

اثر هشت هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان بر سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و دوپامین جسم مخطط موش‌های مدل

پارکینسون

سیدعبداله هاشم‌ورزی^۱، علی حیدریان‌پور^۲، ضیا فلاح محمدی^۳،

محسن پور قاسم^۴

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران*

۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

۴. استاد مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۲۳

چکیده

پیوند سلول‌های بنیادی و انجام تمرین ورزشی از جمله راه‌های کمک به درمان غیردارویی می‌باشد که امروزه برای درمان بیماری پارکینسون مورد توجه قرار گرفته است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی بر فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و دوپامین جسم مخطط در موش‌های پارکینسونی، پس از پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان بود. بدین منظور، ۳۵ موش صحرایی نر هفت هفته‌ای با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به صورت تصادفی به گروه‌های کنترل سالم، پارکینسونی کنترل، سلول‌درمانی، تمرین و سلول‌درمانی + تمرین تقسیم شدند. برای ایجاد مدل پارکینسونی، تخریب جسم مخطط با تزریق پنج میکروگرم محلول شش-هیدروکسی دوپامین به صورت استریوتاکسی صورت گرفت و برای تأیید آن از آزمون چرخشی آپومورفین استفاده شد. علاوه بر این، به منظور جداسازی سلول‌های بنیادی، از مغز استخوان ران و درشت‌نی موش‌های صحرایی نر شش تا هشت هفته‌ای استفاده شد که پس از کشت، حدود ۱۰۵ سلول در دو میکرولیتر محیط از طریق کانال به داخل جسم مخطط گروه‌های دریافت‌کننده سلول تزریق شد. همچنین، تمرین شامل هشت هفته دویدن روی نوارگردان با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در دو وهله ۱۵ دقیقه‌ای و پنج روز در هفته بود. قابل ذکر است که فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و دوپامین به روش الیزا اندازه‌گیری شد. یافته‌ها نشان می‌دهند که مقادیر فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و دوپامین جسم مخطط در گروه تمرین، سلول و به‌ویژه تمرین + سلول، افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل پارکینسون داشته است ($P \leq 0.05$). به‌طور کلی، نتایج پژوهش حاضر، اثر مثبت هشت هفته تمرین روی نوارگردان در موش‌های پارکینسونی پیوندشده با سلول‌های بنیادی مغز استخوان را مورد تأیید قرار داد که می‌تواند به‌عنوان یک روش کمک‌کننده به درمان غیردارویی مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، سلول بنیادی مغز استخوان، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، دوپامین، پارکینسون

مقدمه

بیماری پارکینسون^۱ (PD) یک انحطاط نورونی پیش‌روندهٔ مربوط به مشکلات حرکتی، احساسی و شناختی می‌باشد که حدود ۱۰ میلیون نفر در سراسر جهان را تحت‌تأثیر قرار داده است (۱). این بیماری که برای اولین بار در سال (۱۸۱۷) به‌وسیلهٔ پارکینسون^۲ به‌عنوان یک سندرم توصیف شد، یک نوع تخریب پیش‌روندهٔ سیستم عصبی مرکزی است که در اثر ازبین‌رفتن نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه و به‌دنبال آن، کاهش دوپامین^۳ (DA) در جسم مخطط ایجاد می‌شود (۲،۳). علائم این بیماری کندی حرکت، سفتی و سختی عضلات، لرزش، اختلال تعادل و کاهش پیش‌رونده در عملکرد می‌باشد که به‌طور عمده، در افراد بالای ۵۰ سال بروز می‌نماید و یکی از علل شایع ناتوانی در سالمندان می‌باشد (۴).

اگرچه، ازدست‌دادن نورون‌ها در این بیماری باعث ایجاد اختلالات حرکتی و شناختی می‌شود، اما شروع اختلالات حرکتی تا زمانی که حدود ۸۰ درصد از پایانه‌های دوپامین جسم مخطط از بین برود، چندان آشکار نمی‌باشد (۵). دوپامین نوعی پیام‌رسان عصبی از نوع کاتکولامین است که پیام عصبی را از مغز میانی به جسم مخطط انتقال می‌دهد. انتقال این پیام‌ها باعث ایجاد تعادل در حرکات بدن می‌شود. هنگامی که سلول‌های ترشح‌کنندهٔ دوپامین در مغز میانی از بین می‌روند، سایر مراکز کنترل‌کنندهٔ حرکات بدن نیز نامنظم می‌گردند و در نتیجه، عدم ترشح دوپامین باعث به‌وجود آمدن علائم پارکینسون می‌شود. اگرچه داروهای وجود دارند که می‌توانند از پیشرفت علائم این بیماری تا یک دهه جلوگیری نمایند، اما هیچ درمانی نتوانسته است به‌طور قابل‌توجهی مانع از پیشرفت این بیماری و یا معکوس کردن آسیب‌های به‌وجود آمده شود (۱). از جمله راه‌های درمانی غیردارویی که امروزه برای درمان بیماری پارکینسون، به‌ویژه در نمونه‌های حیوانی مورد پژوهش قرار گرفته است، انجام تمرینات ورزشی و پیوند سلول‌های بنیادی می‌باشد (۱،۳،۶).

