

بررسی اثر تمرین هوازی به همراه سلول های بنیادی بر سطوح برخی از شاخص های آپوپتوزی بافت قلب موش های نر نژاد ویستار مدل استئوآرتریت

جاسم جلیلیان^۱، ناصر بهپور^{۲*}، صدیقه حسین پور دلاور^۳، پروین فرزانی^۴

چکیده

زمینه و هدف: استئوآرتریت یک بیماری شایع و دردناک مفصلی با علت نامعلوم می باشد. در این مطالعه تاثیر سلول بنیادی مزانشیمی و تمرین هوازی بر روی شاخص های آپوپتوز (BAX و BCL2) بافت قلب موش های نر ویستار مدل استئوآرتریت مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۲ موش نر (۶ تا ۸ هفته ای، با میانگین وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم)، به دو گروه استئوآرتریت (n=35) و کنترل (n=7) تقسیم شدند استئوآرتریت از طریق جراحی در موش ها القاء و سپس موش های مدل استئوآرتریت به ۵ زیر گروه ۷ سری شامل بیمار، سالین، سلول، تمرین و سلول + تمرین، تقسیم شدند. برنامه تمرین به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. بیومارکهای آپوپتوزی شامل پروتئین های BAX و BCL2 بافت قلب موش ها به روش ELISA اندازه گیری شد. نتایج با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکراهه تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: غلظت BAX در گروه های بیمار و سالین در مقایسه با سایر گروه ها به طور معنی داری بیشتر و غلظت BCL2 در گروه های بیمار و سالین در مقایسه با سایر گروه ها به طور معنی داری کمتر بود (P<۰/۰۰۱). تمرین هوازی و سلول بنیادی به تنهایی و یا تمرین هوازی همراه با سلول بنیادی، سبب افزایش معنی داری در غلظت BCL2 و کاهش معنی داری در غلظت BAX گردید (P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: استئوآرتریت سبب افزایش آپوپتوز سلولهای قلبی می گردد. اگرچه سلول بنیادی دارای اثرات ضدآپوپتوزی می باشد، اما درمان ترکیبی آن با تمرین هوازی موثرتر می باشد.

واژگان کلیدی: آپوپتوز، استئوآرتریت، سلول بنیادی، تمرین هوازی.

۱-دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی.

۲-دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی.

۳-استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی.

۴-دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی.

۱-گروه تربیت بدنی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

۲-گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

۳-گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

* نویسنده مسئول:

ناصر بهپور؛ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۲۳۲۷۱۸۷۳

Email: n_behpoor@yahoo.com

مقدمه

می کند (۶). همچنین مطالعات از ارتباط بین بیماری های قلبی - عروقی و بیماری روماتوئید آرتريت خبر می دهند و یکی از علت های این ارتباط را ناشی از افزایش فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا ($TNF-\alpha$)، می دانند که در اثر بیماری روماتوئید آرتريت ایجاد می شود (۷). این مطالعات دلایل منطقی را برای بررسی بیشتر ارتباط بین استئوآرتريت و بیماری های قلبی - عروقی و مکانیسم های بیولوژیکی و رفتاری مرتبط را فراهم می کند (۷).

عوارض پاتولوژیکی استئوآرتريت، افزایش تخریب ماتریکس خارج سلولی و آپوپتوز (Apoptosis) کندروسیت هستند. آپوپتوز فرایند ضروری فیزیولوژیک است که باعث حذف سلول های ناخواسته یا غیر ضروری از موجود زنده می شود و در صورت فعالیت کم یا زیادتر از حد طبیعی، مشکل ساز می گردد (۸). نیتریک اکساید (NO) Nitric oxide، یک میانجی کلیدی است که در جریان التهاب آزاد می شود و تولید آن به وسیله $TNF-\alpha$ و اینترلوکین ۱ ($IL-1$) افزایش می یابد (۹). در پاسخ به تحریک سایتوکاین ها، نیتریک اکساید درون مفاصل تولید می شود و تأثیراتی روی سلول های سینوویال و اعمال کندروسیت ها می گذارد که سبب آغاز تخریب غضروف مفصلی می گردد. این تأثیرات روی سلولهای سینوویال و کندروسیت ها شامل مهار سنتز کلاژن و پروتئوگلیکان (proteoglycan)، فعال شدن متالوپروتئینازها (metalloproteinase)، فعال سازی آنزیم های تخریب کننده ماتریکس خارج سلولی (ECM) غضروف مفصلی و آگریکان ها (aggrecanase)، افزایش حساسیت به آسیب و آپوپتوز کندروسیت می باشد. در عین حال دگرگونی های التهابی در بافت سینوویال در پاسخ به افزایش سطح رادیکال های آزاد اتفاق می افتد که منجر به فیروز این بافت می گردد (۹، ۱۰، ۱۱).

استئوآرتريت (Osteoarthritis) یک بیماری پیشرونده و تضعیف کننده مفصل است که پیش بینی می شود تا سال ۲۰۴۰ بیش از ۲۵ درصد جمعیت جهان به آن مبتلا شوند. ویژگی اصلی استئوآرتريت، بروز آسیب به مرکز غضروف مفصلی و نیز تشکیل بافت استخوانی جدید در حاشیه و مرکز مفصل است. اما این بیماری تنها محدود به غضروف نبوده، بلکه مفصل سینوویال و تمام بافتهای مرتبط همچون سینوویوم، استخوان ساب کندرال، مینیسک ها و رباط ها را درگیر می کند (۱). به علت افزایش شیوع استئوآرتريت در سنین بالا، این بیماری با بیماریهای زیادی همراهی دارد. شواهد نشانگر این است که افراد مبتلا به استئوآرتريت در معرض خطر بالاتری برای بیماریهای قلبی - عروقی می باشند (۲). نشان داده شده است که ۲۳ درصد از مبتلایان به بیماری عروق کرونری قلب دچار استئوآرتريت بوده اند (۳). با وجود اینکه استئوآرتريت اغلب به عنوان یک بیماری تخریبی شناخته می شود، مطالعات اخیر نشان داده اند که التهاب سینوویال در پیشرفت مراحل اولیه این بیماری نقش دارد. التهاب سیستمیک که در استئوآرتريت وجود دارد، می تواند یکی از فاکتورهای خطر مرتبط با بیماری قلبی - عروقی باشد (۲). نتایج مطالعات نشان می دهد استئوآرتريت یک عامل خطر قابل توجه برای بیماری های قلبی عروقی است که با بیماری های قلبی - عروقی از جمله آنژین صدری (Angina pectoris)، نارسایی احتقانی قلب (CHF)، انفارکتوس میوکارد (MI) و بیماری عروقی محیطی در ارتباط است (۴). ریسک فاکتورهای شناخته شده برای بیماریهای قلبی - عروقی از جمله: سن بالا، چاقی و دیابت نوع ۲ نیز با ایجاد و پیشرفت استئوآرتريت مرتبط بوده اند (۵). پروتئین تراغشایی Z39Ig که در پلاک شریانی کاروتید در انسان است، در پوشش سینوویال هم وجود دارد و این اکتشاف احتمال ارتباط پاتولوژیک بین استئوآرتريت و بیماری قلبی - عروقی را قویتر

و مقرون به صرفه به عنوان جایگزین برای درمان های قبلی الزامی می باشد. بررسی ها درخصوص روش های درمانی استئوآرتریت نشان دهنده شیوع روش های غیرجراحی و کمتر تهاجمی در سطح وسیعی است که می توان به تزریق سلول های بنیادی و پلاسمای سرشار از پلاکت، تمرینات ورزشی، تزریق هیالورونیک اسید اشاره نمود. قابلیت استخراج و تکثیر سلولهای بنیادی مزانشیمی به مقادیر بالا و امکان تمایز به سلولهای مختلف خصوصا سلولهای کندروژنیک (chondrogenic)، سلولهای مزانشیمال را به عنوان مناسب ترین گزینه برای مهندسی بافت غضروف های آسیب دیده مطرح ساخته است (۱۷،۱۶). مطالعات متعدد در زمینه پیوند داخل مفصلی سلول های بنیادی در بیماران دچار استئوآرتریت نشان دهنده اثرات بسیار خوب سلول های بنیادی و بهبود کیفیت زندگی بیماران بوده است (۱۹،۱۸). نشان داده شده است که سلول های بنیادی مزانشیمی mesenchymal stem cells (MSCs) باعث کاهش آپوپتوز از طریق کاهش کاسپاز 3 (Caspase 3) در کندروسیت شده است (۲۰،۲۱). همچنین تزریق سلول های بنیادی مزانشیمی باعث کاهش التهاب سینوویال از طریق کاهش ژن های ضد التهابی و ضد فیروزی شده است که در نهایت کاهش تخریب غضروف مفصلی را در بیماران در پی داشته است (۱). تمرین هوازی نیز می تواند شاخص های التهابی مفصلی و پلاسمایی را در استئوآرتریت کاهش دهد و بهبود عملکرد فیزیکی را در بیماران استئوآرتریت موجب شود (۲۲،۲۳). نشان داده شده است که تمرینات ملایم باعث بهبود عملکرد، قدرت عضلانی، انعطاف پذیری و کاهش التهاب، درد مفصلی و خشکی مفصلی شده است (۱۸). نتایج مطالعات نشان می دهد که ترکیب درمانی سلول های بنیادی و تمرینات هوازی باعث کاهش شاخص های التهابی در موش های مدل استئوآرتریت شده است (۱۰). تاکنون مطالعات متعددی تاثیر درمانی تمرینات هوازی را در درمان

