فیزیولوژی ورزشی دوره ۱۱، شماره ۴۳، پاییز ۱۳۹۸. صص ۱۴۰-۱۲۳

مقاله پژوهشی

اثر شش هفته تمرین هوازی فزاینده به‌همراه تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بر سطوح فاکتور رشد عصبی و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در هیپوکامپ رت‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

سیدامید حمیدی پرچیکلایی[۱]، سیدعبدالله هاشم‌ورزی[۲]، محسن پورقاسم[۳]

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران (نویسنده مسئول)
۳. استاد بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۷

چکیده

هدف از اجرای این پژوهش، بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی فزاینده به‌همراه تزریق درون‌دمی سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، بر میزان عامل رشد عصبی (NGF) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در هیپوکامپ موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین بود. تعداد ۴۸ سر رت (با وزن تقریبی ۲۴۰-۲۲۰ گرم و سن نُه هفته) به شش گروه تقسیم شدند: کنترل، شم، دیابت، دیابت + تمرین، دیابت + سلول بنیادی و دیابت + تمرین + سلول بنیادی (ترکیبی). گروه تمرینی شش هفته و هفته‌ای پنج روز با شدت ۷۰-۶۰ درصد VO2max به تمرین روی نوار گردان پرداختند. در گروه دریافت‌کنندهٔ سلول بنیادی، به کمک سرنگ انسولینی PBS /5 ml، حاوی ۱۰۶ * ۱/۵ عدد سلول بنیادی استخراج‌شده از بافت چربی انسانی به سیاهرگ دم رت دیابتی تزریق شد. برای ایجاد مدل دیابت، STZ با دوز ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در ترکیب با بافر سیترات و pH ۴/۵ به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد. سطح عامل رشد عصبی و فاکتور اندوتلیال عروقی هیپوکامپ موش‌ها با روش الایزا اندازه‌گیری شد. سطوح VEGF و NGF در گروه کنترل دیابت نسبت به کنترل کاهش معنادار یافت (P = 0.0001). مقادیر VEGF در گروه دیابت + تمرین + سلول در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معنادار داشت (P = 0.0001). این شاخص در گروه دیابت + سلول و دیابت + تمرین در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنادار یافت (P = 0.0001). در گروه دیابت + سلول + تمرین در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌جز گروه دیابت + سلول افزایش معناداری در سطوح NGF مشاهده شد (P = 0.0001). همچنین، این شاخص در گروه دیابت + سلول و گروه دیابت + تمرین نسبت به گروه کنترل دیابت افزایش معنادار داشت (P = 0.0001). به‌طورکلی، نتایج نشان داد که مقادیر NGF و VEGF در گروه تمرین، سلول بنیادی و همچنین، در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنادار یافت؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که هرکدام از مداخله‌ها، به‌ویژه ترکیب آن‌ها می‌تواند به‌واسطهٔ تأثیر افزایشی بر عوامل نوروتروفیک و عروقی، یک عامل کنترل‌کننده دربرابر بیماری دیابت باشد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی فزاینده، سلول بنیادی مشتق از بافت چربی، فاکتور رشد عصبی و عروقی، دیابت، هیپوکامپ.

1. Email: s.omidhamidi@yahoo.com
2. Email: Hashemvarzi_tkd@yahoo.com
3. Email: mpourghasem@hotmail.com

مقدمه

دیابت[1]، یک اختلال متابولیک است که به‌وسیلهٔ افزایش سطح گلوکز خون (هیپرگلیسمی) به‌دنبال نقص در ترشح انسولین[2]، به عمل انسولین یا هر دو مشخص می‌شود. این بیماری با اختلالات غدد درون‌ریز و عوارض متابولیک حاصل از آن‌ها همراه است (۱). دیابت قندی در اندام‌های مختلف مانند چشم، کلیه، عروق و اعصاب آثار زیان‌آوری دارد و نیز با آسیب سیستم اعصاب مرکزی[3] (CNS) و اختلالات شناختی مرتبط است (۳، ۲). این بیماری با آتروفی هیپوکامپی و کل مغز، سکتهٔ مغزی و زوال عقل ارتباط دارد (۴). نتایج مطالعات متعدد، بیانگر تغییرات ساختاری و عملکردی مغز به‌ویژه در هیپوکامپ[4] (۵) و نیز تغییرات محسوس در حافظه و یادگیری در دیابت کنترل‌نشده است (۶). در موش‌های دیابتی، شواهد فراوانی بر نقصان رفتاری و بیوشیمیایی به‌ویژه در هیپوکامپ که ناحیهٔ مهمی از مغز برای یادگیری و حافظه است، وجود دارند (۸، ۷). هیپوکامپ به‌عنوان یک مرکز مهم در یادگیری و حافظه نسبت به افزایش قندخون حساس است و نورون‌های آن در دیابت نوع یک بسیار آسیب‌پذیر هستند. ازطرف‌دیگر، نروپاتی[5]، شایع‌ترین عارضهٔ عصبی دیابت است که علاوه‌بر تأثیر بر سیستم اعصاب محیطی، به تغییراتی در سیستم اعصاب مرکزی به‌ویژه مغز منجر می‌شود. ازمیان مناطق مغزی، هیپوکامپ یکی از حساس‌ترین نواحی است که درمقابل فاکتورهای مضر و آسیب‌رسان مانند ایسکمی، استرس و به‌ویژه دیابت بسیار آسیب‌پذیر است و درطی آن، دستخوش تغییرات نوروفیزیولوژیک، ساختاری و مولکولی همچون کاهش نروژنز، آتروفی هیپوکامپی، کاهش انشعاب‌های دندریتی، تغییرات آستروگلیایی، تغییر در رسپتورهای گلوتاماتی، رسپتورهای انسولینی و فاکتورهای رشد شبه‌انسولینی، رسپتورهای دوپامینی و فاکتور رشد عصبی[6] (NGF) می‌شود (۹-۱۱). در سال‌های اخیر، توجه زیادی به عوامل نوتروفیک و نقش آن‌ها در بقای عصبی، نوروژنز، رشد آکسونی، پیوستگی و شکل‌پذیری نورون جلب شده است (۱۲). NGF اولین عضو کشف‌شده از خانوادهٔ نوروتروفین‌ها است که برای آن نقش‌های تغذیه‌ای، حفاظتی، تمایز، بلوغ و گسترش نورون‌ها قائل شده‌اند (۱۳). NGF در سیستم عصبی مرکزی و محیطی وجود دارد و ازطریق انتقال روبه‌عقب، به‌وسیلهٔ گیرنده با میل ترکیبی بالا (Trk A)[7] و گیرنده با میل ترکیبی پایین (P75)[8] بر نورون‌ها اثر می‌گذارد و رشد و تمایز نورون‌های