شواهد فراوانی وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت بدنی می‌تواند فرایند سالمندی را به تأخیر اندازد، از وقوع بیماری‌های مزمن نظیر آلزایمر و پارکینسون جلوگیری نماید و سلامتی را ارتقا دهد. در سال‌های اخیر، نشان داده شده است که تمرین بدنی از طریق افزایش عوامل نوروتروفیک، آنژیوژن و به‌دنبال آن افزایش سلول‌های دوپامینرژیک، سبب محافظت از جسم سیاه در مقابل آسیب ناشی از التهاب می‌شود (۷،۸،۹). زیگموند^۴ و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کرده‌اند که ورزش می‌تواند سرعت التیام جسم سیاه و مخطط را افزایش داده و انتقال عصبی دوپامینرژیک در سیستم جسم

1. Parkinson's Disease
2. Parkinson
3. Dopamine
4. Zigmond

سیاه - مخطط را تغییر دهد (۱). اثر ورزش و سازگاری‌های آن با انجام مطالعات آزمایشگاهی در مدل‌های حیوانی بهتر بررسی می‌شود. در پژوهشی که به‌منظور بررسی اثر ۱۲ هفته تمرین اختیاری روی چرخ دوار انجام گردید نشان داده شد که پس از این تمرینات، سطوح دوپامین جسم مخطط افزایش یافته است (۹،۱۰). الجراح^۱ و همکاران (۲۰۱۳) نیز بیان کردند که ورزش و عملکرد بدنی، کیفیت وابسته به سلامت زندگی، قدرت، تعادل و سرعت گام برداشتن بیماران پارکینسونی را بهبود می‌بخشد (۱۱). همچنین، گزارش شده است که ورزش با افزایش فاکتور رشد عروقی اندوتلیال^۲ (VEGF) که مهم‌ترین فاکتور درگیر در فرایند آنژیوژنز می‌باشد و به‌دنبال آن افزایش نرون‌زایی و آنژیوژنز، می‌تواند آثار حفاظتی عصبی را اعمال نماید (۱۲). مطالعات نشان داده‌اند که در بیماری پارکینسون، VEGF از طریق افزایش سلول‌های دوپامینرژیک ممکن است به‌طور قابل توجهی سبب محافظت از سلول‌های عصبی شود؛ بنابراین، افزایش سطوح VEGF در مناطقی از مغز که در اثر بیماری پارکینسون بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند، یک اثر درمانی بالقوه دارد (۱۱). در این راستا، یاسوهارا^۳ و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کرده‌اند که VEGF حتی ممکن است نقش مهمی را در تولید سلول‌های عصبی ایفا کند (۱۳).

یکی از جدیدترین روش‌های درمانی که امروزه جهت درمان بیماری پارکینسون بر روی نمونه‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفته است، استفاده از سلول‌های بنیادی رویانی می‌باشد؛ زیرا، این سلول‌ها از قدرت خودتکثیری بالایی برخوردار می‌باشند، اما مشاهده شده است که کاربرد آن‌ها در زمینه درمان می‌تواند در برخی موارد باعث ایجاد تومور شود؛ لذا، استفاده از سلول‌های بنیادی مغز استخوان در درمان این بیماری بیشتر مورد توجه قرار گرفته است؛ زیرا، به‌راحتی در دسترس بوده و از قدرت خودتکثیری و تمایز به سلول‌های دیگر از جمله سلول‌های عصبی برخوردار است و به‌نظر می‌رسد که دارای قابلیت تبدیل شدن به سلول‌های دوپامینرژیک می‌باشد (۳،۱۴). در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی پیشنهاد کرده‌اند که استفاده از سلول‌های بنیادی می‌تواند منفعتهای درمانی در آسیب‌های مغزی و ایسکمی مغزی داشته باشد (۱۵). در این راستا، کاپیتلی^۴ و همکاران (۲۰۱۴) ادعا داشته‌اند که می‌توان از سلول‌های بنیادی به‌منظور جایگزینی سلول‌های عصبی مرده، بازسازی

-
1. Al-Jarrah
 2. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)
 3. Yasuhara
 4. Capitelli

انتقال‌دهنده‌های عصبی و جریان‌های عصبی و نیز فراهم‌کردن آثار نروتروفیک برای سلول‌های دوپامینرژیک باقی‌مانده در بیماری پارکینسون استفاده کرد (۱۵).

علاوه‌براین، در پژوهشی که به‌منظور بررسی رفتاری موش‌های پارکینسونی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان به جسم مخطط انجام گرفته است، گزارش شده است که موش‌های پارکینسونی در گروهی که سلول‌های استرومایی مغز استخوان دریافت کرده بودند، نسبت به گروهی که تنها محیط کشت به جسم مخطط آن‌ها تزریق شده بود، به‌لحاظ رفتاری بهبود یافته‌اند (۳)؛ بنابراین، از آنجایی که سیستم عصبی مرکزی دارای ظرفیت بسیار محدودی برای بازسازی مجدد نورون‌های صدمه‌دیده خود دارد و نیز با توجه به این‌که سلول‌های بنیادی، سلول‌های اولیه غیرتمایز یافته‌ای هستند که دارای خاصیت خودتکثیری بوده و قابلیت تمایز و تبدیل شدن به انواع دیگر سلول‌های بدن از جمله سلول‌های دوپامینرژیک را دارند (۱۶)، به‌نظر می‌رسد پیوند این سلول‌ها می‌تواند به‌عنوان یکی از استراتژی‌های درمانی جدید برای درمان بیماری‌های نورودژنراتیو از جمله بیماری پارکینسون مورد توجه قرار گیرد.