مطالعات نشان داده اند که آپوپتوز کندروسیت ها یکی از فاکتورهای مهم مرتبط با آسیب شناسی استئوآرتریت است، جلوگیری موثر از آپوپتوز کندروسیت ها می تواند از استراتژی های موثر در درمان استئوآرتریت باشد. نتایج نشان دهنده افزایش آپوپتوز به واسطه افزایش فاکتورهای پیش آپوپتوزی Bcl-2-associated X protein (BAX) در مقایسه با فاکتورهای ضد آپوپتوزی از قبیل B-cell lymphoma 2 (BCL2) در حیوانات مدل استئوآرتریت است (۱۲). نتایج مطالعات نشان می دهد که استئوآرتریت با کاهش بیان اینترلوکین ۱۰ (IL-10) و افزایش بیان فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF- α) در بافت غضروف در ارتباط است (۱۳). IL-10 دارای اثرات ضد التهابی و ضد آپوپتوزی بر سلولهای غضروفی است و اثرات محافظتی بر غضروف مفصلی دارد (۱۴). نشان داده شده است که گونه های فعال اکسیژن Reactive oxygen species (ROS)، بیان TNF- α و IL-1 β را در کندروسیت ها افزایش داده و تخریب غضروف مفصلی را در استئوآرتریت سرعت می بخشند. همچنین ROS قادر است، NADPH اکسیداز ۴ (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-4) را فعال کرده و باعث القاء آپوپتوز کندروسیت ها و افزایش بیان متالوپروتئیناز ۱۳ (MMP-13) گردد (۱۰). TNF- α باعث افزایش آپوپتوز از طریق القاء آنزیم نیتریک اکساید سینتاز (iNOS) و نیتریک اکساید (NO)، در میوسیت های قلبی می شود. گزارش شده است که تعدادی از بیماری های ماهیچه قلب (cardiomyopathy)، با آسیب به DNA میتوکندری در چرخه انتقال الکترونی و تنظیم منفی ROS در ارتباط هستند (۱۵).

با توجه به اینکه این بیماری هزینه های سنگینی را به خود بیمار و همچنین سیستم بهداشت و درمان تحمیل می کند. بنابراین یک نیاز مشخص برای یافتن راهکارهای جدید

مطالعات قبلی انتخاب گردید. موش های مورد مطالعه در طی مراحل پژوهش در قفس های پلی کربنات به ابعاد (۱۵ cm × ۱۵ × ۳۰)، در یک شرایط آب و هوایی کنترل شده (دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵ ± ۵ درصد، و یک سیکل شب و روز ۱۲:۱۲) و با رژیم غذایی استاندارد و آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی و تهویه مناسب نگهداری شدند. آب و غذا به صورت آزاد در دسترس آنها بود. آب مصرفی آنها، آب تصفیه شده شهری بود که در ظرف آبخوری از جنس PVC هر روز صبح در دسترس آنها قرار می گرفت و غذای آنها، غذای فشرده و آماده مخصوص موش بود. همه آزمایش های مربوط به حیوانات با توجه به دستورالعمل اخلاقی قوانین هلسینکی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد واحد ساری انجام شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه تایید گردید (NO.19.33.2018).

جداسازی سلولهای بنیادی مزانشیمی موش:

از ویژگیهای منحصر به فرد سلولهای بنیادی مزانشیمی که از آن در جداسازی استفاده شده است توانایی چسبیدن به پلاستیک است. در مطالعه حاضر با بهینه سازی روش چسبیدن به سطح ظرف پلاستیکی، جمعیت هموزن سلولهای بنیادی مزانشیمی با روش اسپیره کردن از مغز استخوان موش جداسازی شد. اساس این روش بر تعویض مداوم محیط کشت بلافاصله پس از کشت سلولهای مغز استخوان است (۲۵،۱۶).

موشهای نر بالغ نژاد ویستار سالم ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرمی طبق مصوبه کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی کشته شدند، استخوان های ران و درشت نی جدا گردید و عضلات و بافت نرم اطراف پاک شد و داخل محیط Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) قرار داده شد. لوله محتوی استخوان های ران و درشت نی بر روی یخ قرار داده شده و به زیر هود منتقل گردید. دو انتهای استخوانها قطع گردیده و با استفاده از

استئوآرتریت مورد بررسی قرار داده اند. نتایج این تحقیقات نشان دهنده تاثیر تمرینات هوازی در کاهش شاخص های آپوپتوزی، التهابی و اکسایشی در مفصل درگیر عارضه استئوآرتریت بوده است. نشان داده شده است که فعالیت هوازی می تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتوتیک BAX و افزایش پروتئین ضدآپوپتوتیک BCL2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C مانع فعال شدن کاسپاز ۹ در عضله قلبی موش های صحرائی شود. کاسپاز ۹ نیز با فعالسازی کاسپاز ۳ می تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود (۲۴). در تحقیقات مربوط با استئوآرتریت معمولاً تغییرات شاخص های آپوپتوزی، اکسایشی و التهابی مفصل مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفته است و تغییرات در بافت های دیگر کمتر مورد ارزیابی قرار گرفته است. از آنجا که استئوآرتریت با سطوح شاخص های اکسایشی، التهابی و آپوپتوزی در ارتباط است و مطالعات نشان داده اند که تزریق سلول های بنیادی و فعالیت های هوازی در کاهش شاخص های التهابی و آپوپتوزی استئوآرتریت مفاصل درگیر عارضه تاثیر گذار بوده است، اما تاکنون تاثیر تزریق سلول های بنیادی و ترکیب آن با فعالیت هوازی بر شاخص های آپوپتوزی، در بافتی غیر از بافت درگیر عارضه استئوآرتریت، مورد بررسی قرار ننگرفته است. با توجه به ارتباط احتمالی متقابل میان استئوآرتریت و بیماری قلبی - عروقی، این پژوهش در پی پاسخ با این سوال است که آیا فعالیت هوازی و سلول های بنیادی می توانند بر متغیرهای آپوپتوز بافت قلب در موش مدل استئوآرتریت تاثیر گذار باشند یا خیر؟

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۲ سر موش نر بالغ نژاد ویستار (۶ تا ۸ هفته ای) با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم که تکثیر آنها در مرکز پژوهش دانشگاه آزاد واحد ساری انجام شده بود، انتخاب و وارد پژوهش شدند. حجم نمونه بر اساس

پیشرفت سریع تغییرات تخریبی غضروف از جمله بی ثباتی مفصل، تشکیل خار استخوان (Osteophyte)، تحلیل پروتئوگلیکان و کندروسیت، و فیبریلایون بافت شده و تخریب مفصل را در پی دارد و نسبت به دیگر روش ها، باعث القاء سریع تراستئوآرتیت می شود (۲۶،۲۷). موش ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، بیهوش و زانوی پای راست آنها تراشیده شد. یک برش عمودی به طول ۱ سانتیمتر در بخش داخلی زانوی پای راست ایجاد گردید. پس از کنار زدن پوست، لیگامان داخلی جانبی زانو کنار زده شده تا مینیسک داخلی مشاهده شود. سپس با ایجاد یک برش که به صورت ناقص منجر به پارگی و ایجاد آسیب در مینیسک شود مدل استئوآرتیت القاء و مجددا ناحیه با روش استریل بخیه زده شد. پس از القاء، تا سه هفته دوره ریکاوری در نظر گرفته شد. موش ها بعد از جراحی به قفس های پلاستیکی جداگانه منتقل شدند و مراقبت های پس از عمل جراحی مناسب اعمال گردید. تمام مراحل در کمترین میزان درد وارده به حیوان، طبق اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. بر اساس مطالعات پس از حداقل ۳ هفته ضایعه استئوآرتیت ایجاد می شود (۲۸). پس از گذشت ۴ هفته، نتایج ارزیابی های بافتی (Histology)، نشان داد که استئوآرتیت ایجاد شده است. موش های مدل استئوآرتیت به صورت تصادفی به ۵ گروه ۷ سری شامل کنترل بیمار، سالین، تمرین هوازی، سلول بنیادی و تمرین + سلول بنیادی تقسیم شدند. ۷ سر موش نیز به عنوان گروه کنترل سالم در نظر گرفته شد. سپس برای هر موش تعداد $10^6 \times 1$ سلول بنیادی به ازای یک کیلوگرم وزن بدن موش در پاساژ ۳ آماده سازی شده و به فضای مفصلی گروه های سلول بنیادی تزریق شد (۱۳،۱۶،۲۵). یک ماه بعد از القاء استئوآرتیت برنامه تمرینی شروع شد.