1. Diabetes
2. Insulin
3. Central Nervous System
4. Hippocampus
5. Neuropathy
6. Nerve Growth Factor
7. Tyrosin Kinase A
8. Low Affinity Neurotrophin Receptor

جوان را تحریک می‌کند و به بالیده‌شدن آن‌ها کمک می‌کند (۱۵، ۱۴). ناحیهٔ کینازی گیرندهٔ Trk-A به محض اتصال با NGF متحمل ترانس فسفوریلاسیون می‌شود و اعتقاد بر این است که این رویداد آبشار پیامبر ثانویه را راه‌اندازی می‌کند؛ درنتیجه، موجب ایجاد دامنه‌ای از تغییرات عملکردی در فعالیت نورونی می‌شود (۱۴). در وضعیت پاتولوژیک ازقبیل دیابت، بیان NGF و گیرنده‌های آن کاهش می‌یابند (۱۵). اطلاعات به‌دست‌آمده از مدل‌های حیوانی و انسانی نشان می‌دهد که اختلالات نورونی و عصبی حاصل از دیابت می‌توانند مرتبط با تنظیم‌نشدن در هریک از سنتز، انتقال و مصرف NGF به‌وسیلهٔ نورون‌ها باشد (۱۶). درخصوص اختلالات عصبی حاصل از دیابت، درکنار عوامل متابولیک توجه خاصی نیز به نقش عوامل عروقی و آنژیوژنیک در ایجاد این عارضه شده است (۱۷). فاکتورهای آنژیوژنیک مجموعه‌ای از فاکتورهای رشدی هستند که درطول فعالیت ورزشی آزاد می‌شوند و زمینهٔ عروقی‌شدن بافت را فراهم می‌کنند. انواع مختلف فاکتورهای آنژیوژنیک شناسایی شده‌اند که ازجملهٔ مهم‌ترین آن‌ها می‌توان فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF)[1]، فاکتور رشد فیبروبلاست عروق (FGF)[2]، آنژیوپویتین (Ang)[3]، ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs)[4] و لپتین را نام برد (۱۸). اهمیت VEGF در اختلالات عصبی حاصل از دیابت به اهمیت و جایگاهی برمی‌گردد که عوامل عروقی در پاتوفیزیولوژی این عارضه نقش دارند. تأثیرهای مثبت و درمانی VEGF بر اختلالات عصبی و عروقی حاصل از دیابت، طی رویکردهای پژوهشی متعددی ازجمله مطالعات ژنوتراپی اثبات شده است. ژن‌تراپی با ژن VEGF در مغز سبب جلوگیری و برگشت ضایعه‌هایی چون ازدست‌دادن آکسون‌ها و دژنراسیون میلین و همچنین، تثبیت جریان خون اعصاب و تعداد عروق مغزی بافت عصبی می‌شود (۱۹). با انتقال داخل عضلانی پلاسمید DNA[5] که ژن VEGF را کدگذاری می‌کند، تخفیف و برگشت کاهش سرعت هدایت عصبی و بهبود کارکرد اعصاب PNS[6] و CNS در خرگوش مشاهده شد. با توجه به وجود گیرندهٔ فعال VEGF روی غشای سلول‌های شوان، درمان موش‌های رت با VEGF موجب جلوگیری از آپوپتوز ناشی از هیپوکسی و نیز افزایش میزان مهاجرت در این سلول‌ها شد که به‌روشنی آثار مثبت این عامل رشد را برای حفظ و بازگشت مجدد فعالیت عصبی و عروقی نشان می‌دهد (۱۹).

1. Vascular Endothelial Growth Factor
2. Fibroblast Growth Factor
3. Angiopoietin
4. Matrix Metalloproteinases
5. Deoxyribonucleic Acid
6. Peripheres Nerven System

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی به‌عنوان یک درمان غیردارویی نقش مهمی در تنظیم و کاهش سیتوکین التهابی مرتبط با عملکرد سلول‌های بتالوزالمعدهٔ تولیدکننده انسولین، ایفا می‌کند (۲۱، ۲۰). همچنین، این مطالعات به کاهش غلظت گلوکز خون و مقاومت انسولین در پاسخ به فعالیت ورزشی کوتاه‌مدت و طولانی‌مدت اشاره دارند (۲۲-۲۴). ازطرف‌دیگر، ورزش با کاهش وزن به‌طور غیرمستقیم و با تأثیر بر میانجی‌های بیوشیمایی یا هورمون‌های پپتیدی می‌تواند باعث بیان ژن و افزایش گیرنده‌های این هورمون‌ها در سطح سلول‌های پانکراسی شود (۲۵). گزارش شده است که ورزش با نورون‌زایی و آنژیوژنز سبب محافظت عصبی می‌شود. ورزش باعث افزایش سیگنال‌دهی فاکتورهای رشدی از طریق کاهش عوامل التهاب‌زا و بهبود سطوح فاکتورهای رشدی می‌شود. شواهد زیادی نشان می‌دهند که نقاط مشترکی در سیگنال‌دهی بین فاکتورهای رشدی IGF-1[1]، BDNF[2]، VEGFو NGF وجود دارند (۲۶). آنژیوژنز به فرایند تشکیل رگ‌های خونی جدید می‌گویند که این فرایند بدون تحریک رخ نمی‌دهد و ورزش می‌تواند ازجمله محرک‌های آن باشد (۲۷). نشان داده شده است که در پاسخ به فعالیت تناوبی شدید، VEGF سرمی در آزمودنی‌های سالم افزایش یافت (۲۸). همچنین، مشخص شده است که ورزش در بافت مغزی و هیپوکامپ موش‌های دیابتی توانسته است از کاهش سطح شناخت و حافظهٔ فضایی جلوگیری کند. افزون‌براین، ورزش توانسته است سطوح گلوتامات، گلوتاتیون (GSH)[3] ، گلوتامین سنتاز (GS)[4] و GFAP[5] را در مغز موش‌های دیابتی افزایش دهد و فرایند شناخت را بهبود بخشد (۲۹).