با توجه به وجود عوارض جانبی گزارش‌شده ناشی از مصرف دارو جهت کنترل و درمان بیماری پارکینسون (۱۷) و ازسوی دیگر، آثار مثبت گزارش‌شده درخصوص انجام تمرینات ورزشی (۱۱،۱۸) و استفاده از سلول‌های بنیادی (۳،۱۴،۱۹) به‌طور جداگانه به‌منظور کاهش علائم این بیماری و نیز جلوگیری از ایجاد تومور ناشی از پیوند سلول (۲۰)، این فرضیه مطرح می‌شود که انجام تمرین هوازی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان می‌تواند اثر تعاملی مضاعفی بر بهبود و کنترل بیماری پارکینسون داشته باشد؛ لذا پژوهش حاضر درصدد پاسخ به این سؤال است که آیا هشت هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول می‌تواند اثر معناداری بر سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و دوپامین جسم مخطط موش‌های مدل پارکینسون داشته باشد و به‌عنوان یک راهکار غیردارویی جدید مورد توجه قرار گیرد یا خیر؟

روش پژوهش

آزمودنی‌های پژوهش، ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن هفت هفته و وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم بودند که از مرکز انستیتو پاستور تهیه شدند. حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و به‌منظور سازگاری با محیط جدید، به‌مدت یک هفته و به‌صورت گروه‌های چهارتایی در قفسه‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و از غذای ساخت شرکت به‌پرور، به‌صورت پلت و با دسترسی آزاد استفاده نمودند. آب موردنیاز نیز به‌صورت آزادانه و از طریق بطری-

های ویژه در دسترس آن‌ها قرار داده شد. پس از یک هفته آشنایی با نوارگردان، حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی شامل: کنترل سالم، کنترل پارکینسون، پارکینسون - سلول‌درمانی، پارکینسون - تمرین و پارکینسون - سلول‌درمانی + تمرین تقسیم شدند. قابل ذکر است که پژوهش حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان مورد تأیید قرار گرفت.

به منظور ایجاد مدل پارکینسونی، تخریب جسم مخطط موش‌ها به غیر از گروه کنترل سالم، با تزریق محلول شش- هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) به صورت استریوتاکسی به داخل جسم مخطط (سمت راست) صورت گرفت. بدین صورت که با استفاده از اطلس واتسون و پاکینوس^۱، مکان مناسب برای عمل استریوتاکسی با مختصات (قدامی - خلفی ۰/۵)، (جانبی یک) و (عمقی ۱/۵) مشخص شد و کانال ۲۷ گیج دندان پزشکی داخل جمجمه موش‌ها قرار گرفت. سپس، از طریق این کانال و با استفاده از سرنگ همیلتون، مقدار پنج میکروگرم شش هیدروکسی دوپامین (با سرعت هر میکرولیتر محلول با سالین در مدت ۳۰ ثانیه) به هر موش تزریق گردید. پس از پایان تزریق، فتر هشت میلی‌لیتری برای جلوگیری از خروج مایع از کانال مورد استفاده قرار گرفت و موش به مدت یک دقیقه ثابت نگه داشته شد. علاوه بر این، جهت بررسی اثر تزریق شش هیدروکسی دوپامین و تأیید این موضوع که آیا با تزریق این ماده، موش‌ها پارکینسونی شده‌اند یا خیر، سه هفته پس از تزریق (شکل شماره یک)، از تست چرخشی آپومورفین استفاده گردید (۹،۱۰).

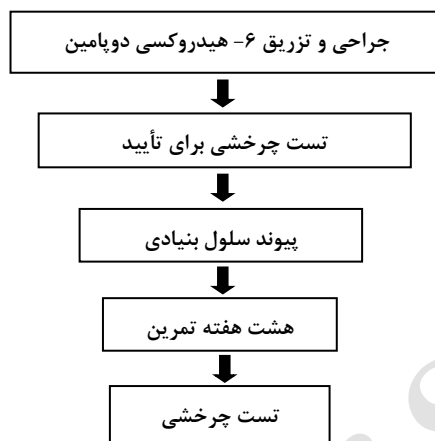
برای تست چرخشی آپومورفین، ابتدا، هر موش به مدت ۱۵ دقیقه جهت آشنایی با محیط انجام این تست، در یک استوانه گرد (با ۲۲ سانتی‌متر قطر و ۲۶ سانتی‌متر ارتفاع) قرار گرفت. سپس، مقدار ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، هیدروکلراید آپومورفین محلول در سالین به صورت زیرجلدی تزریق گردید و موش دوباره در داخل استوانه قرار داده شد. تعداد کل چرخش‌های کامل (۳۶۰ درجه) انجام شده در جهت موافق و مخالف سمت آسیب‌دیده جسم مخطط، طی یک دوره ۳۰ دقیقه‌ای با استفاده از نوار ویدئویی ضبط گشت و توسط پژوهشگر شمارش شد. سپس، تعداد چرخش‌های سمت آسیب‌دیده از سمت مخالف تفریق گردید (که بیانگر تعداد چرخش خالص به سمت مخالف می‌باشد). شایان ذکر است که چرخش بیشتر نشان‌دهنده شدت ضایعه از نظر از دست دادن سلول‌های دوپامینرژیک است (۲۱،۲۲). این تست در پایان پروتکل تمرینی نیز تکرار گردید.

