

## تأثیر تمرین مقاومتی به همراه تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر سطوح TNF- $\alpha$ و فاکتور هسته‌ای کاپا B در قشر مغز موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۱۹

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۹

بهروز محمدنژاد<sup>۱</sup>، سید عبدالله هاشم‌ورزی<sup>۲\*</sup>، امین فرزانه حصاری<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران ۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

### چکیده

**مقدمه و هدف:** نوروپاتی شایع‌ترین عارضه عصبی دیابت است که منجر به تغییراتی در سیستم اعصاب مرکزی به‌ویژه مغز می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی پس از تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر سطوح فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) و فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF- $\kappa$ B) در قشر مغز موش‌های صحرایی دیابتی اجرا گردید.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ ۹ هفته‌ای نژاد ویستار به‌طور تصادفی به شش گروه کنترل، شم، دیابت، دیابت + تمرین، دیابت + سلول بنیادی، دیابت + تمرین + سلول بنیادی (ترکیبی) تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی روی نوارگردان به مدت ۶ هفته به تمرین مقاومتی پرداختند. در گروه دریافت‌کننده سلول بنیادی، ۱۰<sup>۶</sup> × ۱/۵ عدد سلول بنیادی به موش‌های دیابتی تزریق شد. برای ایجاد دیابت، استرپتوزوتوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری به‌وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج تفاوت معنی‌داری را در بین گروه‌های مختلف پژوهش در سطوح TNF- $\alpha$  ( $p < 0/01$ ) و NF- $\kappa$ B ( $p < 0/01$ ) نشان داد. سطح TNF- $\alpha$  در گروه تمرین + سلول نسبت به گروه دیابت کاهش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). سطح NF- $\kappa$ B در گروه‌های تمرین و تمرین + سلول، نسبت به گروه دیابت کاهش معنی‌داری نشان دادند ( $p < 0/01$ ).

**نتیجه‌گیری:** تزریق سلول‌های بنیادی همراه با انجام تمرینات ورزشی می‌تواند بر اثرات تخریبی سیستم عصبی مرکزی ناشی از دیابت در جهت کاهش شاخص‌های التهابی قشر مغز، یک راهکار حفاظتی و درمانی داشته باشد.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین مقاومتی، سلول بنیادی، فاکتور هسته‌ای کاپا B، دیابت، قشر مغز

\*نویسنده مسئول: استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران

نمابر: ۰۱۱۴۳۲۱۷۱۲۴

تلفن: ۰۱۱۳۴۴۵۸۱۴

ایمیل: hashemvarzi\_tkd@yahoo.com

## مقدمه

دیابت ملیتوس، یک اختلال متابولیسمی در بدن است که در آن، توانایی تولید هورمون انسولین به دلیل تخریب سلول‌های  $\beta$  پانکراس از بین رفته و یا اینکه بدن در برابر انسولین تولیدی، مقاوم شده که به نوبه خود سبب هیپرگلیسمی می‌گردد (۱). دیابت در درازمدت می‌تواند عوارض ثانویه زیادی ایجاد کند که از جمله می‌توان به بیماری‌های قلبی-عروقی، افزایش خطر سکته مغزی، هیپوگلیسمی، از دست‌دادن بینایی، نارسایی کلیوی، قطع عضو و آسیب به سیستم اعصاب مرکزی (CNS)<sup>۱</sup> اشاره کرد (۲، ۳). وقتی آستروگلیا در معرض گلوکز زیاد قرار می‌گیرند، بیان سایتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین ۱ بتا ( $IL-1\beta$ )، اینترلوکین ۶ ( $IL-6$ ) و فاکتور نکروز توموری ( $TNF-\alpha$ )<sup>۲</sup> به دنبال فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپا B ( $NF-\kappa B$ )<sup>۳</sup> افزایش می‌یابد (۴). عامل رونویسی هتروداایمریک  $NF-\kappa B$ ، تنظیم کننده اصلی التهاب در سیستم عصبی محیطی (PNS)<sup>۴</sup> و CNS می‌باشد (۵).