یکی از روش‌های درمانی که امروزه به‌طور شایع دربین پژوهشگران رواج دارد، سلول‌درمانی[6] است. در این روش، سلول‌های بنیادی در محل ضایعه، ازطریق درون‌وریدی تزریق می‌شوند (۳۰). این سلول‌ها موجب ایجاد نورون‌های جدید و ایجاد رگ‌های تازه و درکل موجب بهبود عملکرد می‌شوند (۳۱). در سال‌های اخیر، از سلول‌های بنیادی[7] برای جبران سلول‌های ازدست‌رفته استفاده می‌کنند. پژوهش‌ها چشم‌انداز وسیعی را در علم ایجاد کرده‌اند؛ اما همواره کاربرد آن‌ها به‌صورت علمی با چالش‌هایی همراه بوده است (۳۲)؛ اما دراین‌میان، سلول‌درمانی و استفاده از سلول‌ها به‌ویژه سلول‌های بنیادی برای ترمیم بافت‌های ازدست‌رفته، نتایج مفیدی را در برداشته‌اند؛ به‌عنوان‌مثال، در انسان، سلول‌های بنیادی

1. Insulin-Like Growth Factor-1
2. Brain Derived Neurotrophic Factor
3. Glutathion
4. Glutamine Synthetase
5. Glial Fibrillary Acidic Protein
6. Cell Therapy
7. Stem Cell

منزانشیمی مشتق از بافت چربی[1] رشد سریع‌تری نسبت به سلول‌های بنیادی خون بند ناف و استخوان دارند و همچنین، توانایی تکثیری سلول‌های خون بند ناف نسبت به سلول‌های مغز استخوان بیشتر است (۳۴، ۳۳). مهم‌ترین امتیاز سلول‌های بنیادی بافت چربی این است که آن‌ها را می‌توان به‌راحتی از بیماران به‌دست آورد و همچنین، به‌سادگی کشت داد. تکثیر سریع و حفظ خصوصیات چندتوانی به‌مدت طولانی و بعد از چندین پاساژ نشان می‌دهند که این سلول‌ها می‌توانند انتخاب مناسبی برای اهداف درمانی باشند (۳۲). یافته‌ها نشان می‌دهند که سلول‌های بنیادی ازطریق ترشح فاکتورهای نوروتروفیک و نیز افزایش نوروژنزیس سبب بقای نورون‌ها می‌شوند و از این طریق موجب بهبود عملکرد در ضایعه‌های مختلف سیستم مغزی می‌شوند (۳۰). ازطرف‌دیگر، اثبات شده است که بعد از تزریق درون‌وریدی سلول‌های بنیادی، این سلول‌ها می‌توانند به مغز مهاجرت کنند و در محل ضایعه تجمع پیدا کنند. دراین‌راستا، یافته‌های ایمونوهیستوشیمی نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی کشت‌داده‌شده و نشان‌دارشده توسط Brdu، بعد از تزریق درون‌وریدی به محل ضایعه واقع در هیپوکامپ مهاجرت کردند و زنده ماندند و در اطراف ضایعه تجمع پیدا کردند (۳۰). همچنین، در مطالعه‌ای مشخص شده است که سلول‌های بنیادی می‌توانند فاکتورهای NGF، BDNF، GDNF[2]، NT3[3]، VEGF، HGF[4] و CNTF[5] را در مغز موش افزایش دهند (۳۵).

تاکنون، پژوهشگر پژوهشی را درزمینهٔ آثار تعاملی تمرین‌های هوازی به‌همراه تزریق درون‌وریدی سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین (STZ)[6]، بر سطوح NGF و VEGF بافت هیپوکامپ مشاهده نکرده است؛ بنابراین، پژوهش حاضر به‌دنبال پاسخ به این سؤال است که آیا این روش درمانی می‌تواند چشم‌انداز روشن‌تری را در درمان اختلالات عصبی و عروقی حاصل از بیماری دیابت در مغز به‌ویژه در هیپوکامپ ایجاد کند؟

روش پژوهش

پژوهش حاضر در کمیتهٔ ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی[7] تصویب شد. در این پژوهش، استانداردهای اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شدند. در این مطالعه، ۴۸ سر موش صحرایی

1. Adipose Tissue-Derived Stem Cells
2. Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor
3. Neurotrophin-3
4. Hepatocyte Growth Factor
5. Ciliary Neurotrophic Factor
6. Streptozotocin

۷. با شناسهٔ اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1397.001

نر بالغ هشت‌هفته‌ای نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۴۰-۲۲۰ گرم تهیه شدند. موش‌ها توسط پژوهشگر در آزمایشگاه جوندگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به‌مدت یک هفته برای سازگاری با محیط نگهداری شدند. این حیوانات در نه‌هفتگی پس از آشنایی با نحوهٔ فعالیت روی نوار گردان (ساخت ایران) به‌طور تصادفی به شش گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه شم (برای کنترل اثر استرس ناشی از تزریق)، گروه کنترل دیابت، گروه دیابت + تمرین، گروه دیابت + سلول بنیادی و گروه دیابت + تمرین + سلول بنیادی. همهٔ گروه‌ها به‌صورت آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. برای تطابق با محیط جدید، حیوانات به‌صورت گروه‌های چهار سر موش در قفس پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند.

برای القای دیابت در رت‌ها، از محلول استرپتوزوتوسین (ساخت کشور چین) با دوز ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌صورت درون‌صفاقی به حیوانات تزریق شد. STZ در سرم فیزیولوژی سرد حل شد و به‌صورت تازه استفاده شد. ۷۲ ساعت بعد از القای دیابت از دم حیوان خون‌گیری شد. میزان قندخون با دستگاه گلوکومتر[1] اندازه‌گیری شد. حیوانات با قند خون ناشتای بیشتر از ۲۵۰میلی‌گرم در دسی لیتر، دیابتی تلقی شدند (۳۲) (جدول شمارهٔ یک).

جدول ۱- میانگین قندخون گروه‌ها و تأیید دیابتی‌شدن گروه‌های مدل

گروه‌ها	میانگین قندخون (میلی گرم/دسی لیتر)	انحراف استاندارد	تعداد (سر)
گروه کنترل	۱۱۳/۲۸	۴/۴۲	۸
گروه شم	۱۱۴/۴۲	۴/۲۳	۸
گروه کنترل دیابت	۳۳۴/۷۱	۱۱/۴۸	۸
گروه تمرین + دیابت	۲۹۳/۵۷	۱۱/۵۸	۸
گروه سلول بنیادی + دیابت	۳۳۴/۸۵	۴/۷۰	۸
گروه دیابت + سلول بنیادی + تمرین	۳۳۶/۴۲	۶/۵۲	۸

برای تهیهٔ سلول‌های بنیادی مشتق از چربی، قطعات چربی از ناحیهٔ اطراف شکم بیماران مراجعه‌کننده به بخش جراحی برای عمل لیپوساکشن گرفته شد. بافت موردنظر بعد از عمل لیپوساکشن درون محفظهٔ استریل در دمای محیط به آزمایشگاه منتقل شد. بافت با PBS[2] حاوی آنتی‌بیوتیک