برای جداسازی سلول‌های بنیادی مغز استخوان، از موش‌های صحرایی نر ۸-۶ هفته‌ای نژاد ویستار استفاده شد. پس از بیهوشی کامل، استخوان ران و درشت‌نی موش‌ها به دلیل دارا بودن مغز استخوان بیشتر خارج گردید. سپس، مغز استخوان آن‌ها در دور ۱۲۰۰ (rpm) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گشت و سلول‌های جداسازی شده در محیط کشت α -MEM حاوی FBS ۱۰ درصد و آنتی‌بیوتیک پنسیلین + استرپتومایسین یک درصد کشت داده شد. پس از سه پاساژ مکرر، سلول‌های بنیادی مزانشیمی چسبیده به کف فلاسک با تریپسین جدا گشت و با دور ۱۲۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سلول‌های بنیادی مزانشیمال با تکنیک ایمونوسیتوکمیستری با آنتی‌بادی CD71 و CD90 مورد تأیید قرار گرفت. در روز بیست و سوم (شکل شماره یک)، پس از شستشوی سلول‌ها با PBS و پیتاژ کردن در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار، حدود 10^5 سلول در دو میکرولیتر محیط برای هر موش جدا شد. شایان ذکر است که محیط از طریق کانال و با استفاده از سرنگ همیلتون به داخل جسم مخطط موش‌های گروه‌های سلول‌درمانی و سلول‌درمانی + تمرین با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه تزریق گردید (۲۳)، اما به گروه کنترل سالم، تنها محیط کشت به همین طریق تزریق شد.

یک روز پس از پیوند سلول‌های بنیادی به موش‌های پارکینسونی (شکل شماره یک)، برنامه تمرین هوازی با الگوبرداری از پژوهش انجام شده توسط لندرس^۲ و همکاران (۲۰۱۴) که شامل دویدن روی نوارگردان با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت هشت هفته و به شکل پنج روز در هفته و روزانه دو وهله ۱۵ دقیقه‌ای با حداقل یک ساعت استراحت بین آن‌ها بود، انجام شد (۲۲).

پس از پایان پروتکل، سر موش‌ها پس از بیهوشی کامل با استفاده از گیوتین مخصوص از بدن جدا شد و مغز آن‌ها از جمجمه خارج گردید. سپس، جسم مخطط از سایر بخش‌های مغز جدا گشت و در میکروتیوب مربوطه قرار داده شد. همچنین، به منظور منجمد کردن بافت، میکروتیوب در داخل نیتروژن مایع قرار داده شد و پس از خارج کردن، به منظور اندازه‌گیری شاخص مورد نظر، داخل یخچالی با دمای ۷۰- درجه نگهداری شد. برای اندازه‌گیری مقادیر VEGF و DA جسم مخطط نیز از کیت مورد نظر ساخت شرکت کازابیو^۳ چین به روش الایزا استفاده گردید.

-
1. PAA, Pasching, Austria
 2. Landers
 3. Cusabio



شکل ۱- نمای شماتیک مراحل انجام پژوهش

پس از تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون کولموگروف - اسمیرنوف، از آزمون‌های پارامتریک استفاده گردید. برای بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌های تجربی و کنترل نیز آزمون آنالیز واریانس دوطرفه مورد استفاده قرار گرفت (در صورت مشاهده اختلاف معنادار، آزمون تعقیبی توکی به کار می‌رفت). قابل ذکر است که سطح معناداری تمامی آزمون‌ها ($P \leq 0.05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

جدول شماره یک، میانگین و انحراف استاندارد شاخص‌های اندازه‌گیری شده در پنج گروه مورد مطالعه پس از پیوند سلول‌های بنیادی و هشت هفته تمرین هوازی را نشان می‌دهد. یافته‌ها بیانگر این است که بین تعداد چرخش‌های مشاهده شده در پنج گروه، اختلاف معناداری وجود دارد ($P \leq 0.05$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز حاکی از وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های تجربی پارکینسونی (سلول درمانی، تمرین و سلول درمانی + تمرین) با گروه کنترل سالم و پارکینسون می-باشد. در واقع، پیوند سلول بنیادی، انجام هشت هفته تمرین و به خصوص ترکیب سلول درمانی + تمرین، سبب کاهش معنادار تعداد چرخش موش‌ها پس از تزریق آپومورفین شده است که دلالت بر بهبود رفتاری موش‌های پارکینسونی دارد. از سوی دیگر، مقادیر VEGF و DA جسم مختلط نیز در

گروه‌های سلول‌درمانی، تمرین و به‌ویژه سلول‌درمانی + تمرین، درمقایسه با گروه کنترل پارکینسون افزایش معناداری یافته است ($P \leq 0.05$).

جدول ۱- نتایج آزمون تست چرخشی آپومورفین و مقادیر VEGF و DA جسم مخطط گروه‌های مورد مطالعه در پایان پروتکل (میانگین \pm انحراف استاندارد)

گروه	تعداد	تست چرخشی آپومورفین (تعداد چرخش)	VEGF (پیکوگرم در میلی لیتر)	DA (نانوگرم در میلی لیتر)
کنترل سالم	۷	۹/۵۷ \pm ۳/۵	۱۰/۲۵ \pm ۲/۳۸	۱/۵۸ \pm ۰/۲۴ Φ
کنترل پارکینسونی	۷	۲۱۶/۱۴ \pm ۲۷/۹*	۷/۹۵ \pm ۱/۸۲	۰/۶۴ \pm ۰/۰۹*
سلول‌درمانی	۷	۱۸۶/۸۵ \pm ۷/۰۸* Φ	۲۴/۲۰ \pm ۲/۳۰* Φ	۲/۵۹ \pm ۰/۷۱* Φ
تمرین	۷	۱۷۰/۱۴ \pm ۱۱/۰۵* Φ	۲۷/۱۳ \pm ۲/۷۶* Φ	۲/۲۵ \pm ۰/۴۱ Φ
سلول‌درمانی + تمرین	۷	۱۴۹/۰۰ \pm ۲/۱۸* Φ	۴۸/۶۷ \pm ۹/۵۲* Φ	۲/۶۹ \pm ۰/۷۴* Φ