نتایج مطالعات اخیر نشان می‌دهد که ارتباط زیادی بین بیماری‌ها و عدم تحرک بدنی وجود دارد (۶). فعالیت ورزشی به‌عنوان یک درمان غیر دارویی نقش مهمی در تنظیم و کاهش سایتوکین‌های التهابی مرتبط با عملکرد سلول‌های بتا لوزالمعده، ایفا می‌کند (۷، ۸). از سلول‌های بنیادی برای جبران سلول‌های از دست‌رفته استفاده می‌شود. در انسان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی، رشد سریع‌تری نسبت به سلول‌های بنیادی خون بند ناف و استخوان دارند (۹، ۱۰).

بسیاری از مارکرهای بیان شده در سلول‌های بنیادی مزانشیمی چربی، مشابه سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان می‌باشد. مهمترین امتیاز سلول‌های بنیادی بافت چربی این است که آنها را می‌توان به راحتی از بیماران به دست آورد و همچنین به سادگی کشت داد. تکثیر سریع، حفظ خصوصیات چندتوانی به مدت طولانی و بعد از چندین پاساژ، نشان می‌دهد که این سلول‌ها می‌توانند انتخاب مناسبی برای اهداف درمانی باشند (۱۱). از آنجا که تاکنون تحقیقی در زمینه اثرات تعاملی

تمرینات مقاومتی به همراه تزریق درون وریدی سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (STZ)<sup>۵</sup> بر سطوح شاخص‌های التهابی  $TNF-\alpha$  و  $NF-\kappa B$  در قشر مغز انجام نشده است، لذا هدف مطالعه حاضر تعیین تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی پس از تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر سطوح  $TNF-\alpha$  و  $NF-\kappa B$  در قشر مغز موش‌های دیابتی است.

## روش کار

این مطالعه تجربی، بر روی ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ ۹ هفته‌ای نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۴۰-۲۲۰ گرم انجام گردید. در تمامی مراحل انجام کار، قوانین مربوط به نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی، به‌طور کامل رعایت گردید. حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به‌صورت جداگانه در محیطی با دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند. غذای مخصوص موش و آب کافی در تمام مدت بجز در زمان انجام آزمایشات در اختیار همه گروه‌ها قرار داشت. موش‌ها پس از آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان (ساخت ایران) به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه شامل: ۱- گروهی که تعیین‌کننده مقادیر پایه می‌باشد و در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند و رژیم غذایی نرمال دریافت کردند (کنترل سالم جهت تعیین مقادیر پایه). ۲- گروهی که تنها سالیان را جهت تعیین اثر استرس ناشی از تزریق دریافت کردند و در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند (گروه شم). ۳- گروهی که STZ دریافت کردند و در طول پژوهش در قفس نگهداری شدند (گروه کنترل دیابت). ۴- گروهی که ابتدا دیابتی شدند و سپس به مدت ۶ هفته به تمرین پرداختند (گروه دیابت + تمرین). ۵- گروهی که دیابتی شدند و سپس سلول بنیادی به آنها تزریق شد (گروه دیابت + سلول بنیادی). ۶- گروهی که دیابتی شدند و سپس سلول بنیادی دریافت کرده و به مدت ۶ هفته تمرین کردند (گروه دیابت + تمرین + سلول بنیادی) یا (گروه ترکیبی) بودند. جهت القاء دیابت در موش‌های صحرایی، محلول STZ با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت درون صفاقی به حیوانات تزریق شد. STZ در سرم فیزیولوژیک سرد، حل و به‌صورت تازه

<sup>5</sup>Streptozotocin<sup>1</sup> Central nervous system<sup>2</sup> Tumor nekrosis factor<sup>3</sup> Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells<sup>4</sup> Peripheral nervous system