۱. گلوکومتر Bionime مدل Gm110 ، ساخت کشور سوئیس

2. Phosphate-Buffered Saline

(پنی‌سیلین- استرپتومایسین) در چهار نوبت شست‌وشو داده شد تا مطمئن شویم که خون از محلول خارج شده است. سپس، برای جداشدن سلول‌ها، بافت موردنظر توسط آنزیم کلاژناز-یک به‌مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد هضم شد. بعد از این مرحله، فعالیت آنزیمی و پلاک سلولی به‌دست آمد. گلبول‌های قرمز موجود با محلول بافر لیزکنندهٔ تریس حذف شدند. سلول‌های به‌دست‌آمده برای شمارش و کشت در فلاکس مخصوص کشت سلول و درنهایت، تزریق به مدل حیوانی بعد از تعیین هویت با روش فلوسایتومتری، استفاده شدند. در این پژوهش برای تعیین ویژگی-های فنوتیپ سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، میزان بیان شاخص‌های سطح سلولی CD29 و CD90 در این سلول‌ها ارزیابی شد (۳۷، ۳۲). سپس، پس از القای بیهوشی با تزریق داخل‌صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و زایلازین دو درصد با دوز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، دم موش را به‌مدت یک دقیقه در آب گرم نگه داشتیم تا عروق دم متسع شوند و بدین‌طریق سیاهرگ دمی نمایان شود. آن‌گاه، به کمک سرنگ انسولینی بعد از شست‌وشوی سلول‌ها با PBS و پیپتاژکردن در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار، حدود ۱۰۶ * ۱/۵ عدد سلول بنیادی استخراج‌شده از بافت چربی انسانی به سیاهرگ دم رت دیابتی تزریق شد (۳۲).

گروه‌های تمرینی روی نوار گردان به‌مدت شش هفته به تمرین هوازی پرداختند. در پژوهش حاضر، از سرعت تمرینی ۱۸-۱۰ متر در دقیقه معادل با ۷۰-۶۰ درصد VO_2max و درعین‌حال، کارآمد ازلحاظ فیزیولوژیک، استفاده شد؛ بدین‌صورت‌که گروه ورزشی درمعرض تمرین نوار گردان با شدت متوسط پنج روز در هفته و به‌مدت شش هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به‌تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفتهٔ اول، ۱۰ متر در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه در هفتهٔ دوم، ۱۵-۱۴ متر در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه در هفتهٔ سوم، ۱۵-۱۴ متر در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه در هفتهٔ چهارم و ۱۸-۱۷ متر در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه در هفتهٔ پنجم افزایش یافت. برای رسیدن سازگاری‌های به‌دست‌آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی، در هفتهٔ پایانی (هفتهٔ ششم) ثابت نگه داشته شدند (۳۶).

برای تهیهٔ نمونهٔ بافتی، ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بی‌هوش شدند. سپس، با جداکردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جداکردن کل مغز و خارج‌کردن آن از کاسهٔ جمجمه، هیپوکامپ از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا شد و بلافاصله در ازت قرار گرفت. پس از منجمدشدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. بعد از هموژنیز و

سانتریفیوژ، میزان غلظت NGF و VEGF گروه‌ها به‌وسیلهٔ کیت آزمایشگاهی شرکت هانگزو[1] ساخت کشور چین با ضریب حساسیت ۰/۱۹۵ پیکوگرم در میلی‌گرم به روش الایزا اندازه‌گیری شد.

در این پژوهش، برای بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه[2] استفاده شد. همچنین، از آزمون تعقیبی توکی[3] برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. در این بررسی‌ها سطح معناداری کوچک‌تر و مساوی با ۰/۰۵ درنظر گرفته شد. همهٔ تجزیه‌وتحلیل‌های آماری به‌وسیلهٔ نرم‌افزار اس.پی.اس.اس.[4] نسخهٔ ۲۰ انجام شدند. برای بررسی طبیعی‌بودن از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف[5] استفاده شد.

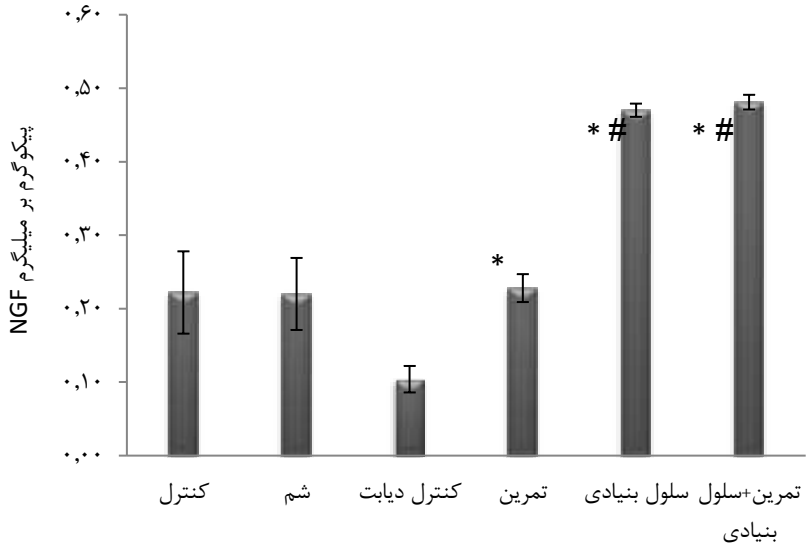
نتایج

با استفاده از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها مشخص شد. براساس تجزیه‌وتحلیل آماری مشخص شد که سطح NGF در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنادار یافت (P = 0.0001) (جدول شمارهٔ دو). همچنین، در گروه سلول بنیادی دیابت و گروه تمرین دیابت نسبت به گروه کنترل دیابت افزایش معنادار مشاهده شد (P = 0.0001). ازطرف‌دیگر، در گروه سلول بنیادی دیابت و گروه ترکیبی نسبت به گروه تمرین اختلاف معنادار مشاهده شد (P = 0.0001). (شکل شمارهٔ یک).