برنامه تمرین هوازی

سرنگ و سرسوزن شماره ۲۲ مغز استخوان خارج گردید و در دو میلی لیتر HBSS حل گردید. در مرحله بعد سلولها با تراکم 25×10^6 سلول در خانه در ظروف شش خانه ای کشت گردیدند. محیط مورد استفاده DMEM حاوی FBS، ۱۵٪ و آنتی بیوتیک های پنسیلین و استرپتومایسین بود. به فاصله سه ساعت بعد از کشت سلولها، به آرامی محیط کشت سلولها تعویض گردید. در ادامه در یک دوره ۷۲ ساعته، هر هشت ساعت یک بار محیط کشت سلولها تعویض گردید. این کشت تا زمان پر شدن نسبی ظرف توسط سلولهای فیبروبلاستی نگهداری شد. به مدت دو هفته، هر سه روز یکبار محیط کشت سلولها تعویض شد و در پایان این مدت، پاساژ اول انجام گرفت. سلولهای کنده شده از محیط کشت تحت عنوان پاساژ اول از نظر ویژگیهای تمایزی و مارکهای سطح سلولی مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور اثبات ماهیت مزانشیمی، سلولها به دودمانهای مزانشیمی تمایز داده شدند. در ضمن سلول مورد نظر از نظر کلونوژنیک بودن و آنتی ژنهای سطح سلول مورد ارزیابی قرار گرفت. در پاساژهای بعدی نیز مورفولوژی سلول ها به صورت دوکی شکل دیده شد. این اعمال تا پاساژ سوم ادامه یافت. و خلوص سلول ها به بالاتر از ۹۰ درصد رسید. در مجموع عدم بیان مارکهای شاخص سلول های خونی، مورفولوژی دوکی شکل سلولها، کلونوژنیک بودن و توان تکثیر بالا و تمایز به دودمانهای مزانشیمی (استخوان و چربی) ما را متقاعد ساخت سلولهای به دست آمده در این مطالعه جمعیت خالص از سلول های بنیادی مزانشیمی می باشند (۱۳،۱۶،۲۵).

روش القاء استئوآرتیت:

امروزه به صورت گسترده از مدل سازی های جراحی جهت القاء استئوآرتیت استفاده می شود که همگی ناپایداری مفصل را سبب می شود. به منظور القاء استئوآرتیت از روش Zhao و همکاران استفاده شد. این روش باعث

DAY کشور چین با استفاده از طول موج ۴۵۰ نانومتر استفاده گردید.

آنالیزهای آماری

توصیف کمی داده ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد انجام شد. برای بررسی تغییرات معنی داری هر یک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک راهه و در صورت مشاهده تفاوت معنی دار آماری، از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معنی داری برای تمام محاسبات $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۰ انجام شد.

یافته ها

اختلاف معنی داری در میانگین غلظت BAX و BCL2 بین گروه‌ها مشاهده گردید. میانگین غلظت شاخص ضدآپوپتوزی BCL2 در بافت قلبی گروه‌های کنترل بیمار (۱/۴ نانوگرم بر میکروگرم) و سالی (۱/۴ نانوگرم بر میکروگرم) به طور معنی داری کمتر از سایر گروه‌ها بوده است ($p=0/001$). در حالی که غلظت شاخص آپوپتوزی BAX در بافت قلبی گروه‌های کنترل بیمار (۲۰/۸ نانوگرم بر میکروگرم) و سالی (۲۱/۹ نانوگرم بر میکروگرم) به طور معنی داری بیشتر از سایر گروه‌ها بوده است ($p=0/001$). میانگین و انحراف معیار مربوط به سطح شاخص های آپوپتوزی و نتایج حاصل از تحلیل آنوا و آزمون تعقیبی توکی به ترتیب در جدول های ۱ و ۲ و ۳ نشان داده شده است. میانگین و انحراف معیار مربوط به سطح شاخص های آپوپتوزی و نتایج حاصل از تحلیل آنوا و آزمون تعقیبی توکی به ترتیب در جدول های ۱ و ۲ و ۳ نشان داده شده است. نتایج تاثیر تمرین هوازی همراه با تزریق سلول های بنیادی بر روی غلظت فاکتور آپوپتوزی BAX و فاکتور ضد آپوپتوزی BCL2 در بافت قلب موش های مدل

قبل از اجرای برنامه تمرین هوازی، به منظور آشنایی آزمودنی ها با محیط پژوهش و نوار گردان، برنامه تمرینی سبک به مدت ۴ هفته، شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویدن روی نوار گردان، با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه در شیب صفر درصد و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. سپس از هفته پنجم، برنامه تمرینی اصلی تحقیق شامل دویدن روی نوار گردان بدون شیب ویژه جوندگان با مدت فزاینده و با رعایت اصل اضافه بار از ۲۵ دقیقه به ۶۴ دقیقه و تغییر سرعت تمرین از ۱۵ به ۲۲ متر در دقیقه انجام شد. این برنامه به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته اجرا شد. برای گرم کردن نیز آزمودنی ها در ابتدای هر جلسه تمرینی به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه دویده و سپس برای رسیدن به سرعت مورد نظر در هر دقیقه، ۲ متر در دقیقه به سرعت نوار گردان افزوده شد. برای سرد کردن بدن در انتهای هر جلسه تمرینی نیز سرعت نوار گردان به طور معکوس کاهش یافت تا به سرعت اولیه برسد (۲۹).

نمونه گیری بافت قلبی:

پس از اتمام دوره تحقیق، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۴-۱۲ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۵ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن) و زایلوزین (۵ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن) کشته شدند. نمونه های قلبی جدا و در داخل فسفات بافر سالی (PH=۷) در دمای ۴ درجه سانتیگراد هموژنیزه شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دور 12000 rpm با دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شدند. نهایتاً نمونه های حاصل سریعاً در دمای ۸۰ - سانتیگراد ذخیره شده تا برای بررسی های بعدی جهت اندازه گیری بیومارکرهای آپوپتوزی مورد مطالعه قرار گیرند. برای اندازه گیری میزان پروتئین های BAX و Bcl2 با استفاده از کیت های تجاری الیزا ساخت شرکت CRYSTAL BIOTECH

هوازی و تمرین هوازی+ سلول بنیادی متفاوت می باشد. همچنین نتایج نشان داد که غلظت BCL2 در گروه کنترل سالم با غلظت BCL2 در گروه های کنترل بیمار و سالیین متفاوت است، غلظت BCL2 در گروه کنترل بیمار با غلظت BCL2 در گروه های سلول بنیادی، تمرین هوازی و تمرین هوازی+ سلول بنیادی متفاوت است همچنین غلظت BCL2 در گروه سالیین با غلظت BCL2 در گروه های سلول بنیادی، تمرین هوازی و تمرین هوازی+ سلول بنیادی متفاوت می باشد.

نسبت BAX به BCL2، در گروههای تمرین هوازی، سلول بنیادی و تمرین هوازی همراه با سلول بنیادی، به طور معنی داری در مقایسه با گروههای کنترل بیمار و سالیین کاهش یافت ($p=0/001$). اختلاف معنی داری در میانگین نسبت BAX به BCL2 بین گروه های دریافت کننده سلول بنیادی، تمرین هوازی و سلول بنیادی+ تمرین هوازی مشاهده نگردید، هر چند تزریق همزمان سلول بنیادی و تمرین هوازی تا حدودی سبب کاهش بیشتری در این نسبت شد (جدول ۴).

استئوآرتریت نشان داد تفاوت معنی داری در غلظت فاکتور آپوپتوزی BAX ($F=27,921$ ، $Sig = 0,001$) و فاکتور ضد آپوپتوزی BCL2 ($F=11,680$ ، $Sig = 0,001$) بافت قلب موش های مدل استئوآرتریت بین گروه های کنترل سالم، کنترل بیمار، سالیین، سلول بنیادی، تمرین هوازی و تمرین هوازی+ سلول بنیادی بعد از تمرین هوازی همراه با تزریق سلول های بنیادی وجود دارد. به عبارتی، تمرین هوازی همراه با تزریق سلول های بنیادی بر روی غلظت فاکتور آپوپتوزی BAX و فاکتور ضد آپوپتوزی BCL2 بافت قلب موش های مدل استئوآرتریت تاثیر گذار بوده است. با توجه به معنی دار بودن آماره فیشر، جهت مشخص کردن تفاوت های بین گروهی از آزمون پس تعقیبی توکی استفاده شد.

نتایج نشان داد که غلظت BAX در گروه کنترل سالم با غلظت BAX در گروه های کنترل بیمار و سالیین متفاوت است، غلظت BAX در گروه کنترل بیمار با غلظت BAX در گروه های سلول بنیادی، تمرین هوازی و تمرین هوازی+ سلول بنیادی متفاوت است همچنین غلظت BAX در گروه سالیین با غلظت BAX در گروه های سلول بنیادی، تمرین

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار پارامترهای آپوپتوزی در گروه های مختلف (نانوگرم بر میکروگرم بافت)

BCL2	BAX	گروه
BCL2	10.4 ± 1.81331	کنترل سالم
3.1 ± 0.96387	20.8 ± 3.27610	کنترل بیمار
1.4 ± 0.16811	21.9 ± 3.48794	سالیین
1.4 ± 0.33404	12.9 ± 1.95107	سلول
2.5 ± 0.63634	12.8 ± 2.05322	تمرین
2.7 ± 0.47563	11.3 ± 1.80687	تمرین-سلول
2.6 ± 0.43108	0.001	p-value

جدول ۲: مقایسه متغیرهای تحقیق در گروه‌های شش گانه بر اساس آزمون تحلیل واریانس یکراهه

Sig	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات		
۰/۰۰۱*	۲۷/۹۲۱	۱۷۴/۳۸۷	۵	۸۷۱/۹۳۷	بین گروهی	BAX (ng/mg)
		۶/۲۴۶	۳۶	۲۲۴/۸۴۳	درون گروهی	
			۴۱	۱۰۹۶/۷۸۰	جمع	
۰/۰۰۱*	۱۱/۶۸۰	۳/۶۷۱	۵	۱۸/۳۵۶	بین گروهی	BCL2 (ng/mg)
		۰/۳۱۴	۳۶	۱۱/۳۱۵	درون گروهی	
			۴۱	۲۹/۶۷۱	جمع	

علامت* نشانگر معنی‌داری شاخص‌های مورد مطالعه است.