بسته‌شده به دم موش‌ها ۵۰ درصد یک تکرار بیشینه (1RM) هر حیوان بود که در روز قبل از شروع پروتکل تمرین مقاومتی، محاسبه شد. این مقدار در هر هفته ۱۰ درصد افزایش یافت تا به ۱۰۰ درصد در هفته پایانی رسید. حیوانات در طول ۲ هفته قبل از شروع تمرینات با صعود از نردبان آشنا شدند که در صورت امتناع با تحریک دستی وادار به صعود شدند. به‌منظور تهیه نمونه بافتی ابتدا موش‌ها بی‌هوش شده و سپس با جدا کردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جدا کردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسه مجسمه، قشر مغز از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا شد و بلافاصله در ازت قرار گرفت. پس از منجمد شدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ، میزان شاخص‌های التهابی گروه‌ها به‌وسیله کیت آزمایشگاهی شرکت HANGHOU ساخت کشور چین با ضریب حساسیت ۱۹۵٪ پیکوگرم به‌روش الایزا اندازه‌گیری شد.

مراحل انجام الایزا برای اندازه‌گیری متغیرهای وابسته به ترتیب زیر انجام شد؛ ابتدا رقیق‌سازی محلول استاندارد بر اساس بروشور کیت آماده شد. سپس ۱۰۰ لاندا از نمونه بافتی به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از ۲ ساعت محتویات هر چاهک دور ریخته‌شد. به هر چاهک ۱۰۰ لاندا آنتی‌بادی اضافه شد به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. محتویات هر چاهک دوباره دور ریخته شد، سه بار با محلول شستشو داده‌شد. سپس به هر چاهک ۱۰۰ لاندا آنزیم HRP<sup>۱</sup> اضافه شد، مجدد به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. دوباره محتویات هر چاهک دور ریخته شد و ۵ بار شستشو انجام شد و سپس به هر چاهک ۹۰ لاندا سوبسترا TMB<sup>۲</sup> اضافه شد و به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، ضمناً سوبسترا بدون وجود نور اضافه شد. در مرحله آخر ۵۰ لاندا محلول متوقف‌کننده به هر چاهک اضافه شد که مسئول تولید رنگ زرد برای هر نمونه می‌باشد، در نهایت جذب هر نمونه در دستگاه الایزا ریدر با طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل آماری شد. با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف

استفاده شد. ۷۲ ساعت بعد از القاء دیابت، از دم حیوان خون‌گیری شد. میزان قندخون با دستگاه گلوکومتر (Bionime مدل GM110 ساخت سوئیس) اندازه‌گیری شد. حیوانات با قندخون ناشتا بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، دیابتی تلقی شدند (۱۱). برای تهیه سلول‌های بنیادی، از بافت چربی استفاده شد. این بافت با فسفات بافر سالین<sup>۱</sup> (PBS) حاوی آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین - استرپتومایسین) در چهار نوبت شستشو داده شد تا مطمئن شویم که خون از محلول خارج شده‌است. سپس برای جداسدن سلول‌ها، بافت مورد نظر توسط آنزیم کلاژناز - ۱ به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد هضم قرار گرفت. سپس فعالیت آنزیمی و پلاک سلولی به‌دست آمد. گلوبول قرمز موجود با محلول بافر لیزکننده تریس<sup>۲</sup> حذف شدند. سلول‌های به‌دست آمده برای شمارش و کشت در فلاسک مخصوص کشت سلول و در نهایت جهت تزریق به مدل حیوانی استفاده شدند.

در این پژوهش برای تعیین ویژگی‌های فنوتیپ سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، میزان بیان شاخص‌های سطح سلولی CD29<sup>۳</sup> و CD90<sup>۴</sup> در این سلول‌ها ارزیابی شدند (۱۲). پس از القاء بی‌هوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین<sup>۵</sup> ۲ درصد با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دم موش را به مدت ۱ دقیقه در آب گرم نگه داشته تا عروق دمی متسع شوند و بدین ترتیب سیاهرگ دمی نمایان شود. سپس به کمک سرنگ انسولین بعد از شستشو سلول‌ها با PBS و پیتاژ کردن در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار، حدود  $10^6 \times 1/5$  عدد سلول بنیادی به سیاهرگ دمی موش تزریق شد (۱۱).