(*): نشانه اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل سالم (Φ): نشانه اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل پارکینسون

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به آثار مثبت گزارش‌شده در زمینه اثر ورزش و پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان به‌منظور کنترل و درمان پارکینسون در برخی از مطالعات (۲۶-۲۴، ۳)، پژوهش حاضر با این فرضیه که شاید هشت هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول بنیادی مغز استخوان بتواند آثار درمانی مضاعفی در بیماری پارکینسون داشته باشد، در نمونه‌های حیوانی انجام گردید. نتایج تست چرخشی آپومورفین نشان داد که تعداد چرخش انجام‌شده در گروه‌های سلول، تمرین و به‌ویژه سلول + تمرین نسبت به گروه کنترل پارکینسون کاهش معناداری یافته است. همچنین، مقادیر اندازه‌گیری‌شده VEGF و DA جسم مخطط نیز حاکی از افزایش معنادار این دو شاخص در گروه‌های تجربی درمقایسه با گروه کنترل پارکینسون بود که این افزایش در گروه سلول + تمرین از دو گروه تجربی دیگر بالاتر بود. با مقایسه این سه گروه تجربی می‌توان دریافت که اثربخشی پیوند سلول بنیادی و به‌دنبال آن انجام تمرین، بیشتر از اعمال هر یک از این متغیرها به‌طور جداگانه است که با مقایسه دو گروه سلول و تمرین، نقش تمرین در کسب چنین نتیجه‌ای بسیار بااهمیت‌تر می‌باشد.

درخصوص پیوند سلول‌های بنیادی در درمان و کنترل بیماری پارکینسون، کاشانی و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی رفتاری موش‌های پارکینسونی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان به جسم مخطط دریافتند که موش‌های پارکینسونی که سلول دریافت کرده بودند نسبت به گروهی که فقط محیط کشت به جسم مخطط آن‌ها تزریق شده بود، کاهش معنادارتری را در تست چرخشی

نشان می‌دهند (۳) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌سو می‌باشد. این پژوهشگران اذعان داشته‌اند که احتمالاً، سلول‌های بنیادی تزریق‌شده در محل ضایعه، تحت تأثیر محیط اطراف آن‌ها، فاکتورهای رشد از جمله $BDNF^1$ و NGF^2 و نیز سایتوکین‌ها را ترشح می‌کند که با مکانیسم‌های اتوکراین و پاراکراین بر خود و سلول‌های میزبان اثر می‌گذارد و نه تنها میزان بقا و تمایز سلولی را افزایش می‌دهد، بلکه منجر به عصب‌دهی مجدد و برقراری ارتباط عصبی نیز می‌شود (۳).

مبانی نظری بیان می‌کنند که فاکتورهای نوروتروفیک ترشح‌شده از سلول‌های بنیادی پیوندی باعث می‌شوند که یا خود این سلول‌ها به سلول‌های عصبی تمایز یابند و جایگزین سلول‌های آسیب‌دیده شوند و یا سلول‌های اطراف تحت تأثیر این فاکتورها به سلول‌های عصبی تمایز یابند (۲۷،۲۸)؛ بنابراین، این موضوع می‌تواند یکی از دلایل احتمالی کسب بهبودی در پژوهش حاضر باشد. در تأیید این موضوع، توماس^۳ و همکاران (۲۰۱۱) طی پژوهشی که در زمینه پیوند سلول بنیادی در بیماران پارکینسونی انجام دادند بیان کردند که سلول‌های بنیادی مغز استخوان، منبع ایده‌آلی از سلول‌ها هستند که قابلیت تبدیل شدن به سلول‌های دوپامینرژیک را دارند (که کاربرد آن به لحاظ اخلاقی قابل قبول بوده و نیز به آسانی استخراج و پیوند زده می‌شوند). آن‌ها نیز در توافق با پژوهش حاضر، افزایش سطوح DA جسم مخطط را پس از پیوند سلول‌های بنیادی گزارش کرده‌اند (۲۹). وال^۴ و همکاران (۲۰۰۸) نیز در یک مقاله مروری اذعان داشتند که انواع مختلفی از سلول‌های بنیادی و مکانیسم‌های مربوطه وجود دارد که به وسیله آن‌ها می‌توان بازسازی و یا فعال کردن عوامل رشدی مختلف با استفاده از سلول‌های بنیادی در بافت یا دستگاه مربوطه را تحریک کرد (۲۷).

در خصوص ارتباط تمرین با سلول بنیادی، برخی از نشریات علمی شواهدی را ارائه نموده‌اند که بیان می‌کنند تمرین و فعالیت جسمانی سبب به‌فعالیت‌درآوردن، تحرک و تمایز سلول‌های بنیادی مختلف و تبدیل آن‌ها به سلول‌های دوپامینرژیک می‌شوند (۲۷). نقش مثبت تمرین و پیوند سلول بنیادی به‌طور جداگانه در برخی از مطالعات گزارش شده است، اما پژوهشگران (در پژوهش حاضر) به پژوهشی که اثر تعاملی تمرین را پس از پیوند سلول بنیادی در موش‌های پارکینسونی مورد بررسی قرار داده باشد دست نیافتند. در این راستا، الجراح و همکاران (۲۰۱۰) اثر تمرین استقامتی بر میزان آنژیوژنز در مغز موش‌های پارکینسونی را مورد بررسی قرار دادند. در این

1. Brain-Derived Neurotrophic Factor
2. Nerve Growth Factor
3. Thomas
4. Wahl

پژوهش، گروه‌های تمرینی با سرعت ۱۸ متر در دقیقه و شیب صفر درجه بر روی تردمیل به مدت ۴۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته و برای چهار هفته به تمرین پرداختند. آن‌ها دریافتند که چهار هفته تمرین به‌طور معناداری مقادیر VEGF و به‌دنبال آن، آنژیوژنز را در جسم مخطط افزایش می‌دهد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌سو می‌باشد (۲۵).