جدول ۳: آزمون پس‌تعقیبی توکی

تمرین - سلول		تمرین		سلول		سالمین		کنترل بیمار		
Sig	تفاوت میانگین	Sig	تفاوت میانگین	Sig	تفاوت میانگین	Sig	تفاوت میانگین	Sig	تفاوت میانگین	
۰,۹۸۶	-۰,۸۷۱۴	۰,۵۰۰	-۲,۳۵۷	۰,۴۴۲	-۲,۴۸۵	۰,۰۰۱	-۱۱,۴۵۷*	۰,۰۰۱	-۱۰,۳۴۲*	کنترل سالم
۰,۰۰۱	۹,۴۷۱*	۰,۰۰۱	۷,۹۸۵*	۰,۰۰۱	۷,۸۵۷*	۰,۹۵۹	-۱,۱۱۴			کنترل بیمار
۰,۰۰۱	۱۰,۵۸۵*	۰,۰۰۱	۹,۱۰۰*	۰,۰۱۷	۸,۹۷۱*					سالمین
۰,۸۳۰	۱,۶۱۴	۱,۰۰۰	۰,۱۲۸۵							سلول
۰,۸۷۳	۱,۴۸۵									تمرین
۰,۵۳۱	۰,۵۱۴۲	۰,۶۳۶	۰,۴۶۴۲	۰,۳۷۷	۰,۵۹۱۴	۰,۰۰۱	۱,۶۹۷*	۰,۰۰۱	۱,۷۷۴*	کنترل سالم
۰,۰۰۲	-۱,۲۶۰*	۰,۰۰۱	-۱,۳۱۰*	۰,۰۰۴	-۱,۱۸۲*	۱,۰۰۰	۰,۰۷۷۱			کنترل بیمار
۰,۰۰۴	-۱,۱۸۲*	۰,۰۰۳	-۱,۲۳۲*	۰,۰۰۹	-۱,۱۰۵*					سالمین
۱,۰۰۰	-۰,۰۷۷۱	۰,۹۹۸	۰,۱۲۷۱							سلول
۱,۰۰۰	۰,۰۵۰۰									تمرین

علامت* نشانگر معنی‌داری شاخص‌های مورد مطالعه است.

جدول ۴: میانگین نسبت BAX به BCL2 (ng/mg)

3.35	کنترل سالم
14.85	بیمار
15.64	سالمین
5.16	سلول
4.74	تمرین
4.34	تمرین + سلول

بحث

در این تحقیق، تاثیر تزریق سلول های بنیادی به تنهایی و یا همراه با تمرین هوازی بر روی تغییرات بیومارکرهای آپوپتوزی بافت قلب موش های مدل استئوآرتریت مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از تحقیق حاضر دال بر این می باشد که افزایش غلظت پروتئین پیش آپوپتوزی BAX و کاهش غلظت پروتئین ضد آپوپتوزی BCL2 احتمالاً یکی از مکانیسم های اثر استئوآرتریت بر روی بافت قلب می باشد که می تواند با آپوپتوز یا مرگ سلول های قلبی همراه باشد. اگرچه مکانیسم دقیق این فرآیند به خوبی شناخته نشده است، اما محققان معتقدند کاهش فعالیت کمپلکس میتوکندری و افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) که همراه با تغییرات عملکرد میتوکندریایی است مهمترین دلیل افزایش فرایند آپوپتوز در سلول های قلبی می باشد (۳۰، ۸). مکانیسم ایجاد استئوآرتریت بسیار پیچیده است. عدم تعادل بین واکنش های آنابولیک و کاتابولیک موثر در هموستاز ماتریکس خارج سلولی در غضروف مفصلی، می تواند باعث تخریب غضروف شده و در ایجاد استئوآرتریت موثر باشد. به نظر می رسد عواملی همچون افزایش فشار مکانیکی و تغییر در فاکتورهای بیوشیمیایی در مفصل نیز از دلایل اولیه پیشرفت بیماری باشد. در استئوآرتریت سلول های بنیادی موجود تحلیل رفته یا ذخیره آنها رو به اتمام است و ظرفیت افزایشی و توانایی تمایزی آنها کاهش پیدا می کند. بنابراین تجویز سیستمیک و یا موضعی سلول های بنیادی به این افراد می تواند سبب افزایش ترمیم و یا مهار از دست رفتن بافت های مفصل شود، زیرا اصلی ترین عملکرد سلول های بنیادی، بازسازی و نوسازی بافت های آسیب دیده و پیر می باشد. علاوه بر این سلول های بنیادی مزانشیمی به دلیل ایمنی زایی اندک و همچنین داشتن اثر تنظیمی بر سیستم ایمنی برای

استفاده درمانی گزینه مناسبی به شمار می آیند (۲۵). تزریق سلول های بنیادی مزانشیمی باعث افزایش قابلیت رهایش فاکتورهای رشد به محل مورد نظر می شود. سلول های بنیادی مزانشیمی که بیشتر از مغز استخوان به دست می آیند، قابلیت بالایی در ترمیم بافت های مزانشیمی دارند. توانایی تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی به آنها اجازه می دهد که به عنوان اجزای سازنده بافت مزودرمی شامل استخوان، غضروف، تاندون و رباط عمل کنند (۱۷). وظیفه اصلی این سلول ها، رهایش مولکول های زیست فعال است که خاصیت ضد آپوپتوزی، ضد التهابی، افزایش رگ زایی و تسریع فرآیند ترمیم را دارند. فاکتورهای شیمیایی که غضروف سازی را در آزمایشگاه تسریع می بخشند، شامل BMP ها، $TGF-\beta$ و IGF ها هستند (۳۱). رخدادهای مولکولی آپوپتوز به طور اساسی به واسطه تعادل بین پروتئین های ویژه تنظیمی پیش و ضد آپوپتوزی مشخص می شود. در این بین پروتئین های BAX و BCL2 به عنوان پروتئین های اصلی در شکل گیری آپوپتوز و پیام های آپوپتوز میتوکندریایی درگیر می شوند (۳۲). سیگنال های مرگ سبب راه اندازی پروتئین های آپوپتوزی (بویژه BAX) می گردند. این پروتئین ها موجب تراوش سیتوکروم C از میتوکندری به بیرون می شوند. سیتوکروم C آزاد شده و فاکتور فعال کننده آپوپتوزی Apaf-1 Apoptotic protease activating factor 1، به کاسپاز ۹ متصل گشته و آبشار کاسپازی را فعال می کند. فعال سازی کاسپازها یک نقطه کلیدی در مسیر آپوپتوز است و به دنبال فعال شدن آنها، سلول از راه های گوناگون از بین می رود. فعال شدن آنزیمی کاسپاز ۹ به فعالیت کاسپاز ۳ منتهی می شود. فصل مشترک همه مسیرهای آپوپتوزی در نهایت فعال سازی کاسپاز ۳ و تجزیه پروتئین های حیاتی سلول است (۳). پروتئین Bcl2 می تواند با Bax هترو دایمر

طریق کاهش کاسپاز ۳ در کندروسیت شد (20). نتایج این تحقیق با یافته های پژوهش حاضر همخوانی دارد، از جمله کاهش کاسپاز ۳، که فصل مشترک همه مسیرهای آپوتوزی است. با این تفاوت که در این تحقیق تاثیر سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی بر کندروسیت مورد ارزیابی قرار گرفته است. در یک پژوهش تحلیلی Chahal و همکاران (۲۰۱۹)، دریافتند که تزریق سلول های بنیادی مزانشیمی باعث کاهش فاکتورهای پیش التهابی مایع سینوویال از قبیل IL-12 و افزایش فاکتورهای ضدالتهابی و ضدآپوتوزی شده است. همچنین پیشنهاد کردند که سلول های بنیادی، گیرنده های آدیپونکتین (Adiponectin) را که بر روی مونوسیت ها و ماکروفاژهای مفصل آرتزیتی قرار دارند فعال می نمایند. با توجه به کاهش سطوح ماکروفاژها و مونوسیت های پیش التهابی مایع سینوویال و همچنین کاهش سایتوکین پیش التهابی IL-12، نویسندگان بیان کردند که، اصولاً سلولهای بنیادی مزانشیمی به عنوان کاهش دهنده التهاب سینوویال عمل می کنند. همچنین نتایج نشان داد که تزریق دوزهای بیشتر سلولهای بنیادی (۵۰ میلیون)، در مقایسه با دوزهای کمتر (۱۰ میلیون)، اثرات محافظتی بیشتری بر غضروف مفصلی دارد (۱). نتایج این پژوهش با تحقیق حاضر از نظر کاهش التهاب مشابه است با این تفاوت که آنان از دوزهای بیشتری از سلول های بنیادی استفاده کردند. آدیپونکتین حساسیت به انسولین را افزایش می دهد. انسولین، کندروبلاست ها و کندروسیت ها را تحریک می کند تا پروتئوگلیکان ها را که برای عملکرد مناسب غضروف ها ضروری هستند ترشح کنند. کاهش حساسیت به انسولین تاثیر منفی بر غضروف دارد (۳۴).

