ORIGINAL ARTICLE

Effect of Aerobic Training, Vitamin D, and Injection of Adipose Tissue-Derived Stem Cells on Some Apoptotic and Anti-Apoptotic Indices of Beta-Pancreatic Cells in Diabetic Rats

Seyed Hosein Babaee Sadati[1],
Abdolreza Jafari Chashmi[2],
Seyed Abdollah Hashemvarzi[2]

[1] PhD Student in Sport Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

(Received June 7, 2020 ; Accepted December 6, 2020)

Abstract

Background and purpose: Apoptosis is a protective cellular process that plays an important role in the development and homeostasis of natural tissues as well as disease-causing factors. Current study aimed at determining the effect of aerobic training, Vitamin D, and injection of adipose tissue-derived stem cells (ADSCs) on some apoptotic and anti-apoptotic indices of beta-pancreatic cells of streptozotocin (STZ) induced diabetic rats.

Materials and methods: In an experimental study, 80rats (220-240g, 8 weeks old) were randomly divided into 10 groups: Control, Sham, diabetics, ADSCs, exercise, Vitamin D, ADSCs +exercise, ADSCs +Vitamin D, exercise+ Vitamin D, and ADSCs +exercise+ Vitamin D. The exercise protocol included treadmill running at 60-70% VO_2max for 5 days a week/ 6 weeks. In ADSCs receiver groups, human ADSCs ($1.5*10^6$ PBS/5mL) were injected to the tail vein. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (60mg/kg) dissolved in citrate buffer, pH 4.5. Bax and Bcl2 values of beta pancreatic cells were measured following homogenization and centrifugation using ELISA. Data analysis was done applying one way analysis of variance and Tukey test.

Results: Significant differences were seen between the levels of Bax and Bcl2a well as the ratio of Bcl-2/Bax between diabetic group and control group and diabetic group and other groups (P=0.001). But, there were no significant differences between other groups (P=0.001).

Conclusion: It seems that all interventions, especially their combination, can have an increasing effect on Bcl2 values and decrease Bax values and the ratio of beta-pancreatic cells. So, they can be used as a Bax pharmacological method to reduce hyperglycemia-induced apoptosis on beta cells.

Keywords: progressive aerobic training, Adipose-derived stem cells, beta pancreatic cells, streptozotocin, Vitamin D

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (194): 11-22 (Persian).

* **Corresponding Author: Seyed Hosein Babaee Sadati -** Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
(E-mail: zfotoukian@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 194 اسفند سال 1399 (22-11)

تأثیر تمرین هوازی و مصرف ویتامین D همراه با تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بر شاخص های آپوپتوزی و ضد آپوپتوزی سلول های بتای پانکراس رت های دیابتی

سید حسین بابایی ساداتی[1]
عبدالرضا جعفری چاشمی[2]
سید عبدالله هاشم‌ورزی[2]

چکیده

سابقه و هدف: آپوپتوز فرآیند سلولی محافظت‌کننده است که نقش مهمی در توسعه و هومئوستاز بافت طبیعی و نیز پیدایش بیماری‌ها دارد. مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر تمرین هوازی ومصرف ویتامینD به همراه تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بر برخی از شاخص‌های آپوپتوزی وضدآپوپتوزی سلول‌های بتای پانکراس رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین(STZ) انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی،80 سر رت(با وزن 240-220گرم وسن 8 هفته) به 10گروه کنترل، شم، دیابت، تمرین، سلول، ویتامین، تمرین و سلول، تمرین و ویتامین، سلول و ویتامین، تمرین و سلول و ویتامین تقسیم شدند. گروه تمرینی 6 هفته و هفته‌ای پنج روز با شدت 70-60 درصد VO_2max به تمرین روی نوارگردان پرداختند. در گروه سلول به سیاهرگ دم موش‌های دیابتی، به کمک سرنگ انسولینی PBS/5ml حاوی $1/5\times10^6$عدد سلول استخراج شده از بافت چربی انسانی تزریق شد. برای ایجاد مدل دیابت، STZ با دوز 60mg/kg درترکیب با بافرسیترات و PH 4/5 درون صفاق تزریق شد. مقادیر Bax و Bcl2 سلول‌های بتای پانکراس، بعد از هموژنیزه وسانتریفیوژ به‌وسیله کیت آزمایشگاهی با روش الایزا اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی درسطح $P\leq0/05$ آنالیز شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین سطوح Bax و Bcl2 و نسبت Bax/Bcl2 اختلاف معنی‌داری وجود دارد($P=0/001$). براساس نتایج آزمون تعقیبی توکی این اختلاف بین گروه دیابت با کنترل و دیابت با تمامی گروه‌ها بوده ولی بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دیده نشد($P=0/001$).