گروه‌های تمرین روی نوار گردان به مدت ۶ هفته به تمرین مقاومتی پرداختند. پروتکل تمرین مقاومتی شامل ۶ هفته صعود از نردبان ۷۶ سانتی‌متری با ۴۷ پله و عرض ۱۹ سانتی‌متر با زاویه ۸۰ درجه و دارای استراحتگاه در بالا بود. به‌منظور تعیین وزنه مناسب هر ۴ روز یک بار موش‌ها وزن شدند. هر جلسه شامل ۳ ست با ۵ تکرار بود که در فاصله بین هر ست یک دقیقه استراحت گنجانده‌شده بود. تمرین پس از بستن وزنه به دم موش صحرائی انجام شد. در هفته اول، میزان وزنه‌های

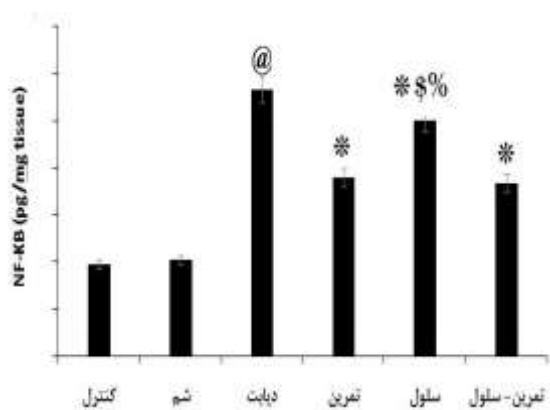
<sup>۱</sup> Phosphate-buffered saline

<sup>۲</sup> Tris-buffers

<sup>۳</sup> Cluster Differentiation 29

<sup>۴</sup> Cluster Differentiation 90

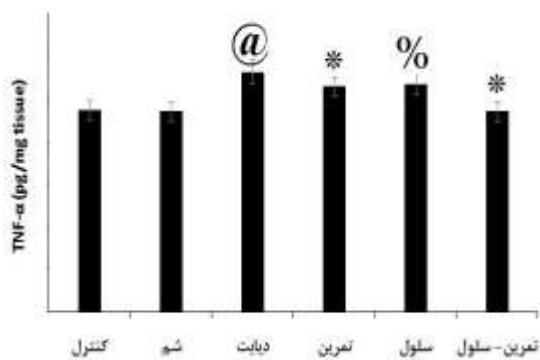
<sup>۵</sup> Xylazine



**نمودار ۱.** مقایسه سطوح NF-κB در بافت قشر مغز موشهای دیابتی

@: اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل؛ \* نسبت به گروه دیابت؛ \$: نسبت به گروه تمرین؛ %: نسبت به گروه تمرین + سلول

همچنین مطابق نمودار شماره ۲، سطح TNF- $\alpha$  در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p=0/001$ ). در مقابل گروه‌های تمرین ( $p=0/009$ ) و تمرین + سلول ( $p=0/001$ ) نسبت به گروه دیابت کاهش معناداری نشان دادند. گروه تمرین + سلول نیز نسبت به گروه سلول ( $p=0/018$ ) کاهش معناداری داشت.



**نمودار ۲.** مقایسه سطوح TNF- $\alpha$  در بافت قشر مغز موشهای دیابتی

@: اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل؛ \* نسبت به گروه دیابت؛ %: نسبت به گروه تمرین + سلول

نرمال بودن توزیع داده‌ها مشخص شد و سپس با استفاده از آزمون لوین تجانس واریانسها مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌ها از آزمون One-Way ANOVA استفاده شد که در صورت وجود تفاوت معنادار، آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه دوگانه گروه‌ها به کار گرفته شد. در این بررسی‌ها سطح معناداری برای تمام آزمون‌های آماری کوچکتر و مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی پس از تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر سطوح TNF- $\alpha$  و NF- $\kappa$ B در قشر مغز موش‌های دیابتی بود. بعد از القاء دیابت، میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری و میانگین قند خون گروه‌های مختلف بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر مطابق جدول ۱ ثبت شد. تفاوت آماری معنی‌داری در مقادیر قند خون گروه کنترل با سایر گروه‌ها مشاهده شد ( $p<0/001$ ).