نتایج مطالعه Bhatti و همکاران (۲۰۱۶)، نشان داد که پیش درمانی با ویتامین E، سلول بنیادی مزانشیمی را توانا می سازد تا استرس های اکسیداتیو القا شده با پر اکسید هیدروژن (H₂O₂)، در موش های مدل استئوآرتریت را خنثی کند. افزایش قدرت درمانی سلول های بنیادی مزانشیمی،

تشکیل دهد و مانع از تشکیل کانال های یونی و در نتیجه آزاد شدن سیتوکروم C شود. در حالت طبیعی Bcl2 با تشکیل هترودایمر با Bax مانع از انجام آپوتوز می شود (۳۳).

نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده تا حدود زیادی مشابه یافته های پژوهش حاضر می باشد. با این تفاوت که در این تحقیق بیومارکرهای آپوتوزی در بافت قلبی مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این تحقیق نشان داد که آسیب قلبی در موش های دریافت کننده سلول بنیادی به طور معنی داری در مقایسه با گروه بیمار کاهش یافته بود. این اثرات با کاهش معنی داری در سطح پروتئین پیش آپوتوزی BAX و افزایش معنی دار در پروتئین ضد آپوتوزی BCL2 و همچنین کاهش معنی دار در نسبت BAX/BCL2 همراه بوده است. اگر چه تزریق سلول های بنیادی و یا تمرین هوازی به تنهایی سبب بهبود در وضعیت آپوتوزی سلول های بافت قلبی گردید، اما تجویز ترکیبی سلول های بنیادی همراه با ورزش هوازی تاثیر درمانی قویتری را نشان داد.

تاکنون مطالعات متعددی تاثیر درمانی سلول های بنیادی را در درمان استئوآرتریت مورد بررسی قرار داده اند. برای مثال Zhou و همکاران (۲۰۱۸)، به بررسی تاثیر سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی Adipose derived mesenchymal stem cells (ADMSCs) بر موش های مدل استئوآرتریت زانو و هم چنین تاثیر آن بر آپوتوز کندروسیت پرداختند. نتایج نشان داد که ADMSCs استئوآرتریت و تحلیل غضروفی را کاهش داده است. ADMSCs بیان کلاژن نوع II (COL2) و فاکتور غضروف ساز ساکس ۹ (SOX9) را افزایش داد در حالی که باعث تنظیم کاهشی فاکتور تخریبی matrix 13 metalloproteinase (MMP13) و IL-1 β در کندروسیت های تحریک شده شد. علاوه بر این، ADMSCs باعث کاهش سایتوکین های پیش التهابی IL-6, IL-1 β و TNF- α شد. همچنین ADMSCs، باعث کاهش آپوتوز از

که تمرین درمانی دارای اثرات عملکردی خوبی است، اما تغلیظ مغز استخوان و پلاسمای غنی از پلاکت، تاثیر بیشتری بر درمان بیماران دارای استئوآرتریت ملایم زانو دارد (۳۷).

در مورد نقش ورزش در بهبود استئوآرتریت نیز تحقیقات متعددی روی مدل‌های انسانی و حیوانی انجام شده که تقریباً در مورد اثربخشی ورزش با شدت متوسط، اکثر مطالعات با یکدیگر توافق نظر دارند. در حالی که نتایج برخی از تحقیقات، از نقش مخرب تمرین شدید در بروز استئوآرتریت حکایت دارند. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که اثر مثبت تمرین با شدت کم و متوسط، احتمالاً به دلیل کاهش سطح مرگ سلولی کندروسیت‌ها مربوط به پروتئین شوک گرمایی ۷۰ (Hsp70)، از طریق ظرفیت‌های آنتی-آپوپتوتیک بوده است (۳۸). برای مثال Galois و همکاران (۲۰۰۴)، در پژوهشی دریافتند که فعالیت بدنی منظم سبک تا متوسط، تاثیرات سودمندی بر کندروسیت موش‌های مدل استئوآرتریت دارد. برعکس یک تمرین شدید این اثر محافظتی را از بین می‌برد. این اثر محافظتی می‌تواند به سطوح کاهش یافته آپوپتوز کندروسیت‌ها به واسطه افزایش ظرفیت‌های ضد آپوپتوزی از طریق افزایش بیان Hsp70 مربوط باشد. افزایش بیان Hsp70، ممکن است یک رویکرد بسیار موثر برای جلوگیری از مرگ سلولی آپوپتوتیک، از طریق اعمال اثرات آنتی آپوپتوتیک روی کندروسیت‌ها باشد (۲۶). Franciozi و همکاران (۲۰۱۳)، دریافتند که تمرینات شدید، به دلیل مرگ سلولی غضروف و تغییر سطوح گلیکوزآمینوگلیکان‌ها (glycosaminoglycans)، باعث ایجاد استئوآرتریت در موش‌ها می‌شود. برنامه تمرینی آنها شامل یک برنامه دویدن شدید فزاینده روی تردمیل بود که به مدت ۱۲ هفته و مسافت ۵۵ کیلومتر اجرا شد. در پایان یک برنامه فوق‌استقامتی تا سرحد خستگی روی موش‌ها صورت گرفت. نتایج نشان داد که، سطوح کاسپاز ۳ و سایتوکین‌های التهابی IL-1 α و TNF- α در گروه تمرین کرده افزایش یافتند

باعث افزایش بیان فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF β)، کاهش آپوپتوز (کاهش کاسپاز ۳)، افزایش مقادیر پروتئوگلیکان ماتریکس غضروفی و افزایش شاخص‌های کندروژنیک در موش‌های مدل استئوآرتریت شد. روی هم رفته نتایج نشان داد که استرس‌های اکسیداتیو مانع اصلی ترمیم غضروف در استئوآرتریت هستند و عوامل آنتی‌اکسیدانی نقش اساسی در این زمینه دارند. عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌توانند قدرت درمانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را افزایش داده و از پیشرفت استئوآرتریت جلوگیری به عمل آورند و به صورت بالقوه، درمان استئوآرتریت را افزایش دهند (۳۵). نتایج مطالعه FAN و همکاران (۲۰۱۸)، نشان داد که ۴ هفته بعد از القاء استئوآرتریت در موش‌ها، سطوح TNF- α ، IL-1 β و IL-6 بیشتر از موش‌های گروه کنترل بود. درمان با سلول‌های بنیادی، به طور برجسته‌ای، تحلیل غضروفی و تنظیم افزایشی IL-1 β را کاهش داد. بیان ژن Notch1 در گروه درمان افزایش یافت. همچنین مقادیر نسبت Bcl-2/Bax در موش‌های مدل استئوآرتریت پایین‌تر از گروه کنترل بود. در حالیکه درمان با سلول‌های بنیادی مقادیر نسبت Bcl-2/Bax را افزایش داد. در کل نتایج نشان داد که درمان با سلول‌های بنیادی باعث تنظیم کاهش‌یابی سایتوکین‌های التهابی و کاهش استئوآرتریت در زانوی موش‌ها شده است و مسیر سیگنالینگ Notch1، نقش مهمی در تعدیل این اثرات درمانی سلول‌های بنیادی داشته است (۳۶). نتایج این تحقیق از لحاظ کاهش نسبت Bax/Bcl2، با تحقیق حاضر همسو است. Centeno و همکاران (۲۰۱۹)، به مقایسه تاثیر سلول‌های بنیادی حاصل از تغلیظ مغز استخوان و پلاسمای غنی از پلاکت در مقایسه با ورزش بر درمان بیماران دارای استئوآرتریت ملایم زانو پرداختند. برنامه تمرینی آنان شامل برخی از تمرینات خانگی از جمله تمرینات تقویتی و مقاومتی برای اندام تحتانی و هوازی بود که به مدت ۶ هفته انجام گرفت. نتایج نشان داد با وجودی

استرس اکسایشی و آپوپتوز دخیل است، کاهش و بیان IL-10 را در گروه تمرین هوازی افزایش داده است (۲۳). همین محقق در مطالعه دیگری به ارزیابی اثرات تمرین هوازی و لیزر درمانی کم توان بر میانجی های تخریبی و التهابی غضروف مفصلی در موش های مدل استئوآرتروز پرداخت. نتایج نشان دهنده کاهش بیان سایتوکین های پیش التهابی MMP-13، کاسپاز-۳ و IL-1 β در گروه های تمرین و لیزر تراپی بود. این تحقیقات از نظر مدت و نوع برنامه تمرینی، تقریباً با تحقیق حاضر مشابه هستند (۲۲). همچنین Musumeci و همکاران (۲۰۱۳)، در مطالعه ای به بررسی تاثیر فعالیت بدنی (دویدن روی تردمیل و استفاده از تخته لرزان) و گلوکوکورتیکوئید بر آپوپتوز و بیان لوپریسین (lubricin) در موش های مدل استئوآرتروز پرداختند. نتایج نشان داد که تعادل فیزیولوژیکی بین لوپریسین و کاسپاز ۳ می تواند یکپارچگی غضروف را حفظ کند. بنابراین، نتیجه گرفته شد که فعالیت بدنی می تواند به عنوان یک رویکرد درمانی برای بیماری غضروف مانند استئوآرتروز استفاده شود (۴۲). در پژوهشی دیگر Rios و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر تمرینات با شدت و مدت متفاوت بر سلامتی مفصل زانو در موش های صحرایی مدل استئوآرتروز را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که تمرین هوازی موجب اثر محافظتی بالقوه از طریق کاهش سطح آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (Cyclooxygenase-2) در سینهویوم می شود (۴۳). Cifuentes و همکاران (۲۰۱۰)، در پژوهشی تاثیر فعالیت منظم بر کاهش استرس اکسیداتیو و تغییرات هیستولوژیک در موش های استئوآرتروزی با مونوسدیم یودواستات را مورد بررسی قرار دادند. برنامه تمرینی شامل ۸ هفته دویدن روی تردمیل به مدت ۳ روز در هفته و ۵۰ دقیقه در روز با شیب یک درصد و سرعت ۱۳ متر بر دقیقه بود. نتایج نشان داد که فعالیت بدنی در محافظت از غضروف مفصلی در حیوانات مدل استئوآرتروز تاثیر گذار است و باعث افزایش سیستم