استنتاج: به نظر می‌رسد هر کدام از مداخلات، مخصوصاترکیب آن‌ها باعث تاثیرافزایشی بر روی مقادیرBcl2 و کاهش مقادیر Bax و نسبت Bcl-2/Bax سلول‌های بتای پانکراس داشته باشد و می‌تواند به‌عنوان یک روش غیردارویی برای کاهش عوارض آپوپتوز ناشی از دیابت استفاده شود.

واژه های کلیدی: تمرین هوازی فزاینده، سلول بنیادی بافت چربی ، سلول های بتای پانکراس،استرپتوزوتوسین، ویتامین D

مقدمه

بیماری قند خون یا همان دیابت، یکاختلال متابولیکی می باشد که به وسیله افزایش سطح گلوکز خون (هیپرگلیسمی) به دنبال نقص در ترشح انسولین، عملکرد انسولین، یا هر دو مشخص می‌گردد. این بیماری

مولف مسئول: سید حسین بابایی ساداتی - ساری: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری E-mail: syedhoseinbabaeesadati@gmail.com
1. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی،گرایش بیوشیمی و متابولیسم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ایران
2. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1399/3/18 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/3/25 تاریخ تصویب : 1399/9/16

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

با اختلالات غدد درون ریز و عوارض متابولیکی حاصل از آن همراه است(1). سلول‌های بتای بالغ که در جزایر لانگرهانس پانکراس قرار دارند مسئول ترشح انسولین هستند(۳،۲). اختلال در گیرنده‌های بتای انسولین یا گلوکزی روی غشای سلول و یا به عبارتی افزایش مقاومت به انسولین، مشکل اصلی بیماران دیابتی نوع دو می‌باشد(4). همچنین در دیابت نوع دو، کاهش جرم سلولی سلول‌های بتا، منجر به پدیده آپوپتوتیک ودر نهایت مرگ سلول‌های بتای پانکراس را خواهد شد(5). بعضی از محققین نیز معتقدند که واکنش‌های ایمنی و التهابی در دیابت نوع دو در درازمدت باعث ناهنجاری‌هایی از قبیل نوروپاتی، نفروپاتی، رتینوپاتی و بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند(6). اما مکانیسم تخریب سلول‌های بتا در دیابت نوع یک، نتیجه بیماری، خودایمنی و خود التهابی می‌باشد(5). از آن‌جایی‌که حفظ توده سلول‌های بتای پانکراس، از تعادل بین نئوژنز، تکثیر و آپوپتوز ناشی می‌شود، آپوپتوز می‌تواند یک فرآیند سلولی محافظت کننده برای تکامل و ترمیم بافت‌ها باشد. زیرا هرگونه اختلال در روند آپوپتوز، باعث کاهش یا افزایش نامتعارف مرگ سلولی می‌شود(9-7). رویدادهای مولکولی که منجر به فعالسازی و اجرای برنامه آپوپتوتیکی می‌شوند، اغلب به واسطه تعادل بین پروتئین‌های پیش و ضدآپوپتوزی Baxو Bcl-2 می‌باشد که به عنوان پروتئین‌های کلیدی در غشای میتوکندری درالقا، شکل گیری، تنظیم و مهار آپوپتوز میتوکندریایی سلول‌های پانکراس نقش دارند(۱۱،۱۰). به‌طور اختصاصی‌تر پروتئین‌های Bcl2 موجود در دیواره میتوکندری‌ها به واسطه جلوگیری از رهاشدن سیتوکروم c ویا با اتصال به Apaf-1مانع ازتشکیل آپوپتوز می‌شود. جابه‌جایی پروتئین Bax به طرف میتوکندری و جاسازی آن در داخل غشای بیرونی، سبب رهایش سایر عوامل آپوپتوزی (مانند سیتوکروم c) از فضای بین غشایی میتوکندری شده و در نهایت پیام‌های آپوپتوزی در فعال‌سازی کاسپازهای اثرکننده متداول از جمله کاسپاز -3 همگرا شده و باعث تخریب احتمالی سلول می‌گردند(10).