علاوه‌براین، نورشاهی و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که عوامل مختلفی باعث عروقی‌شدن عضله اسکلتی و عضله قلبی (آنژیوژنز) در هنگام فعالیت ورزشی می‌شوند. مهم‌ترین این عوامل هایپوکسی، نیروهای همودینامیکی، متابولیت‌ها، اتساع‌کننده‌های عروق، انقباض عضلانی، برخی از سایتوکاین‌ها و انواع کشش‌ها هستند (۳۰). با وجود پژوهش‌های وسیعی که صورت گرفته است، تاکنون مشخص نمی‌باشد که هرکدام از این عوامل چه سهمی را در فرایند عروقی‌شدن دارند (۳۱، ۳۰). با توجه به مبانی موجود، در پژوهش حاضر این احتمال وجود دارد که افزایش VEGF از طریق افزایش سلول‌های دوپامینرژیک، به‌طور قابل توجهی سبب محافظت از سلول‌های عصبی شده باشد. هم‌سو با این مکانیزم مطرح‌شده، کدت^۱ و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که افزایش سطوح VEGF در مناطقی از مغز که در اثر بیماری پارکینسون بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد، اثر درمانی بالقوه‌ای دارد (۳۲). یافته‌های تاجیری^۲ و همکاران (۲۰۱۰) نیز موافق با نتایج کسب‌شده در پژوهش حاضر است. این پژوهشگران اظهار داشتند که تمرین از طریق افزایش قدرت عضلانی و بهبود سرعت پاسخ به‌دنبال انجام تمرین می‌تواند آثار محافظتی و رشد عصبی در بیماران پارکینسونی داشته باشد (۲۱). قابل ذکر است که در پژوهش حاضر، نقش ورزش بسیار بااهمیت‌تر می‌باشد. در همین راستا، مورای^۳ و همکاران (۲۰۱۴) ادعان داشته‌اند که ورزش می‌تواند یک رویکرد کاملاً منطقی برای توسعه درمان‌های محافظتی و عصبی برای بیماری پارکینسون باشد؛ زیرا، باعث افزایش تولید انرژی، تحریک دفاع آنتی‌اکسیدانی، کاهش التهاب، افزایش رگ‌زایی و استحکام سیناپسی می‌شود و از این طریق می‌تواند سبب ایجاد سازگاری‌های مهم فیزیکی و متعاقب آن درمان اختلالات حرکتی بیماران پارکینسونی گردد (۳۳).

پژوهشگران به‌طور گسترده‌ای به توافق در زمینه اثرات ورزش در مقابل سم شش هیدروکسی دوپامین دست یافته‌اند. در این زمینه، نتایج بیان می‌کنند که ورزش - چه از نوع چرخ دوار و یا تردمیل - در کاهش از دست رفتگی سلول‌های دوپامین مؤثر می‌باشد. این نتایج با سایر پژوهش‌های انجام‌شده در این زمینه هم‌سو می‌باشد (۵). در چند مطالعه کنترل‌شده بالینی، اجرای مستمر برنامه‌های ورزشی

-
1. Cadet
 2. Tajiri
 3. Murray

در افرادی که در مراحل اولیه بیماری پارکینسون بودند، منجر به بهبود فعالیت روزانه، عملکردهای حرکتی و به‌طور کلی، استقلال در عملکرد و رفتار گردید. نشان داده شده است که ورزش هوازی می‌تواند باعث آزادسازی دوپامین در مغز انسان شود (۳۳، ۳۱). به نظر می‌رسد بهبود عصبی و رفتاری حاصل از ورزش در مدل پارکینسونی می‌تواند با بهبود عملکرد و افزایش تعداد میتوکندری در مناطق مختلف مغز ارتباط داشته باشد. پژوهش‌های اخیر، این نقش را برای عوامل نوروتروفیک و سلول‌های گلیا نیز قائل شده‌اند (۳۳، ۲۶).

در پژوهش حاضر، اثر تعاملی مثبت هشت هفته تمرین نوارگردان پس از پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان بر سطوح VEGF و DA جسم مخطط موش‌های پارکینسونی مورد تأیید قرار گرفت که با توجه به نتایج، تمرین در مقایسه با سلول، نقش بیشتری را در بهبود شاخص‌ها ایفا کرده است. با توجه به مکانیسم‌های مطرح‌شده در پژوهش‌های اخیر می‌توان بهبود حاصل‌شده در پژوهش حاضر را (احتمالاً) ناشی از افزایش تعداد میتوکندری و عوامل نوروتروفیک و آنژیوژنز در مغز پس از انجام تمرین و نیز اثر تحریکی تمرین بر سلول‌های بنیادی پیوند شده جهت تبدیل به سلول‌های دوپامینرژیک و از سوی دیگر، بهبود قدرت عضلانی و رفتاری ناشی از تمرین دانست. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد انجام هشت هفته تمرین هوازی نوارگردان و پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان می‌تواند با اثرات تعاملی و هم‌افزایی خود، نقش مهمی را در بهبود و کنترل بیماری پارکینسون در موش‌های مبتلا به این بیماری ایفا نماید.