و کاهش معنی داری در سطوح کندروئین سولفات و اسید هیالورونیک مشاهده شد (۳۹). Zhang و همکاران (۲۰۱۹)، نشان دادند تمرین هوازی با شدت متوسط (۴ هفته و ۵ روز در هفته با شدت ۱۸ متر در دقیقه، ۶۰ دقیقه در روز)، در مقایسه با تمرینات پرشدت، می تواند استئوآرتروز را تسکین دهد و کلاژن نوع II را افزایش دهد. همچنین این نوع تمرینات می تواند جابجایی فاکتور هسته ای کاپا (NF-kB) را که یک فاکتور التهابی است و موجب بیان فاکتورهای تخریبی MMP-13 و ADAMTS5 (A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5) در استئوآرتروز می شود، کاهش دهد (۴۰). Castrogiovanni و همکاران (۲۰۱۹)، تاثیر فعالیت ملایم تا متوسط را بر شاخص های التهابی و ضد التهابی موش های مدل استئوآرتروز مورد بررسی قرار دادند. برنامه تمرینی شامل ۱۲ هفته و ۳ جلسه در هفته دویدن روی تردمیل بود که به صورت فزاینده از ۵ دقیقه در هفته اول به ۲۵ دقیقه در هفته دوازدهم و سرعت هم از ۵ متر بر دقیقه در هفته اول به ۲۵ متر بر دقیقه در هفته دوازدهم رسید. نتایج نشان داد که تمرین بدنی ملایم باعث کاهش بیان شاخص های التهابی مرتبط با استئوآرتروز، شامل IL-1 β ، TNF- α و MMP-13 و افزایش بیان شاخص های ضد التهابی شامل IL-4، IL-10 و لوپریسین (lubricin)، در سینهویوم شد، که محافظت از غضروف را در پی دارد. همچنین آنها بیان کردند که فعالیت های بدنی با شدت ملایم تا متوسط ممکن است از اختلال عملکرد سینهویوسیت نوع B در مراحل اولیه استئوآرتروز جلوگیری کند و پیشرفت این بیماری را به تاخیر اندازد (۴۱). نوع تمرین بکار رفته در این پژوهش از لحاظ فزاینده بودن، با تحقیق حاضر همسو است. در پژوهشی دیگر Assis و همکاران (۲۰۱۸)، تاثیر هشت هفته تمرینات هوازی و لیزر تراپی را بر غضروف مفصلی موش های مدل استئوآرتروز مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که تمرینات هوازی بیان ژن iNOS را که در ایجاد

است فرآیندهای پیام رسانی مربوط به آپوپتوز را در بافت های پیکری حساس مانند میوکارد تغییر دهد (۳۳). مکانیسم های حفاظت در برابر آپوپتوز، ممکن است به وسیله فاکتور هسته ای کاپا بی (NF-kB) متاثر شود. نتایج مطالعات نشان می دهد که استرس های اکسیداتیو و سایتوکاین هایی نظیر $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ باعث تحریک مسیر NF-kB، در کندروسیت ها و سینیوم می شود. به دنبال آن سلول های مفصلی، MMPs، ADAMTS، مولکول های آپوپتوز ($COX2$, NO, PGE2)، کموکاین های ($IL-8$) و سایتوکاین هایی چون ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$) را تولید می کنند که منجر به تخریب غضروف و التهاب غشای سینیوم می شود (۴۸). نتایج مطالعات نشان می دهد که برنامه های تمرینی با تمرکز بر بهبود ظرفیت هوازی، قدرت عضلات چهار سر ران یا عملکرد اندام تحتانی، به عنوان درمان بهینه برای استئوآرتریت زانو در نظر گرفته شده اند (۴۹). اختلال عملکرد میتوکندری، استرس اکسیداتیو و اختلال در پاسخ به استرس، در آپوپتوز نقش دارند (۵۰). مطالعات نشان داده اند که تمرینات هوازی باعث تغییر بیان ژن هایی از جمله سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، ATP، حساس به کانال های پتاسیم، مونو آمینواکسیداز (MAO) و سیرتیوئین ۳ (SIRT3) میتوکندریایی می شود که متعاقب آن باعث کاهش آپوپتوز و بسیاری از صدمات میتوکندری می شود. شواهد تجربی نشان می دهد که افزایش بیان ژن SOD2 میتوکندری، می تواند نقش مهمی در جلوگیری از آسیب های قلبی داشته باشد (۸). نشان داده شده است که استرس های مکانیکی ناشی از ورزش، می تواند اثر مستقیمی بر متابولیسم غضروف داشته باشد و باعث القاء فاکتورهای آنتی آپوپتوتیک شوند. علاوه بر این فاکتورهای فشاری و کششی و نیروهای برشی ناشی از تمرینات هوازی، باعث تنظیم افزایشی پروتئوگلیکان ها و کلاژن ها شده و قویا از التهاب مفصل جلوگیری به عمل آورند. تمرینات ملایم

دفاعی ضد استرس های اکسیداتیو می شود. نویسندگان بیان کردند که دلیل این موضوع احتمالاً ناشی از افزایش فعالیت آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز Superoxide Dismutase (SOD) و میلوپراکسیداز Myeloperoxidase (MPO)، که نوعی آنتی اکسیدان هستند، می باشد. و همچنین بیان کردند که نیروهای کششی به عنوان سیگنال های ضد التهابی قوی عمل می کنند و باعث مهار $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ شده و از رونویسی ژن های پیش التهابی جلوگیری به عمل می آورند؛ و باعث القاء تغییرات آنابولیکی در بافت می شوند (۴۴).

Milares و همکاران (۲۰۱۶)، در تحقیقی به تاثیر یک برنامه تمرین در آب و لیزر تراپی بر غضروف مفصلی موش های مدل استئوآرتریت پرداختند. نتایج نشان دهنده تاثیر تمرین در آب و لیزر تراپی در جلوگیری از تخریب غضروف مفصلی بود. همچنین برنامه تمرین ورزشی اثرات ضد التهابی را در موشهای مدل استئوآرتریت به همراه داشت (۴۵). Lu و همکاران (۲۰۱۵)، در پژوهشی به مقایسه اثرات تمرینات تناوبی پر شدت (HIT) و تمرینات هوازی مداوم با شدت متوسط بر آپوپتوز، استرس اکسیداتیو و متابولیسم موش مدل انفارکتوس میوکارد پرداختند. نتایج نشان داد که هر دو نوع تمرین، به طور یکسان آپوپتوز را در موش مدل انفارکتوس میوکارد کاهش داده اند (۱۱). نوروزی کمره و همکاران (۱۳۹۷)، نشان دادند که بیان کاسپاز-۳ بافت قلبی رت های نر به صورت معنی داری در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است (۴۶). شریفی و همکاران (۱۳۹۵)، نتیجه گرفتند که با توجه به کاهش معنی دار نسبت Bax/Bcl2، تمرین هوازی می تواند به عنوان راهبرد غیر دارویی، موجب محافظت سلول های قلب از مرگ سلولی برنامه ریزی شده ناشی از القای دوکسورویسین شود (۲۹). نشان داده شده است که به دنبال تمرینات هوازی، آپوپتوز سلول های ماهیچه قلب کمتر و تکثیر آنها بیشتر می گردد (۴۷). برخی از شواهد حاکی از آن است که تمرینات هوازی ممکن

التهابی، نقش مهمی در آسیب شناسی بیماریهای قلبی عروقی دارد و همچنین مطالعات ارتباط احتمالی متقابل میان استئوآرتریت و بیماری قلبی- عروقی را نشان داده اند، به نظر می رسد یکی از علت های احتمالی این ارتباط، می تواند به دلیل التهاب سیستمیک و افزایش سطوح رادیکال های آزاد موجود در گردش خون سیستمی باشد که در اثر بیماری استئوآرتریت ایجاد می شود. پس می توان نتیجه گرفت که علت افزایش آپوپتوز بافت قلب، وجود التهاب سیستمیک و رادیکال های آزاد موجود در گردش خون است که ناشی از بیماری استئوآرتریت است؛ و احتمالاً سلول های بنیادی و تمرین هوازی توانسته اند با تخفیف استئوآرتریت و بهبود آن، التهاب سیستمیک و سطوح رادیکال های آزاد موجود در گردش خون را کاهش داده و موجب بهبود روند آپوپتوز در بافت قلب موشهای مبتلا به استئوآرتریت شوند. از محدودیت های این تحقیق می توان به عدم اندازه گیری و ارزیابی استئوآرتریت در پایان مطالعه اشاره کرد.