جدول ۲- میانگین و انحراف استاندارد سطوح NGF هیپوکامپ (پیکوگرم/ میلی‌گرم بافت)

گروه	میانگین	انحراف استاندارد	حداقل	حداکثر
کنترل سالم	۰/۲۲۲	۰/۰۱۰	۰/۲۰۶	۰/۲۳۲
شم	۰/۲۲۰	۰/۰۰۹	۰/۲۰۷	۰/۲۳۳
کنترل دیابت	۰/۱۰۴	۰/۰۱۹	۰/۰۸۷	۰/۱۴۰
تمرین + دیابت	۰/۲۲۸	۰/۰۱۸	۰/۲۱۲	۰/۲۶۷
دیابت + سلول بنیادی	۰/۴۷۰	۰/۰۴۹	۰/۴۱۱	۰/۵۶۷
دیابت + تمرین + سلول بنیادی	۰/۴۸۱	۰/۰۵۶	۰/۴۱۴	۰/۵۴۱

1. Hangzhou
2. TWO-WAY ANOVA
3. TUKEY
4. SPSS
5. Kolmogrov-Smirnov



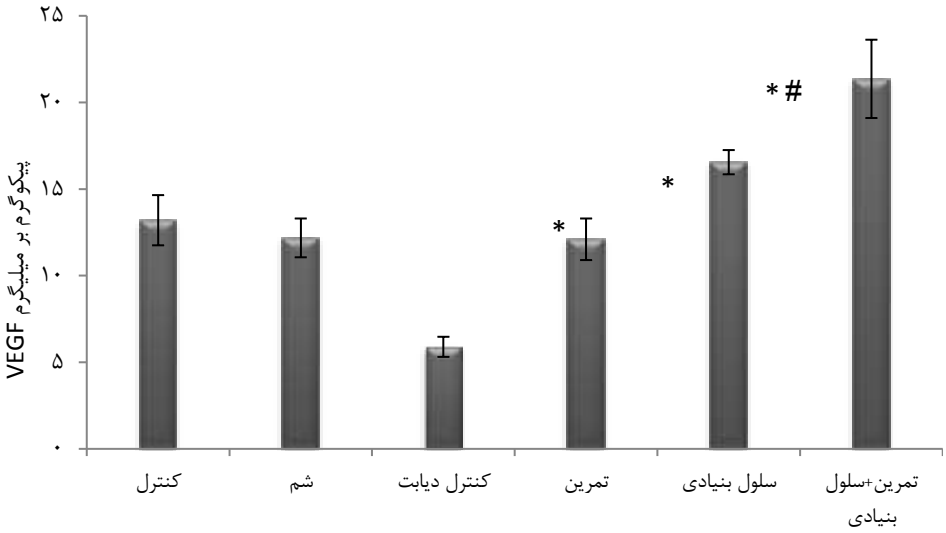
شکل ۱- تغییرات NGF بر حسب پیکوگرم/ میلی‌گرم در گروه‌های پژوهش

*: اختلاف معنادار با گروه کنترل دیابت، #: اختلاف معنادار با سایر گروه‌ها

در دومین دادهٔ مطالعهٔ حاضر، با استفاده از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها مشخص شد. براساس تجزیه‌وتحلیل آماری مشخص شد که سطح VEGF در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل دیابت و سایر گروه‌ها افزایش معنادار یافت ($P = 0.0001$) (جدول شمارهٔ سه). همچنین، در گروه سلول بنیادی دیابت و گروه تمرین دیابت نسبت به گروه کنترل دیابت افزایش معنادار مشاهده شد ($P = 0.0001$). (شکل شمارهٔ دو).

جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد سطوح VEGF هیپوکامپ (پیکوگرم/ میلی‌گرم بافت)

گروه	میانگین	انحراف استاندارد	حداقل	حداکثر
کنترل سالم	۱۳/۲۰	۱/۴۵	۱۰/۹۰	۱۴/۸۰
شم	۱۲/۱۸	۱/۱۲	۱۰/۷۲	۱۴/۰۰
کنترل دیابت	۵/۸۹	۰/۵۸	۵/۱۱	۶/۷۰
تمرین + دیابت	۱۲/۱۰	۱/۲۰	۱۰/۲۴	۱۳/۸۰
دیابت + سلول بنیادی	۱۶/۵۵	۰/۷۰	۱۵/۲۲	۱۷/۲۲
دیابت + تمرین + سلول بنیادی	۲۱/۳۶	۲/۲۶	۱۸/۱۰	۲۴/۱۰



شکل ۲- تغییرات VEGF برحسب پیکوگرم/ میلی‌گرم در گروه‌های پژوهش

*: اختلاف معنادار با گروه کنترل دیابت، #: اختلاف معنادار با سایر گروه‌ها

بحث و نتیجه‌گیری

داده‌های حاصل از مطالعهٔ حاضر در مقایسه با گروه کنترل دیابت، نشان‌دهندهٔ افزایش قابل‌توجه و معنادار سطوح فاکتور رشد عصبی (NGF) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در هیپوکامپ موش‌های دیابتی بودند که تمرین ورزشی روی نوار گردان را به‌مدت شش هفته به‌همراه تزریق سلول-های بنیادی مشتق از بافت چربی دریافت کرده بودند. درواقع، هدف اصلی مطالعهٔ حاضر، بررسی اثر تقویت‌کنندهٔ تمرین‌های ورزشی به‌همراه تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به‌صورت ترکیبی بود. به‌عبارت‌دیگر، این سؤال مطرح بود که آیا در مطالعهٔ حاضر، اجرای برنامهٔ تمرینی و تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی با هم، می‌توانند موجب بارزترشدن تغییرات سطوح فاکتور رشد عصبی (NGF) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) شوند؟

نتیجهٔ به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به‌همراه انجام تمرین‌های ورزشی روی نوار گردان دارای آثار مفیدی دربرابر اختلالات هیپوکامپ حاصل از بیماری دیابت است. به‌طورکلی، نتایج نشان داد که مقادیر NGF و VEGF در گروه تمرین، سلول بنیادی و همچنین، در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنادار یافتند؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که هرکدام از مداخله‌ها به‌خصوص ترکیب آن‌ها می‌تواند به‌واسطهٔ تأثیر افزایشی بر عوامل نوروتروفیک و عروقی، یک عامل حفاظت عصبی مرکزی دربرابر بیماری دیابت باشد. همسو با پژوهش