**جدول ۱.** میانگین و انحراف معیار قند خون گروه‌های مختلف مطالعه و تأیید دیابتی شدن آنها

گروه‌ها	میانگین قند خون	انحراف معیار
گروه کنترل	۱۱۳/۲۸	۴/۴۲
گروه شم	۱۱۴/۴۲	۴/۲۳
گروه کنترل دیابت	۳۳۴/۷۱	۱۱/۴۸
گروه تمرین + دیابت	۲۹۳/۵۷	۱۱/۵۸
گروه سلولهای بنیادی + دیابت	۳۳۴/۸۵	۴/۷۰
گروه دیابت + سلول بنیادی + تمرین	۳۳۶/۴۲	۶/۵۲

نمودار ۱ مقایسه سطوح NF-κB را در بافت قشر مغز موشهای دیابتی نشان می‌دهد. مطابق نتایج این نمودار، سطح NF-κB در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد ( $p<0/001$ ). در مقابل گروه‌های تمرین، تمرین + سلول ( $p<0/001$ ) و سلول ( $p=0/05$ ) نسبت به گروه دیابت کاهش معناداری نشان دادند. گروه‌های تمرین ( $p=0/001$ ) و تمرین + سلول نیز نسبت به گروه سلول کاهش معناداری داشتند.

## بحث

ورزش را در موش‌های صحرایی دیابتیک مورد ارزیابی قرار داده و نشان دادند که تمرین هوازی می‌تواند باعث کاهش سطوح شاخص‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  و IL-1 $\beta$  گردد که همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (۲۰). بدین ترتیب فعالیت بدنی می‌تواند با کاهش عوامل التهاب‌زا و بهبود سطوح فاکتورهای رشدی باعث محافظت از مغز در مقابل آسیب ناشی از التهاب شود (۲۱).

استفاده از سلول‌های بنیادی یکی از جدیدترین روش‌های درمانی است که امروزه جهت درمان اختلالات عصبی بر روی نمونه‌های حیوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پورحیدر و همکاران نشان دادند که سلول‌های بنیادی از طریق ترشح فاکتورهای نوروتروفیک<sup>۴</sup> و نیز افزایش نورون‌زنی<sup>۵</sup> سبب بقای نورون‌ها شده و از این طریق موجب بهبود عملکردی در ضایعات مختلف سیستم مغزی می‌شوند (۲۲). از طرف دیگر Capitelli و همکاران اذعان داشتند که می‌توان از سلول‌های بنیادی به منظور جایگزینی سلول‌های عصبی مرده، بازسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی و جریان‌های عصبی و فراهم کردن آثار نوروتروفیک برای این سلول‌ها استفاده کرد (۲۳). همچنین در پژوهش هاشم‌ورزی و همکاران ذکر شد پیوند سلول‌های بنیادی می‌تواند باعث بازسازی و ترمیم بافت آسیب‌دیده مغزی شود که مکانیسم پیشنهادی این ترمیم، افزایش فاکتور رشد اندوتلیالی (VEGF)<sup>۶</sup> در بافت مغزی عنوان شده است (۲۴). Run و همکاران نشان دادند که میزان سیتوکین پیش‌التهابی TNF- $\alpha$ ، ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت بعد از آسیب مغزی به طور معنی‌داری در گروهی که سلول‌های بنیادی مزانشیمال را دریافت کرده بودند، کاهش یافته بود (۲۵) که هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. در واقع سلول‌های بنیادی مزانشیمال با القاء تولرانس محیطی و مهاجرت به بافتهای آسیب‌دیده، آزادسازی سیتوکین‌های پیش‌التهابی را مهار می‌کنند (۲۶) که احتمالاً از طریق افزایش بیان TSG-6<sup>۷</sup> ایجاد می‌گردد (۲۵). TSG-6 ممکن است به نوبه خود با سرکوب مسیر سیگنالینگ NF- $\kappa$ B باعث کاهش تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی گردد (۲۵). به نظر می‌رسد پیوند این سلول‌ها می‌تواند به عنوان یکی از