نتیجه گیری

یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد که استئوآرتریت با افزایش آپوپتوز در بافت قلب همراه می باشد. نتایج این تحقیق نشان می دهد که درمان ترکیبی سلول بنیادی و تمرین ورزشی هوازی، می تواند سبب تعادل بیشتر در وضعیت آپوپتوزی بافت قلبی بیماران استئوآرتریت گردد. با توجه به نتایج این پژوهش، لازم است در افرادی که دچار ریسک فاکتورهای قلبی- عروقی هستند، بررسی از نظر استئوآرتریت برای شناسایی زودتر و اجرای برنامه های توانبخشی انجام شود. از طرف دیگر، در افراد مراجعه کننده به کلینیک های ارتوپدی و روماتولوژی، به شناسایی و درمان هرچه سریعتر ریسک فاکتورهای قلبی- عروقی توجه شود. با توجه به بهبود بیشتر وضعیت آپوپتوزی در گروه تمرین هوازی+سلول بنیادی در این تحقیق، پیشنهاد می شود تحقیقات بیشتری در

هوازی تغییرات مهمی را در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش مقاومت بافتی در برابر رادیکال های آزاد به وجود آورده است. نتایج مطالعات نشان می دهد فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز بعد از تمرینات هوازی در موش های جوان افزایش یافته است (۵۱).

با توجه به نتایج تحقیقات صورت گرفته در مورد تاثیر فعالیت هوازی بر استئوآرتریت می توان نتیجه گرفت که فعالیت هوازی باعث کاهش بیان فاکتورهای تخریبی و افزایش بیان فاکتورهای غضروف ساز، افزایش ظرفیت های آنتی آپوپتوتیک، کاهش بیان سایتوکین های پیش التهابی و افزایش بیان سایتوکین های ضد التهابی، کاهش سطح آنزیم های التهابی و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در مفاصل درگیر عارضه استئوآرتریت شده است. همچنین تزریق سلول های بنیادی می تواند از طریق افزایش قابلیت رهایش فاکتورهای رشد و ترشح فاکتورها و سایتوکین ها به عنوان یک رویکرد درمانی با خواص ضد آپوپتوزی در جهت کاهش آپوپتوز در بافت قلبی بیماران مبتلا به استئوآرتریت مورد استفاده قرار گیرد. نظر به اینکه نتایج مطالعات نشان می دهد که تمرینات هوازی ظرفیت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهند و همچنین نشان داده شده است که افزایش ظرفیت های آنتی اکسیدانی باعث افزایش قدرت درمانی سلولهای بنیادی می شود، پس می توان نتیجه گرفت که کاهش نسبتاً بیشتر در غلظت پروتئین BAX و افزایش بیشتر در غلظت پروتئین BCL2 در این تحقیق، احتمالاً به دلیل تاثیر تمرین هوازی در تقویت قدرت درمانی سلول های بنیادی مزانشیمی باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که استئوآرتریت باعث افزایش شاخص های آپوپتوزی در بافت قلب موش های مدل استئوآرتریت شده است. با توجه به این که استئوآرتریت با افزایش عوامل اکسایشی و التهابی در ارتباط است و نتایج مطالعات نشان داده اند که افزایش شاخص های اکسایشی و

ممکن است در ایجاد استئوآرتریت موثر باشد پیشنهاد می شود مطالعاتی در این خصوص انجام شود.

خصوصاً تاثیر تمرینات گوناگون ورزشی در افزایش قدرت درمانی سلول های بنیادی در بیماری های گوناگون صورت گیرد. همچنین با توجه به اینکه افزایش مقاومت به انسولین

منابع

- 1-Chahal J , Gomez-Aristizabal A, Shashank K, Chaboureau A , Fazio A and et al. Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cell Treatment in Patients with Osteoarthritis Results in Overall Improvement in Pain and Symptoms and Reduces Synovial Inflammation. *Stem Cells Transl Med.* 2019 Aug; 8(8):746-757.
- 2-Hasandokht T, Salari A, Salari A, Fazeli A, Ashkan M. Evaluation of Relation between Cardiovascular Risk Factors and Osteoarthritis; Results of the Cross Sectional Study. *Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences,* June, 2019; Vol. 23, No 2, Pages 209-215. [Persian]
- 3-Prior JA, Jordan KP, Kadam UT. Associations between cardiovascular disease severity, osteoarthritis co-morbidity and physical health: a population-based study. *Rheumatology (Oxford).* 2014 Oct; 53(10):1794-802.
- 4-Wang H, Bai J, He B, Hu X, Liu D. Osteoarthritis and the risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of observational studies. *Sci Rep.* 2016 Dec 22;6:39672.
- 5-Rahman MM, Kopec JA, Anis AH, Cibere J, Goldsmith CH. Risk of cardiovascular disease patients with osteoarthritis: a prospective in longitudinal study. *Arthritis Care Res* 2013; 65(12): 1951-8
- 6-Lee MY, Kim WJ, Kang YJ, Jung YM, Kang YM, Suk K, et al. Z39Ig is expressed on macrophages and may mediate inflammatory reactions in arthritis and atherosclerosis. *J Leukoc Biol* 2006; 80(4): 922-8.
- 7-Barnabe C, Billie-Jean Martin, William A. Ghali. Systematic review and meta-analysis: Anti-tumor necrosis factor α therapy and cardiovascular events in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2011 Apr; 63(4):522-9.
- 8-Montazeri F, Rahgozar S, Gaemi K. apoptosis and cytoplasmic organelles. *Genetics In The 3rd Millennium* 2011; 9(1): 2300-12. [Persian]
- 9-Wojdasiewicz, P., Poniatowski, L. A., & Szukiewicz, D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:561459.
- 10-Franz A, Joseph L, Mayer C, Harmsen JF, Schrupf H, Fröbel J, Ostapczuk MS, Krauspe R, Zilkens C. The role of oxidative and nitrosative stress in the pathology of osteoarthritis: Novel candidate biomarkers for quantification of degenerative changes in the knee joint. *Orthop Rev (Pavia).* 2018 Jun 14; 10(2):7460.
- 11-Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Mol Med Rep* 2015; 12(2): 2374-82.
- 12-Kourtis A, Adamopoulos PG, Papalois A, Iliopoulos DC, Babis GC, Scorilas A. Quantitative analysis and study of the mRNA expression levels of apoptotic genes BCL2, BAX and BCL2L12 in the articular cartilage of an animal model of osteoarthritis. *Ann Transl Med.* 2018 Jun;6(12):243.
- 13-Asadi S, Farzanegi P, Azarbayjani M. Effect of exercise, ozone and mesenchymal stem cells therapies on the expression of IL-10 and TNF- α in the cartilage tissue of rats with knee osteoarthritis. *Social Determinants of Health* .vol 4, no 3(2018).
- 14-Lems WF, den Uyl D. Exercise-induced changes in interleukin-10 in patients with knee osteoarthritis: new perspectives? *Arthritis Res Ther.* 2010;12(4):131.
- 15-Kwak HB. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the Heart. *J Exerc Rehabil.* 2013 Apr; 9(2): 212–219.
- 16-Soleimani M, Nadri S, Izadpanah R. Isolation of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow: frequent medium change method. *Tehran Univ Med J.* 2008; 66 (4):229-236. [Persian]
- 17-Ataie M, Solouk A, Bagheri F, Seyed Jafari E. Regeneration of musculoskeletal injuries using mesenchymal stem cells loaded scaffolds: review article. *Tehran University Medical Journal,* July 2017; Vol. 75, No. 4: 241-250. [Persian]
- 18-Gibbs N, Diamond R, Sekyere E, and Thomas W .Management of knee osteoarthritis by combined stromal vascular fraction cell therapy, platelet-rich plasma, and musculoskeletal exercises: a case series. *J Pain Res.* 2015; 8: 799–806.