حاضر، چانگ[1] و همکاران (۳۸) در مطالعه‌ای تأثیر تمرین اجباری روی نوار گردان با شدت متوسط را بر سرکوب مرگ سلولی ازطریق افزایش NGF ناشی از ورزش بررسی کردند. در مطالعهٔ آن‌ها، ۴۵ سر موش صحرایی به سه گروه پانزده‌تایی تقسیم شدند: گروه کنترل ۱۵ سر، گروه آسیب‌دیده ۱۵سر و گروه آسیب‌دیده و تمرین ۱۵ سر. موش‌ها به‌مدت هشت هفته و هفته‌ای پنج روز تمرین کردند. نتایج نشان داد که سطوح پروتئین PI3-K[2]، NGF و P-AH در گروه آسیب‌دیده و ورزش نسبت به گروه بدون تمرین بالاتر بوده است. بررسی‌ها نشان داده است که ورزش روی نوار گردان با شدت متوسط سطوح NGF را افزایش می‌دهد و با فعال‌کردن PI3-K از آپوپتوز سلول‌های عصبی در موش‌های آسیب‌دیدی عصبی جلوگیری می‌کند. همچنین، الجراح[3] و همکاران (۱۸) اثر تمرین استقامتی بر میزان VEGF و آنژیوژنز در مغز موش‌ها را بررسی کردند. گروه‌های تمرینی با سرعت ۱۸ متر در دقیقه و شیب صفر درجه روی تردمیل به‌مدت ۴۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته و برای چهار هفته تمرین کردند. این پژوهش نشان داد که چهار هفته تمرین به‌طور معناداری مقادیر VEGF و به‌دنبال آن، آنژیوژنز را در مغز افزایش می‌دهد که این یافته همسو با نتایج پژوهش حاضر است. همچنین، پژوهش الجراح و همکاران نشان داد که ورزش و عملکرد بدنی، کیفیت وابسته به سلامت زندگی، قدرت، تعادل و سرعت گام‌برداشتن بیماران را بهبود می‌بخشد. ازطرف‌دیگر، کاپیتلی[4] و همکاران (۳۹) اذعان داشتند که می‌توان از سلول‌های بنیادی برای جایگزینی سلول‌های عصبی مرده، بازسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی و جریان‌های عصبی و فراهم‌کردن آثار نوروتروفیک برای این سلول‌ها استفاده کرد. به‌نظر می‌رسد که پیوند این سلول‌ها می‌تواند به‌عنوان یکی از راهبردهای درمانی جدید برای درمان بیماری‌های نورودژنراتیو ازجمله بیماری آلزایمر، پارکینسون و نروپاتی‌ها موردتوجه قرار گیرد. درخصوص نبود معناداری اختلاف سطوح NGF در گروه ترکیبی نسبت به گروه دریافت‌کنندهٔ سلول بنیادی می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که سلول‌های عصبی به‌خصوص عوامل نوروتروفیک تولیدی از آن، واکنش‌پذیر به سلول‌های بنیادی هستند (۳۹)؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که در مطالعهٔ حاضر تزریق سلول بنیادی در گروه دیابت + سلول و نبود استرس حاصل از تمرین اجباری روی نوار گردان (۱۳) در این گروه، موجب افزایش قابل‌توجه در سطوح NGF در هیپوکامپ موش‌ها شده باشند. همچنین، پژوهشگران بیان کرده‌اند که احتمالاً سلول‌های بنیادی تزریق‌شده تحت‌تأثیر محیط

1. Chang
2. Phosphoinositide 3-Kinases
3. Al-Jarrah
4. Capitelli

اطرافشان، فاکتورهای رشد (ازجمله BDNF، VEGF و NGF) و سایتوکین‌ها را ترشح می‌کنند که با مکانیسم‌های اتوکرین و پاراکرین بر خود و سلول‌های میزبان اثر می‌گذارند و نه‌تنها میزان بقا و تمایز سلولی را افزایش می‌دهند، بلکه به عصب‌دهی مجدد و برقراری ارتباط عصبی نیز منجر می‌شوند (۴۰). همچنین، همسو با پژوهش حاضر، هاشم‌ورزی و همکاران (۴۱) بیان کردند که پیوند سلول‌های بنیادی می‌تواند باعث بازسازی و ترمیم بافت آسیب‌دیدهٔ مغزی شود که مکانیسم پیشنهادی این پژوهش است؛ به دلیل این که افزایش سطوح VEGF و عوامل رشد عروقی و فرایند آنژیوژنز در بافت مغزی ایجاد می‌شود. آثار ترکیب ورزش و تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی می‌توانند به‌صورت چند مکانیسم احتمالی توضیح داده شوند. اول اینکه، ورزش می‌تواند در مسیر تولید NGF اثربخش باشد؛ به‌دلیل افزایش انرژی دردسترس سلول عصبی، بلوغ پیش‌سازهای NGF و افزایش بیان تیروزین‌کیناز A که گیرنده‌ای فعال برای NGF محسوب می‌شود (۴۲). همچنین، بیان شده است که عوامل مختلفی باعث عروقی‌شدن بافت (آنژیوژنز) درهنگام فعالیت ورزشی می‌شوند. مهم‌ترین این عوامل، هایپوکسی، نیروهای همودینامیک، متابولیت‌ها، اتساع‌کننده‌های عروق مانند NO[1]، انقباض عضلانی، برخی از سایتوکاین‌ها و انواع کشش‌ها هستند (۴۳، ۲۷).

با توجه به مبانی موجود، در پژوهش حاضر این احتمال وجود دارد که افزایش VEGF به‌طور قابل‌توجهی سبب محافظت از سلول‌های عصبی شده است. همسو با این مکانیسم مطرح‌شده، کدت[2] و همکاران (۴۴) نیز گزارش کردند که افزایش سطوح VEGF در مناطقی از مغز که دراثر بیماری پارکینسون بیشتر تحت‌تأثیر قرار می‌گیرند، یک اثر درمانی بالقوه دارد. ازطرف‌دیگر، با توجه به اثرهای ورزش بر سطوح عوامل آغازگر آنژیوژنز مانند NO و متعاقب آن، افزایش آنژیوژنز در هیپوکامپ که در پژوهش حاضر نیز مشاهده شده است، می‌توان مکانیسم آن را این‌گونه مطرح کرد که تولید NO مراحل مختلفی دارد که از جملهٔ آن‌ها تنش برشی[3] حاصل از ورزش است که سبب افزایش نیتریک اکساید سنتاز NOS[4] در سلول اندوتلیال می‌شود. این آنزیم به‌همراه کلسیم آزادشده از سلول و با کمک کمپلکس NADPH[5] موجب تبدیل ال- آرژنین به ال- سیترولین و افزایش NO می‌شود؛ ازاین‌رو، می‌تواند آغازگر آنژیوژنز در بافت باشد. نیتریک اکساید با تأثیر بر عضلات صاف زیرین خود موجب تبدیل گوانیلات سیکلاز غیرفعال به شکل فعال خود می‌شود و آن نیز تبدیل GTP[6] وGMP[7]

1. Nitric Oxide
2. Cadet
3. Shear Stress
4. Nitric Oxide Synthases
5. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
6. Guanosine Triphosphate
7. Guanosine Monophosphate

و درنهایت، شل‌شدن عضلات صاف و افزایش مولکول‌های چسبان روی سطح اندوتلیال را درپی دارد (۴۵).

