, et al. Opposite effects of bone marrow-derived cells transplantation in MPTP-rat model of Parkinson's disease: a comparison study of mononuclear and mesenchymal stem cells. Int J Med Sci 2014; 11: 1049-1064.
https://doi.org/10.7150/ijms.8182
PMid:25136260 PMCid:PMC4135227
[34] Kang X, Huadong X, Sasa T, Xiaoyu Z, Zijun D, Li Z. Dopamine release from transplanted neural stem cells in Parkinsonian rat striatum in vivo. Pnas 2014; 111: 15804-15809.
https://doi.org/10.1073/pnas.1408484111
PMid:25331880 PMCid:PMC4226131
[35] Hashemvarzi SA, Heidarianpour A. Preconditioning effect of aerobic exercise with D3 Vitamin consumption on VEGF levels in the 6-OHDA lesioned Parkinson's disease rat model. Sport Physiol 2016; 8: 129-142. (Persian).
[36] Lock LT, Tzanakakis ES. Stem/Progenitor cell sources of insulin-producing cells for the treatment of Endoc Metab 2010; 298: E534-E547.
https://doi.org/10.1152/ajpendo.00678.2009
PMid:19996388
[9] Favaloro B, Allocati N, GrazianoV, Dillio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. Aging (Albany NY) 2012; 4: 330.
https://doi.org/10.18632/aging.100459
PMid:22683550 PMCid:PMC3384434
[10] Koçtürk S, Kayatekin BM, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. Eur J Appl Physiol 2008; 102: 515-524.
https://doi.org/10.1007/s00421-007-0612-7
PMid:18030491
[11] Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. The FASEB J 2004; 18: 1150-1152.
https://doi.org/10.1096/fj.03-1291fje
PMid:15132982
[12] Noguchi H. Recent advances in stem cell research for the treatment of diabetes. World J Stem Cells 2009; 1: 36-42.
https://doi.org/10.4252/wjsc.v1.i1.36
PMid:21607105 PMCid:PMC3097914
[13] Mimeault M, Batra SK. Recent progress on normal and malignant pancreatic stem/progenitor cell research: therapeutic implications for the treatment of type 1 or 2 diabetes mellitus and aggressive pancreatic cancer. Gut 2008; 57: 1456-1468.
https://doi.org/10.1136/gut.2008.150052
PMid:18791122 PMCid:PMC2836486
[14] Moradi A, Mohammadi S, Hamidi Alamdari D. Effect of adipose tissue-derived stem cells on the control of the blood glucose level in diabetic rats. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23: 717-726. (Persian).
[15] Krishna KA, Rao GV, Rao KS. Stem cell-based therapy for the treatment of Type 1 diabetes mellitus. Regene Med 2007; 2: 171-177.
https://doi.org/10.2217/17460751.2.2.171
PMid:17465749
[16] Lock LT, Tzanakakis ES. Stem/Progenitor cell sources of insulin-producing cells for the treatment of diabetes. Tissue Eng 2007; 13: 1399-1412.
https://doi.org/10.1089/ten.2007.0047
PMid:17550339
[17] Guo F, Lv S, Lou Y, Tu W, Liao W, Wang Y, et al. Bone marrow stromal cells enhance the angiogenesis in ischaemic cortex after stroke: involvement of notch signalling. Cell Biol Int 2012; 36: 997-1004.
https://doi.org/10.1042/CBI20110596
PMid:22866675
[18] De Salles Bf, Simão R, Fleck SJ, Dias I, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Effects of resistance training on cytokines. Int J Sports Med 2010; 31: 441-450.
https://doi.org/10.1055/s-0030-1251994
PMid:20432196
[19] Tang Z, Yuan L, Gu C, Liu Y, Zhu L. Effect of exercise on the expression of adiponectin mRNA and GLUT4 mRNA in type 2 diabetic rats. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci 2005; 25: 191-193. (Persian).
https://doi.org/10.1007/BF02873574
PMid:16116970
[20] Eizadi M, Behboudi L. Effect of acute and chronic exercise on beta-cell function in diabetic patients. Knowledge Health 2012; 6: 15-19. (Persian).
[21] Adamopoulos S, Parissis J, Karatzas D, Kroupis C, Georgiadis M, Karavolias G, et al. Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fasligand system in patients with chronic heart failure. J Am Coll Cardiol 2002; 39: 653-663.
https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01795-8
https://doi.org/10.1016/S0735-1097(02)80808-7
[22] Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clin Chim Acta 2004; 340: 107-115.
https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.10.003
PMid:14734202

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

diabetes. Tissue Eng 2007; 13: 1399-1412.
https://doi.org/10.1089/ten.2007.0047
PMid:17550339

[37] Zhao Y, Lin B, Dingeldein M, Guo C, Hwang D, Holterman MJ. New type of human blood stem cell: a double-edged sword for the treatment of type 1 diabetes. Transl Res 2010; 155: 211-216.
https://doi.org/10.1016/j.trsl.2010.01.003
PMid:20403575

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]

Effect of progressive aerobic training, injection of adipose tissue-derived stem cells, and their combination on Bax and Bcl-2 levels of beta - pancreatic cells in diabetic rats

Seyed Hosein Babaee Sadati (Ph.D student)*, Abdolreza Jafari Chashmi (Ph.D), Seyed Abdollah Hashemvarzi (Ph.D)
Dept. of Sport Physiology, Branch of Biochemistry and Metabolism, Islamic azad University, sari, Mazandaran, Iran

* Corresponding author. +98 9112561095 syedhoseinbabaeesadati@gmail.com
Received: 27 Apr 2020; Accepted: 21 Sep 2020

Introduction: Apoptosis is protective cellular process the plays an important role in the development and homeostasis of natural tissue as well as disease-causing factors. Current study was accomplished in order to determine the effect of progressive aerobic training with injection of adipose tissue-derived stem cells Bax (as an apoptotic protein) and Bcl-2 (as an anti-apoptotic protein) and the ratio of Bax to Bcl-2 of beta-pancreatic cells in diabetic rats with streptozotocin.

Materials and Methods: 48 rat's adult rats were divided into 6 groups: control, sham, diabetes, exercise, stem cell and exercise +stem cell. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (60 mg/kg) dissolved in citrate buffer, with pH = 4.5. The exercise protocol was treadmill running for 5 days per week with intensity of 60-70% VO2max for 6 weeks. In the stem cell group, 5 ml PBS with 1.5×10^6 stem cells extracted from human adipose tissue of diabetic rats was injected into the tail vein. Levels of Bax and Bcl2 of beta pancreatic cells were measured by laboratory kit.

Results: The findings showed that the levels of Bax and Bcl- 2 significanly increased and decreased in the diabetic grop than the control group, respectively ($P< 0.000$). Bax/Bcl-2 ratio also increased in the diabetic group than the control group. The diabetic groups treated with exercise, stem cells, and both exhibited signifiacly lower Bax and higher Bcl-2 levels than the diabetic group alone. Moreover, in these groups Bax/Bcl-2 ratio was sigficanly lower than the diabetic group alone.

Conclusion: It seems that exercise, stem - cell therapy and the combined treatement could prevent β-cell apoptosis.

Keywords: Exercise, Stem Cells, Mesenchymal Stem Cells, Pancreas, Streptozocin.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.2.242]