به دنبال دیابت، سیتوکین‌های التهابی همچون اینترفرون گاما (IFN- $\gamma$ )<sup>۱</sup> و TNF- $\alpha$  همچنین فعالیت ماکروفاژها، T Cells، سلول‌های کشنده طبیعی (NK)<sup>۲</sup> و دیگر سلول‌های سیستم ایمنی، افزایش می‌یابند (۱۳). Mastrocola و همکاران دریافتند در موش‌هایی که با STZ دیابتیک شده‌اند، مهمترین عامل ایجاد آسیب در پارانشیم مغزی، استرس اکسیداتیو و التهاب بوده است (۱۴). مکانیسم اساسی و کلیدی التهاب ناشی از هیپرگلیسمی، مربوط به تولید سیتوکین‌های التهابی وابسته به NF- $\kappa$ B، بیان گیرنده ناقوسی شکل (TLR)<sup>۳</sup> و افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد (۱۵). NF- $\kappa$ B القاء بسیاری از ژن‌های التهابی را کنترل می‌کند، به طوری که در طول هیپرگلیسمی، به سرعت و به طور چشمگیری در سلول‌های عروقی فعال شده و در نتیجه چسبندگی لکوسیت‌ها و رونویسی سیتوکین‌های التهابی افزایش می‌یابد (۱۶). بنابراین مهم است بدانیم که چگونه این فاکتورهای التهابی (که به نوبه خود ناشی از هیپرگلیسمی می‌باشند) می‌توانند آسیب‌های غیر قابل برگشت CNS را ایجاد کنند، چراکه درک این موضوع می‌تواند برای توسعه درمان جهت به حداقل رساندن آسیب‌های مغزی و بهبود نتایج بالینی مفید باشد. در مطالعه‌ای که El-kader و همکارانش انجام دادند، مشخص شد که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش معنی‌دار IL-6 و TNF- $\alpha$  پلاسمای خون در میان افراد چاق و دیابتیک خواهد شد (۱۷). در مطالعه مشابهی Shultz و همکاران نشان دادند که ۱۶ هفته تمرین مقاومتی، میزان IL-6 و TNF- $\alpha$  پلاسمای خون را به طور معنی‌داری در میان نوجوانان چاق کاهش می‌دهد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد (۱۸). Tatsuki و همکاران نشان دادند که تمرین می‌تواند پس از آسیب‌های تروماتیک مغزی، تعداد سلول‌های عصبی را افزایش داده و عملکرد مغزی را در مقایسه با گروهی که تمرین نکرده‌اند، بهبود بخشد.

در این مطالعه موش‌های صحرایی ویستار در گروه تمرین، روزانه ۳۰ دقیقه و با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه، برای ۷ روز متوالی روی نوارگردان دویند و سپس مطالعات رفتاری و ایمونوهیستوشیمیایی آنها پس از آسیب تروماتیک مغزی مورد بررسی قرار گرفت (۱۹). Bina Kumari و همکاران نقش

<sup>4</sup> Neurotrophic factors

<sup>5</sup> Neurogenesis

<sup>6</sup> Vascular Endothelial Growth Factor

<sup>7</sup> Tumor necrosis factor- inducible gene 6 protein

<sup>1</sup> Interferon Gamma

<sup>2</sup> Natural Killer

<sup>3</sup> Toll-like Receptor

ویتامین D به‌همراه سلول‌های بنیادی بر روی شاخص‌های التهابی دیگر قشر مغز مانند TNF- $\beta$  ضروری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری در رشته‌ی فیزیولوژی ورزشی، در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، با کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1398.123 می‌باشد. از کلیه کسانی که در این پژوهش شرکت کرده و همکاری نموده‌اند، صمیمانه تشکر می‌کنیم.

### تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده‌است.

### References

- 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. *International Journal of Chemical and Lifesciences*. 2013; 02(06):1175-8.
- van Dieren S, Beulens JW, van der Schouw YT, Grobbee DE, Neal B. The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2010;17:3-8.
- Wright SA, Piroli GG, Grillo CA, Reagan LP. A look inside the diabetic brain: contributors to diabetes-induced brain aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. 2009;1792:444-53.
- Wang J, Li G, Wang Z, Zhang X, Yao L, Wang F, et al. High glucose-induced expression of inflammatory cytokines and reactive oxygen species in cultured astrocytes. *Neuroscience*. 2012; 202:58-68.
- Baltimore D. NF- $\kappa$ B is 25. *Nature Immunology*. 2011;12:683-5.
- Hamidi Perchikolaei SO, Falah Mohamadi Z, Hajizadeh Moghadam A. The effect of treadmill running with consumption of vitamin D3 on NGF levels in Parkinsonian rat's striatum. *Sport Physiology*. 2016; 8 (29): 91-102. (in Persian)
- De Salles Bf, Simão R, Fleck SJ, Dias I, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Effects of resistance training on cytokines. *International Journal of Sports Medicine*. 2010; 31(7):441-50.
- 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. *Journal*

استراتژی‌های درمانی جدید برای درمان بیماری‌های نورودژنراتیو از جمله بیماری آلزایمر، پارکینسون و نوروپاتی‌های دیابتی مورد توجه قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که انجام تمرینات مقاومتی به همراه تزریق سلول‌های بنیادی می‌تواند شاخص‌های التهابی NF- $\kappa$ B و TNF- $\alpha$  را در قشر مغز موش‌های دیابتیک کاهش دهد. لذا به نظر می‌رسد هرکدام از مداخله‌ها، به‌خصوص ترکیب آنها می‌تواند به‌واسطه تأثیر افزایشی روی عوامل نوروتروفیک، یک عامل حفاظت عصبی مرکزی در برابر بیماری دیابت باشد؛ از این رو لزوم انجام پژوهش‌های بیشتر برای بررسی اثرات تمرینات ورزشی هوازی و یا تزریق آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند

- of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]. 2005; 25(2):191-3.
- Lock LT, Tzanakakis ES. Stem/Progenitor cell sources of insulin-producing cells for the treatment of diabetes. *Tissue Engineering* 2007; 13(7): 1399-412.
- Krishna KA, Rao GV, Rao KS. Stem cell-based therapy for the treatment of Type 1 diabetes mellitus. *Regenerative Medicine*. 2007; 2(2): 171-7.
- 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. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2015; 23(8): 717-26. (in Persian)
- Taha MF, Hedayati V. Isolation, identification and multipotential differentiation of mouse adipose tissue-derived stem cells. *Tissue & Cell*. 2010; 42(4): 211-6.
- Smith CJ, Lawrence CB, Rodriguez-Grande B, Kovacs KJ, Pradillo JM, Denes A. The immune system in stroke: clinical challenges and their translation to experimental research. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2013;8:867-87.
- Mastrocola R, Restivo F, Vercellinato I, Danni O, Brignardello E, Aragno M, et al. Oxidative and nitrosative stress in brain mitochondria of diabetic rats. *Journal of Endocrinology*. 2005;187:37-44.
- Dasu MR, Devaraj S, Park S, Jialal I. Increased toll-like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2010;33:861-8.
- Martini SR, Kent TA. Hyperglycemia in acute ischemic stroke: a vascular perspective. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2007;27:435-