مکانیسم‌های مطرح‌شده درمورد اثرهای سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در نوروژنز و آنژیوژنز می‌توانند تحریک تولید فاکتورهایی مانند عوامل نوروتروفیک و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و فاکتور رشد عروقی HGF باشند (۴۶). درخصوص مکانیسم اثرهای تعاملی متغیرهای وابستهٔ پژوهش، مشخص شده است که افزایش سطوح NGF و نوروتروفین‌ها که در پژوهش حاضر نیز در گروه‌های تحت‌درمان مشاهده شده است، می‌تواند به‌واسطهٔ گیرندهٔ خود (TRK-A) باعث تحریک تولید NO، VEGF و درنهایت، آنژیوژنز شود. مکانیسم پیشنهادی در این مسیر، فعال‌شدن پروتئین PI3K و AKT[1] و متعاقب آن، فعال‌شدن MMP2ها و افزایش فعالیت NOS است که در پایان باعث ایجاد عروق جدید در بافت می‌شود (۴۷). با توجه به نقش NGF و VEGF در سلامت و کاهش اثرهای ناشی از بیماری دیابت بر سیستم عصبی مرکزی به‌ویژه هیپوکامپ و پیری، بنابراین، ترکیب تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از چربی همراه با انجام تمرین‌های ورزشی می‌تواند یک راهکار حفاظتی و درمانی برای کاهش آسیب‌ها در این بیماری باشد.

پیام مقاله: با توجه به پیشرفت علم در حوزهٔ سلول‌های بنیادی و معرفی آن به‌عنوان روش نوین درمان که در پژوهش حاضر هم آثار مثبت آن مشاهده شد، چشم‌انداز روشنی هم درزمینهٔ پژوهش‌های حوزهٔ علوم ورزشی و هم در درمان بیماری‌ها ایجاد شده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همهٔ افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند، تشکر نمایند.

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. 2013;2(6):1175-8.
2. Knopman D, Boland LL, Mosley T, Howard G, Liao D, Szklo M, et al. Atherosclerosis risk in communities (ARIC) study investigators. Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults. Neurology. 2001;56:42–8.

1. Proteinkinase B

3. Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. Trends Neurosci. 2000;23:542–9.
4. Sun MK, Alkon DL. Link between Alzheimer's disease and diabetes. Drugs Today 2006, 42(7): 481.
5. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozocin-induced diabetes mellitus. Life Science. 2003;73:1907-16.
6. Pedersen BK, Pedersen M, Krabbe KS, Bruunsgaard H, Matthews VB, Febbraio MA. Role of exercise-induced bdnf production in the regulation of energy homeostasis. Exp Physiol. 2009;94:1153-60.
7. Fang Yu, Kolanowski Ann. Facilitating aerobic exercise training in older adults with Alzheimer s disease. Geriatr Nurs. 2009;30(4):250-9.
8. Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A. High impact ruuning improves learning. Neurobiol Learn Mem. 2007;87:597-609.
9. Momeni Z, Behnam Rasoli M, Feridoni M. Comparison of the effects of type 1 and type 2 diabetes on hippocampal neuronal density in male Wistar rats. Iran. J. Diabetes Lipid Disord. 2011;10(4):339-46. (In Persian).
10. Reagan LP. Insulin signaling effects on memory and mood. Curr Opin Pharmacol. 2007;7:633-7.
11. Jafari Anarkooli I, Sankian M, Varasteh aAR, Haghir H. Effects of insulin and ascorbic acid on inhibition of the apoptosis in hippocampus of stz-induced diabetic rats. Anat Sci J. 2010;7:133-43. (in Persian).
12. Xu B, Zang K, Ruff NL, Zhang YA, McConnell SK, Stryker MP. Cortical degeneration in the absence of neurotrophin signaling: Dendritic retraction and neuronal loss after removal of the receptor TrkB. Neuron. 2000;26:233-45.
13. Hamidi Perchikolaei O, Fallah Mohammadi Z, Haji Zadeh Moghadam A. The effect of treadmill running with consumption of vitamin D3 on NGF levels in Parkinsonian rat's striatum. Sport Physiol. 2016; 8(29): 91-102. (In Persian).
14. Delcroix JD, Michael GJ, Priestley JV, Tomlinson DR, Fernyhough P. Effect of nerve growth factor treatment on p75NTR gene expression in lumbar dorsal root ganglia of streptozocin-induced diabetic rats. Diabetes. 1998;47:1779-85.
15. Chae C-H, Jung S-L, An S-H, Jung C-K, Nam S-N, Kim H-T. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating pphosphatidylinositol 3-kinase activation in thesoleus of diabetic rats. J Physiol Biochem. 2011;67:235-41.
16. Aloe L, Rocco M, Bianchi P, Manni L. Nerve growth factor: From the early discoveries to the potential clinical use. J. Transl. Med. 2012;10:239-54.
17. Tesfaye S, Malik R, Ward JD. Vascular factors in dabetic neuropathy. Diabetologia. 1994;37:847-57.
18. Al-Jarrah M, Jamous M, Al Zailaey K, Bweir SO. Endurance exercise training promotes angiogenesis in the brain of chronic/progressive mouse model of Parkinson's Disease. NeuroRehabilitation. 2010; 26(4):369-73.
19. Tavakkoly BJ, Pravica V, Boulton AJ, Hutchinson IV. Genetics of diabetic neuropathy: Study of VEGF gene. ijdld. 2005;5(2):117-25.
20. 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(7):441-50.