پیام مقاله: به نظر می‌رسد در آینده با پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان و به دنبال آن انجام تمرینات هوازی، بتوان گام مهمی را در جهت درمان و کنترل بیماری پارکینسون برداشت و از این شیوه به عنوان یک روش درمانی غیردارویی در انسان‌ها بهره برد.

منابع

1. Zigmond M J, Smeyne R J. Exercise: Is it a neuroprotective and if so, how does it work? *Parkinsonism & Related Disorders*. 2014; 20(3): 123-7.
2. Young H E, Hyer L, Black Jr A C, Robinson Jr J S. Treating Parkinson disease with adult stem cells. *J Neurol Disord*. 2013; 1(2): 1-8.
3. Haji Ghasem Kashani M, Ghorbanian M T, Hosseinpour L. Transplantation of deprenyl-induced Tyrosine hydroxylase-positive cells improves 6-OHDA-lesion rat model of Parkinson's disease: Behavioral and immunohistochemical evaluation. *Cell Journal (Yakhteh)*. 2013; 15(1): 55-64.
4. Han SC, Mal SS, Wook S, Tae-WJ, Baek VL, Young PK, et al. Treadmill exercise alleviates short-term memory impairment in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*. 2013; 9(3): 354-61.
5. Anstrom KK, Schallert T, Woodlee MT, Shattuck A, Roberts D. Repetitive vibrissae-elicited forelimb placing before and immediately after unilateral 6-hydroxydopamine improves outcome in a model of Parkinson's disease. *Behavioral Brain Research*. 2007; 179(2): 183-91.
6. Choe M, Koo BS, An GJ, Jeon S. Effects of treadmill exercise on the recovery of dopaminergic neuron loss and muscle atrophy in the 6-OHDA lesioned Parkinson's disease rat model. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2012; 16(5): 305-12.
7. Wang T, Liu Y, Wang X, Yang N, Zhu H, Zuo Ping P. Protective effects of octacosanol on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats via regulation of ProNGF and NGF signaling. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2010; 31(4): 765-74.
8. Chitsaz A, Maracy M, Basiri K, Izadi Boroujeni M, Tanhaei A P, Rahimi M, et al. 25-hydroxyvitamin D and severity of Parkinson's disease. *International Journal of Endocrinology*. 2013; 10(11): 1-4.
9. Fallah-Mohammadi Z, Hajizadeh-Moghaddam A, Aghasi M, Esmaili A H. Neuroprotective effects of voluntary exercise and hydro alcoholic extraction of *Eriobotrya Japonica* on dopamine and tyrosine hydroxylase in the striatum of Parkinsonian rats. *Koomesh*. 2013; 15(1): 31-38. (In Persian).
10. Fallah Mohammadi Z, Mohammadi R, Aslani J. Pretreatment effects of *Eriobotrya Japonica* extraction on malondialdehyde (MDA), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and superoxide dismutase (SOD) levels in Hippocampus of rats with Parkinson's disease induced by 6-Hydroxydopamine following 12 weeks of voluntary exercise. *Journal of Isfahan Medicine Scholar*. 2014; 32(274): 120-30. (In Persian).
11. Al-Jarrah M. Exercise training and rehabilitation of brain in Parkinson's disease. *Clinical Medicine Research*. 2013; 2(2): 11-17.
12. Yasuhara T, Shingo T, Date I. The potential role of vascular endothelial growth factor in the central nervous system. *Rev Neurosci*. 2004; 15(4): 293-307.
13. Yasuhara T, Hara K, Maki M, Matsukawa N, Fujino H, Date I, et al. Lack of exercise, via hind limb suspension, impedes endogenous neurogenesis. *Neuroscience*. 2007; 149(2): 182-91.
14. Haji Ghasem Kashani M, Tiraihi T, Ghorbanian M T, Abrari K. In vitro expression of BDNF, GDNF, NGF, NT3 and NT4/5 genes in selegiline induced bone marrow stromal cells. *Yakhteh Medical Journal*. 2010; 11(4): 400-7.

15. Capitelli C S, Lopes C S, Alves A C, Barbiero J, Oliveira L F, Silva V J, 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.
16. Gibson A S J, Gao G D, McDonagh K, Shen S. Progress on stem cell research towards the treatment of Parkinson's disease. *Stem Cell Research & Therapy*. 2012; 3(11): 1-10.
17. Radak Z, Kumagai Sh, Taylor A W, Naito H, Goto S. Effects of exercise on brain function: Role of free radicals. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007; 32(5): 942-6.
18. Mabandla M V, Russell V A. Voluntary exercise reduces the neurotoxic effects of 6-hydroxydopamine in maternally separated rats. *Behavioral Brain Research*. 2010; 211(1): 16-22.
19. Valero MC, Heather DH, Jianming L, Kai Z, Marni DB. Eccentric exercise facilitates mesenchymal stem cell appearance in skeletal muscle. *Plos One*. 2012; 7(1): 1-11.
20. Fathi F, Altiraihi T, Mowla S J, Movahedin M. Transplantation of retinoic acid treated murine embryonic stem cells & behavioral deficit in Parkinsonian rats. *Indian J Med Res*. 2010; 131(5): 536-44.
21. Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, Kondo A, Yuan W, Kadota T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. *Brain Research*. 2010; 13(10): 200-7.
22. Landers M R, Kinney J W, Breukelen F V. Forced exercise before or after induction of 6-OHDA-mediated nigrostriatal insult does not mitigate behavioral asymmetry in a hemiparkinsonian rat model. *Brain Research*. 2014; 1543(3) 263-70.
23. Nezhadi A, Ghazi F, Bakhtiari M, Ataiy Z, Mehdizadeh M. Differentiation of bone marrow stromal cells in dopaminergic cells in rat model of Parkinson's disease. *JAUMS*. 2011; 8(4): 235-43. (In Persian).
24. Allbutt H N, Henderson J M. Use of the narrow beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience Methods*. 2007; 159(1): 195-202.
25. Al-Jarrah M, Jamous M, Al-Zailaey K O, Bweir S. Endurance exercise training promotes angiogenesis in the brain of chronic/ progressive mouse model of Parkinson's disease. *Neuro Rehabilitation*. 2010; 26(4): 369-73.
26. Adami R, Scesa G, Bottai D. Stem cell transplantation in neurological diseases: Improving effectiveness in animal odels. *Cell and Developmental Biology*. 2014; 2(17): 1-28.
27. Wahl P, Brixius K, Bloch W. Exercise-induced stem cell activation and its implication for cardiovascular and skeletal muscle regeneration. *Minimally Invasive Theraoy*. 2008; 17(2): 91-99.
28. Polgar S, Karimi L, Morris M E. Stem cell therapy for Parkinson's disease: Are double-blind randomized control trials the best design for quantifying therapy outcomes? *J Neurol Neurophysiol*. 2013; 4(5): 1-6.