- 51.
17. El-Kader SM. Aerobic versus resistance exercise training in modulation of insulin resistance, adipocytokines and inflammatory cytokine levels in obese type 2 diabetic patients. *Journal of Advanced Research*. 2011;2:179-83.
18. Shultz SP, Dahiya R, Leong GM, Rowlands DS, Hills AP, Byrne NM. Muscular strength, aerobic capacity, and adipocytokines in obese youth after resistance training: a pilot study. *Australasian Medical Journal*. 2015;8:113.
19. Tatsuki I, Motohiro I, Shozo N, Masahiro T, Shigeo H, Akihiko I, et al. Exercise inhibits neuronal apoptosis and improves cerebral function following rat traumatic brain injury. *Journal of Neural Transmission* (2011) 118,1263-72.
20. Bina Kumari M, Kaushal Kumar S, Sugato B. Effect of exercise on type 2 diabetes-associated cognitive impairment in rats. *International Journal of Neuroscience*. 2019;129 (8):252-63.
21. Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends in Neurosciences*. 2007; 30(9): 464-72.
22. Pourheydar B, Shahi M, Farjah GH. Evaluation of apoptosis in hippocampal cells of rat following intravenous injection of bone marrow stromal cells in ischemia-reperfusion model. *The Journal of Urmia University of Medical Sciences*. 2014;25(7): 586-97. (in Persian)
23. 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. *International Journal of Medical Sciences*. 2014; 11(10): 1049-64.
24. 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 Physiology*. 2016; 8 (30): 129-42. (in Persian)
25. Zhang R, Liu Y, Yan K, Chen L, Chen XR, Li P, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of mesenchymal stem cell transplantation in experimental traumatic brain injury. *Journal of Neuroinflammation*. 2013;10:106.
26. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V: Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2008;8:726-36.

## The effect of resistance training with mesenchymal stem cell injection on TNF- $\alpha$ and kappa B nuclear factor levels in the cortex of streptozotocin-induced diabetic rats

Received: 19 Jan 2020

Accepted: 9 Sep 2020

Behrooz Mohammadnezhad<sup>1</sup>, Seyed Abdollah Hashemvarzi<sup>2\*</sup>, Amin Farzaneh Hesari<sup>2</sup>

1. PhD Student of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic University, Sari, Iran 2. Assistant Professor of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

### Abstract

**Introduction:** Neuropathy is the most common neurological complication of diabetes which affects the central nervous systems, especially the brain. The aim of this study was to investigate the effects of resistance training After Transplantation of stem cells on rate of TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B in cerebral Cortex of STZ-induced Diabetic Rats.

**Materials and Methods:** : In this experimental study, 48 male wistar rats, 9 weeks old, weighing 220-240 g were randomly divided into six equal groups: control, sham, diabetes, diabetes + exercise, diabetes + stem cells, diabetes + exercise + stem cells. The exercise groups, practiced treadmill resistance training for 6 weeks. In the stem cell receiver group,  $1/5 \times 10^6$  number of stem cells were injected into diabetic rats. Diabetes was induced by injection of streptozotocin (60 mg/kg) intraperitoneally. All statistical analyzes were performed by SPSS 22 software.

**Results:** Data showed that the TNF- $\alpha$  ( $p < 0.01$ ) and NF- $\kappa$ B ( $p < 0.001$ ) levels was significant difference between the six groups. It was observed that in the exercise + stem cells group, TNF- $\alpha$  level was significantly lower than that of the diabetes group ( $p = 0.05$ ). There was a statistically significant decrease in NF- $\kappa$ B level in exercise and exercise + stem cells groups compared to the diabetes group ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Injection of adipose-derived stem cells along with exercise training can be a protective and therapeutic strategy to reduce cortical inflammatory markers and the effects of diabetes on the central nervous system.

**Keywords:** Resistance training, Adipose-derived stem cells, Nuclear factor kappa B, Diabetes, Cortex

\*Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Email: Hashemvarzi\_tkd@yahoo.com

Tel: +9811344458

Fax: +981143217124