21. 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 Technolog Med Sci. 2005;25(2):191-3.
22. Tokmakidis SP, Zois CE, Volaklis KA, Kotsa K, Touvra AM. The effects of a combined strength and aerobic exercise program on glucose control and insulin action in women with type 2 diabetes. Eur J Appl Physiol. 2004; 92(4-5):437-42.
23. Boulé NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of controlled clinical trials. JAMA. 2001;286(10):1218-27.
24. Sheu WH, Chang TM, Lee WJ, Ou HC, Wu CM, Tseng LN, et al. Effect of weight loss on proinflammatory state of mononuclear cells in obese women. Obesity (Silver Spring). 2008;16(5):1033-8.
25. Eizadi M, Behboudi L. Effect of acute and chronic exercise on beta-cell function in diabetic patients. JKH. 2012;6(4):15-19. (In Persian).
26. Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: Key roles of growth factor cascades and inflammation. Trends Neurosci. 2007;30(9):464-72.
27. Villar-Cheda B, Sousa-Ribeiro D, Rodriguez-Pallares J, Rodriguez-Perez AI, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Aging and sedentarism decrease vascularization and VEGF levels in the rat substantia nigra. Implications for Parkinson's disease. J. Cereb. Blood Flow Metab. 2008;29(2):230-4.
28. Wahl P, Jansen F, Achtzehn S, Schmitz T, Bloch W, Mester J, Werner N. Effects of high intensity training and high volume training on endothelial microparticles and angiogenic growth factors. PLoS One. 2014;9(4):96024.
29. Priscylla N, Pamela B, Fabiana G, Larissa B, Patrícia, S. Physical exercise reverses spatial memory deficit and induces hippocampal astrocyte plasticity in diabetic rats. Brain Res. 2017;1655(15):242-51.
30. Pourheydar B, Shahi M, Farjah GH. Evaluation of apoptosis in hippocampal cells of rat following in travenous injection of bone marrow stromal cells in ischemia-reperfusion. Urmia Med J. 2014; 25(7):584-97. (In Persian).
31. 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(11):997–1004.
32. 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(8):717-26. (In Persian).
33. Krishna KA, Rao GV, Rao KS. Stem cell-based therapy for the treatment of Type 1 diabetes mellitus. Regenerative Med. 2007;2(2):171-77.
34. Lock LT, Tzanakakis ES. Stem/Progenitor cell sources of insulin-producing cells for the treatment of diabetes. Tissue Eng. 2007;13(7):1399-412.
35. Chen Q, Lon, Y yuan X, Zou L, Sun J. protective effects of bone marrow stromal cell transplantation in injured rodent brain: Synthesis of neurotrophic factors. J Neurosci Res. 2005;80:611-9.

36. Chae CH, Jung SL, An SH, Park BY, Wang SW, Cho IH, et al. Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/ extracellular signalregulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. Neuroscience. 2009;164:1665–73.
37. Taha MF, Hedayati V. Isolation, identification and multipotential differentiation of mouse adipose tissue derived stem cells. Tissue Cell. 2010;42(4):211-16.
38. Chae CH, Kim HT. Forced moderate-intensity treadmill exercise suppresses appotosis by increasing the level of NGF and stimulating phosphatidy linositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. Neurochem Int. 2009;55(4):208-13.
39. 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(10):1049-64.
40. 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(44):15804-9.
41. 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(30):129-42. (In Persian).
42. Chae C-H, Lee H, Jung S, Kim T, Kim J, Kim N. Swimming exercise increases the level of nerve growth factor and stimulates neurogenesis in adult rat hippocampus. Neuroscience. 2012;212:30-7.
43. Nourshahi M, Taheri chadorneshin H, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. Q. Horiz. Med. Sci. 2013;18(5):286-96. (In Persian).
44. Cadet J, Last R, Osticv K, Rezedborski P, Lewis VJ. Long term behavioral and biochemical effect of 6-OHDA injection in Rat Caudate Putamen. Brain Res Ball. 1991;26:707-13.
45. Jalali Z, Dabidi Roshan V. The effect of regular endurance exercises and galbanum supplement on vascular function during chronic hypertension in male wistar rats. J. Sport Bio. 2014;6(1):95-113. (In Persian).
46. Cawthorn WP, Scheller ES, MacDougald OA. Adipose tissue stem cells: The great WAT hope. Trends Endocrinol Metab. 2012;23(6):270–7.
47. Caporali A, Emanueli C. Cardiovascular Actions of Neurotrophins. Physiol Rev. 2009;89:279–308.

ارجاع‌دهی

حمیدی پرچیکلایی سیدامید، هاشم‌ورزی سیدعبدالله، پورقاسم محسن. اثر شش هفته تمرین هوازی فزاینده به‌همراه تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بر سطوح فاکتور رشد عصبی و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در هیپوکامپ رت‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۳): ۴۰ـ۱۲۳. شناسهٔ دیجیتال: 10.22089/spj.2019.7401.1907

Hamidi Perchikolaei S.O, Hashemvarzi S.A, Pourghasem M. The Effect of 6 Weeks Progressive Aerobic Training with Injection of Adipose Tissue-Derived Stem Cells on Nerve Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat's Hippocampus. Sport Physiology. Fall 2019; 11(43): 123-40. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2019.7401.1907

The Effect of 6 Weeks Progressive Aerobic Training with Injection of Adipose Tissue-Derived Stem Cells on Nerve Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat's Hippocampus

S. O. Hamidi Perchikolaei[1], S. A. Hashemvarzi[2], M. Pourghasem[3]

1. Ph.D Student of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
2. Assistant Professor of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran (Corresponding Author)
3. Professor of Cellular and Molecular Biology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Received: 2019/05/06 Accepted: 2019/09/08

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of 6 weeks progressive aerobic training with tail injection of adipose tissue-derived stem cells on nerve growth factor (NGF and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in streptozotocin-Induced diabetic rat's hippocampus. 48 rats (weight: 220-240 g and age: 9 week) were divided into 6 groups: control, sham ،control diabetes, diabetes+exercise, diabetes + stem cell, diabetes + exercise + stem cell. The exercise protocol was treadmill running for 5 days per week with intensity of 60-70% VO2max for 6 weeks. In the stem cell receiver group, Insulin Syringes with PBS / 5 ml contains 1/5*106 number of stem cells extracted from human adipose tissue of diabetic rats was injected into the tail vein. Diabetes was induced by injection of streptozotocin (60 mg/kg) dissolved in citrate buffer, pH 4.5 intraperitoneally. VEGF and NGF levels in the hippocampus were measured by ELISA. The levels of VEGF and NGF were significantly reduced in the diabetic group compared to the control (P = 0.0001). On the other hand, VEGF levels in the diabetic + exercise + cell group were significantly higher than other groups (P = 0.0001). Also, these levels were significantly increased in the diabetes + cell and diabetes + exercise groups compared with the control diabetes group (P = 0.0001). On the other hand, the level of NGF in the diabetic cell group was significantly higher than that of the other groups except for the group of diabetes (P = 0.0001). Also, these levels were significantly increased in the diabetes + cell and diabetes + exercise groups compared with the control diabetes group (P = 0.0001). Generally, the results showed that the levels of NGF and VEGF in the training group, stem cell and also in the combined group were significantly increased compared to the control group for diabetes. Therefore, it seems that each of the interventions, especially their combination, can be a controller factor against diabetes due to an increase in neurotrophic and vascular effects.

Keywords: Progressive aerobic training, Adipose-derived stem cell, Nerve and endothelial growth factor, Diabetes, Hippocampus.

1. Email: s.omidhamidi@yahoo.com
2. Email: Hashemvarzi_tkd@yahoo.com
3. Email: mpourghasem@hotmail.com