29. Thomas M G, Stone L, Evill L, Ong S, Ziman M, Hool L. Bone marrow stromal cells as replacement cells for Parkinson's disease: Generation of an anatomical but not functional neuronal phenotype. *Transl Res.* 2011; 2(3): 45-53.
30. Nourshahi M, Taheri Chadorneshin H, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *Quarterly of the Horizon of Medical Sciences.* 2013; 18(5): 286-96.
31. Villar-Cheda B, Sousa-Ribeiro D, Rodriguez-Pallares J, Rodriguez-Perez A I, Guerra M J, Labandeira-Garcia J L. Aging and sedentarism decrease vascularization and VEGF levels in the rat substantia nigra. Implications for Parkinson's disease. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 2008; 29(2): 230-4.
32. Cadet J, Last R, Osticv K, Rezedborski P, Lewis V J. Long term behavioral and biochemical effect of 6-OHDA injection in rat caudate putamen. *Brain Res Bull.* 1991; 26(2): 707-13.
33. Murray D K, Sacheli M A, Eng J J, Stoessl A J. The effects of exercise on cognition in Parkinson's disease: A systematic review. *Translational Neurodegeneration.* 2014; 3(5): 1-13.

استناد دهی

هاشم ورزی سیدعبداله، حیدریان پور علی، فلاح محمدی ضیا، پورقاسم محسن. اثر هشت هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول های بنیادی مغز استخوان بر سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و دوپامین جسم مخطط موش های مدل پارکینسون. *فیزیولوژی ورزشی.* زمستان ۱۳۹۵؛ ۸(۳۲): ۱۴-۱۰۱.

Hashemvarzi. S. A, Heidarianpour. A, Fallah Mohammadi. Z, Pourghasem. M, The Effect of 8 Weeks Aerobic Training After Bone Marrow Stem Cells Transplantation on Striatum VEGF and DA Levels in Parkinson Rats Model. *Sport Physiology.* Winter 2017; 8 (32): 101-14.

The Effect of 8 Weeks of Aerobic Training after Bone Marrow Stem Cell Transplantation on Striatum VEGF and Dopamine Levels in Parkinson Rat Model

S. A. Hashemvarzi¹, A. Heidarianpour², Z. Fallah Mohammadi³,
M. Pourghasem⁴

1. Ph.D Student of Exercise Physiology, Bu-Ali Sina University of Hamedan
2. Associate Professor of Exercise Physiology, Bu-Ali Sina University of Hamedan*
3. Associate Professor of Exercise Physiology, University of Mazandaran
4. Professor of Cellular and Molecular Research Center, Babol University of Medical Sciences

Received: 2015/09/14

Accepted: 2016/02/03

Abstract

Stem cells transplantation and exercise training are including of Non-drug treatment option that have been considered for the treatment of Parkinson's disease. The purpose of this study was to investigate the effect of 8 weeks aerobic training on striatum VEGF and DA levels in parkinsonian rats after transplantation of bone marrow stem cells. 35 male rats with the age of 7 weeks and weight 250-300 gr, were divided randomly into healthy control group and parkinsonian groups included of control, cell treatment, Exercise and cell treatment + Exercise. To create a model of Parkinson's, the striatum was destroyed by 6-hydroxy-dopamine injection into the striatum through stereotaxic apparatus and then was used apomorphine rotational test for confirm it. For isolation of bone marrow stem cells, bone marrow of femur and tibia of male rats 6-8 weeks were used. After cultivation, approximately 105 cells in 2 microliter of medium were injected through the channel into the striatum of cell recipient groups. Exercise was included 8 weeks of running on the treadmill with a speed of 15 meters per minute in 2 bouts for 5 days in per week. VEGF and DA measured by ELISA method. The results show that, striatum VEGF and DA levels increased significantly in Exercise, Stem cells and specially Stem cells + Exercise groups related to Parkinson group ($P \leq 0.05$). Generally, the results of this study approved the positive effect of 8 weeks treadmill exercise in parkinsonian rats after bone marrow stem cell transplantation which can be considered as a non-drug therapeutic manner in Parkinson's disease.

Keywords: Treadmill Exercise, Bone Marrow Stem Cell, VEGF, DA, Parkinson

* Corresponding Author

Email: Heydarian317@gmail.com