- 19-Bartels EM, Juhl CB, Christensen R, Hagen KB, Danneskiold-Samsøe B, Dagfinrud H, et al. Aquatic exercise for the treatment of knee and hip osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016; 3:Cd005523
- 20-Zhou J, Wang Y, Liu Y, Zeng H, Xu H, Lian F. Adipose derived mesenchymal stem cells alleviated osteoarthritis and chondrocyte apoptosis through autophagy inducing. *J Cell Biochem*. 2018 Oct 13.
- 21-Zhang Y, Yuan M, Cheng L, Lin L, Du H and Chen R. Treadmill exercise enhances therapeutic potency of transplanted bone mesenchymal stem cells in cerebral ischemic rats via anti-apoptotic effects. Published online 2015 Sep 5. 2015; 16: 56.
- 22-Assis L, Milares L.P, Almeida T, Tim C, Magri A, Fernandes C.K.R, Medalha and A.C. Muniz Renno. Aerobic exercise training and low-level laser therapy modulate inflammatory response and degenerative process in an experimental model of knee osteoarthritis in rats. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016 Jan; 24(1):169-77.
- 23-Assis L, Tim C, Martignago C, Rodrigues S, Ana Muniz Renno C. Effectiveness of photobiomodulation therapy and aerobic exercise training on articular cartilage in an experimental model of osteoarthritis in rats. 2018, San Francisco, California, United States.
- 24-akbari M, moradi L, alizadeh R, abbasi dalooi A. Investigating the Effects of Endurance Training and Gallic Acid on Annexin-5 and caspase-3 of Cardiac Tissue in Male Wistar Rats Undergoing Boldenone. *cmja*. 2018; 8 (2):2279-2292. [Persian]
- 25-Sadraie M, Mehrabani D, Vahdati A. Comparison of therapeutic effects of bone marrow mesenchymal stem cells and liquid culture environment (secret) in the treatment of induced knee abrasion created in guinea pigs. *Armaghane danesh*. 2015, 20(8):651-665. [Persian]
- 26-Galois L, Etienne S, Grossin L, Pinzano A, Henrionnet C, Loeuille D, Netter P, Mainard D and Gillet P. Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study Université Nancy I, France. Department of Orthopaedic Surgery, University Hospital of Nancy, France *OsteoArthritis and Cartilage* (2004) 12, 779e786.
- 27-Zhao Y, Liu B, Liu CJ. Establishment of a surgically-induced model in mice to investigate the protective role of progranulin in osteoarthritis. *J Vis Exp*. 2014; (84): 50924.
- 28-Emmanuel L. Kuyinu, Ganesh Narayanan, Lakshmi S. Nair, and Cato T. Laurencin. Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, volume 11, Article number: 19 (2016).
- 29-Sharifi F, Roshan V, Mazaheri Z. Effect of Pretreatment of Aerobic Training on Doxorubicin-induced Left Ventricular Apoptosis Gene Expression in Aging Model Rats. *MJMS*. 2016; 19 (2):29-43. [Persian]
- 30-Safarzadeh Gargari S, Homai M, Mousavi Z. Effects of continues exercise on BAX and BCL-2 heart proteins following by different dos of H2O2 consumption in rat male. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci* 2018; 26(4): 363-73. [Persian]
- 31-Jonidi Shariatzadeh F, Gheydari K, Solouk A, Bonakdar S. Use of Stem Cells in Cartilage Tissue Regeneration and Engineering: A Review. *MJMS*. 2018; 21 (1):41-63. [Persian]
- 32-Sari-Sarraf V, Amirsasan R, Sheikholeslami-Vatani D, Faraji H. Effect of creatine supplementation on the factors involved in apoptosis-related process (Bax, Bcl-2) and their ratio (Bcl-2/Bax) during acute resistance exercise in middle-aged men. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. No.84/Oct-Nov 2016. [Persian]
- 33-Ranjbar K, Nazem F, Nazari A, Golami M. Effect of 10 Weeks Aerobic Exercise Training on Left Ventricular Systolic Function, Caspase-3 Level and Infarction Size in Myocardial Infarction Rat. *Journal of Knowledge & Health* 2015, Volume 10, Number 3 #M0093; Page(s) 16 To 24. [Persian]
- 34-Hughes EJ. Nutritional Protocol for Osteoarthrosis (Degenerative Joint Disease). *J Clin Nutr Diet*. 2016, 2:4. doi:10.4172/2472-1921.100032.
- 35-Bhatti FU, Mehmood A, Latief N, Zahra S, Cho H, Khan SN, Riazuddin S. Vitamin E protects rat mesenchymal stem cells against hydrogen peroxide-induced oxidative stress *in vitro* and improves their therapeutic potential in surgically-induced rat model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017 Feb;25(2):321-331
- 36-Fan MP, Si M, Li BJ, Hu GH, Hou Y, Yang W, Liu L, Tang B, Nie L. Cell therapy of a knee osteoarthritis rat model using precartilaginous stem cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018 Apr;22(7):2119-2125.
- 37-Centeno C, Sheinkop M, Stemper I, Williams C, Hyzy M, Ichim T & Freeman M. A specific protocol of autologous bone marrow concentrate and platelet products versus exercise therapy for symptomatic knee osteoarthritis: a randomized controlled trial with 2 year follow-up. *J Transl Med*. 2018 Dec 13; 16(1):355.
- 38-fallah mohammadi M, fallah mohammadi Z, mirkarimpour S. Exercise with and without glucosamine supplementation on rat's knee osteoarthritis. *journal of sports sciences*. University of mazandaran. 10.22080/JAEP.2013.781. [Persian]

- 39-Franciozi CE¹, Tarini VA, Reginato RD, Gonçalves PR, Medeiros VP, Ferretti M, Dreyfuss JL, Nader HB, Faloppa F. Gradual strenuous running regimen predisposes to osteoarthritis due to cartilage cell death and altered levels of glycosaminoglycans. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013 Jul;21(7):965-72.
- 40-Zhang H, Ji L, Yang Y, Wei Y, Zhang X, Gang Y, Lu J, Bai L. The Therapeutic Effects of Treadmill Exercise on Osteoarthritis in Rats by Inhibiting the HDAC3/NF-KappaB Pathway in vivo and in vitro. *Front Physiol*. 2019 Aug 20;10:1060.
- 41-Castrogiovanni P, Di Rosa M, Ravalli S, Castorina A, Guglielmino C, Imbesi R, Vecchio M, Drago F, Szychlinska MA, Musumeci G. Moderate Physical Activity as a Prevention Method for Knee Osteoarthritis and the Role of Synoviocytes as Biological Key. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan 25;20(3). pii: E511.
- 42-Musumeci G, Loreto C, Leonardi R, Castorina S, Giunta S, Carnazza ML, Trovato FM, Pichler K, Weinberg AM. The effects of physical activity on apoptosis and lubricin expression in articular cartilage in rats with glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2013 May; 31(3):274-84.
- 43-Rios J, Boldt K, William Mather J, Seerattan R, Arthur Hart D, and Walter Herzog. Quantifying the Effects of Different Treadmill Training Speeds and Durations on the Health of Rat Knee Joints. *Sports Medicine – Open* volume 4, Article number: 15 (2018) 2018 Dec; 4: 15.
- 44-Cifuentes D, Rocha L, Silva L. Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Aug; 18(8):1088-95
- 45-Milares L, Assis L, Siqueira A, Claudino V. Effectiveness of an aquatic exercise program and low-level laser therapy on articular cartilage in an experimental model of osteoarthritis in rats. *Journal Connective Tissue Research*, 2016 Sep; 57(5):398-407.
- 46-Norouzi Kamareh M, Zolfaghari M, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. Effect of 12 weeks aerobic training and oral green tea extract on cardiac caspase-3 expression in aged male rats. *A Journal of Faculty of Physical Education and Sport Sciences University of Tehran*. Article 6, Volume 10, Issue 2, Summer 2018, Page 221-235. [Persian]
- 47-Maulik N, Sasaki H, Addya S, Das DK. Regulation of cardiomyocyte apoptosis by redox-sensitive transcription factors. *FEBS letters*. 2000; 485(1):7-12.
- 48-Rigoglou, S., & Papavassiliou, A. G. (2013). The NF-κB signalling pathway in osteoarthritis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 45(11), 2580-2584.
- 49-Uusi-Rasi K, Patil R, Karinkanta S, Tokola K, Kannus P, Sievänen H. Exercise Training in Treatment and Rehabilitation of Hip Osteoarthritis: A 12-Week Pilot Trial. *J Osteoporos*. 2017; Jan 1. 2017:3905492.
- 50-Germanou EI, Chatzinikolaou A, Malliou P, Beneka A, Jamurtas AZ, Bikos C, Tsoukas D. Oxidative stress and inflammatory responses following an acute bout of isokinetic exercise in obese women with knee osteoarthritis. *Knee*. 2013 Dec;20(6):581-90.
- 51-Knobloch TJ, Madhavan S, Nam J, Agarwal S Jr, Agarwal S. Regulation of chondrocytic gene expression by biomechanical signals. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2008;18(2):139-50.

A Study of the Effect of the Aerobic Training Together with Stem Cells on the Levels of Some of the Apoptosis Indices of the Heart Tissue of the Male Wistar Rats of Osteoarthritis Model

Jasem Jalilian¹, Naser Behpour^{2*}, Sedigheh Hosseinpour Delavar³, Parvin Farzaneghi⁴

1-Ph.D Student of Corrective Movements.

2-Associate Professor of Pathology and Corrective Movements.

3-Neurologist.

4-Orthopedic Specialist.

1,3-Department Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

2-Department of Sport Sciences, Faculty of Sport Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

4-Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

*Corresponding author:

Naser Behpour, Department of Sport Sciences, Faculty of Sport Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran
Tel: +989123271873

Email: n_behpour@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Osteoarthritis is a common disease and painful arthritis with unknown etiology. In this study, the effects of mesenchymal stem cells and aerobic training on apoptosis biomarkers (BAX and BCL2) in the heart tissue of osteoarthritic rats was investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, 42 male Wistar rats (age range 6-8 weeks and body weight of 250-300 g) were divided into two groups: osteoarthritic group (n=35) and healthy control group (n=7). Osteoarthritis was induced in rats by surgery. then osteoarthritic rats were divided into five subgroups of seven including control, saline, stem cell, aerobic training, and aerobic training+stem cell groups. aerobic training program was conducted for 8 weeks and 5 days a week. Apoptosis biomarkers, including BAX and BCL2 proteins in the heart tissue of rats, were measured using ELISA kits. One-way ANOVA used to analyze the data.

Results: BAX concentration was significantly higher in saline and unhealthy control groups compared to other groups and BCL2 concentration was significantly lower in saline and unhealthy control groups compared to other groups (P<0.001). Aerobic training and stem cell, whether used separately or together, caused a significant increase in BCL2 concentration and a significant decrease in BAX concentration (P<0.001).

Conclusion: Osteoarthritis caused an increase in heart cell apoptosis. Although stem cells have anti-apoptosis effects, they are more effective in treatment if used with aerobic training.

Keywords: osteoarthritis, apoptosis, aerobic Training, stem cell.

► Please cite this paper as:

Jalilian J, Behpour N, Hosseinpour Delavar S, Farzaneghi P. A Study of the Effect of the Aerobic Training Together with Stem Cells on the Levels of Some of the Apoptosis Indices of the Heart Tissue of the Male Wistar Rats of Osteoarthritis Model. *Jundishapur Sci Med J* 2019; 18(6):585-602

Received: Sep 4, 2019

Revised: Dec 24, 2019

Accepted: Dec 30, 2019