مرگ سلول‌های بتای پانکراس که در نتیجه افزایش مقادیر پروتئین‌های پیش آپوپتوزی Bax ایجاد می‌شود را می‌توان با اتخاذ تدابیرگسترده‌ای به صورت‌های مختلفی درمان یا پیشگیری کرد که از آن جمله استفاده از روش سلول درمانی می‌باشد و شامل خود سلول‌های بتا، سلول‌های تمایز یافته (سلول‌های کبد، روده، طحال و...) و سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی است. همچنین فعالیت‌های ورزشی و ویتامین D نیز می‌توانند در این زمینه مورد استفاده قرار گیرند(۱۳،۱۲).

امروزه از سلول‌های بنیادی (Stem cell) برای جبران سلول‌های از دست رفته استفاده می‌شود. زیرا به‌عنوان یک روش برای جلوگیری ازایجاد آپوپتوز در بافت‌های مختلف در بین محققین رواج دارد(14). اما در این میان، سلول درمانی و استفاده از سلول‌ها، به‌ویژه سلول‌های بنیادی برای ترمیم بافت‌های از دست رفته، نتایج مفیدی را در بر داشته است. به‌عنوان مثال در انسان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی (Adipose tissue-derived Stem Cells)، رشد سریع‌تری نسبت به سلول‌های بنیادی خون بندناف و استخوان دارند، همچنین توانایی تکثیری سلول‌های خون بندناف، نسبت به سلول‌های مغز استخوان بیش‌تر است(۱۶،۱۵). مهم‌ترین امتیاز سلول‌های بنیادی بافت چربی این است که آن‌ها را می‌توان به راحتی از بیماران به دست آورد و همچنین به سادگی کشت داد. تکثیر سریع، حفظ خصوصیات چند توانی به مدت طولانی و بعد از چندین پاساژ، نشان می‌دهد که این سلول‌ها می‌توانندانتخاب مناسبی برای اهداف درمانی باشند(14). زیرا سلول‌های بنیادی بعد از آماده شدن، در محل ضایعه از طریق داخل وریدی تزریق می‌شوند(14). بعد از تزریق، این سلول‌ها می‌توانند به محل بافت مهاجرت کرده و در محل ضایعه تجمع پیدا کنند(17). این سلول‌ها موجب ایجاد سلول‌های جدید و ایجاد رگ‌های تازه و در کل، موجب بهبود عملکرد می‌شوند(15). روش دیگر برای درمان و پیشگیری، انجام منظم فعالیت ورزشی است. زیرا براساس مطالعات فعالیت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

ورزشی به عنوان یک درمان غیر دارویی نقش بسزایی در تنظیم و کاهش سیتوکین التهابی مرتبط با عملکرد سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین، ایفا می‌کند(۱۹،۱۸). همچنین تمرینات هوازی به‌عنوان یک روش درمانی مناسب، سطوح حامل‌های گلوکز در عضلات اسکلتی و همچنین سطوح سنتز گلیکوژن عضلات و هگزوکیناز را افزایش داده و باعث پیشرفت جذب گلوکز می‌شود و فسفوریلزه شدن را در پاسخ به تحریک انسولین و همچنین مقاومت به انسولین را بهبود و حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد و در پیشگیری از تخریب سلول‌های بتای پانکراس مؤثر می‌باشد. در نتیجه حجم و توده سلول‌های بتا از طریق فرایند هایپرپلازی افزایش می یابد و این فرایند ناشی از افزایش و تکثیر سلول‌های بتای پانکراس و کاهش آپوپتوز سلولی می‌باشد (20). روش دیگری که امروزه محققان برای درمان و پیشگیری ازآن استفاده می‌کنند، تجویز ویتامین D است. چرا که تحقیقات نشان داده است ویتامین D به‌طور مستقیم می‌تواند بر عملکرد انسولین به واسطه تحریک بیان گیرنده‌های انسولین و تنظیم فرایندهای درون سلولی میانجی شده از انسولین، از طریق تنظیم ذخیره کلسیم و افزایش آن بر روی سلول‌های بتای پانکراس، اثرگذار باشد. همچنین گزارش شده که 1و25 هیدروکسی ویتامین D می‌تواند با اتصال به گیرنده هسته‌ای موجود بر ژن سنتزکننده رسپتورهای غشایی انسولین، سبب افزایش سنتز این رسپتورها و در نتیجه حضور بیش‌تر ناقل‌های وابسته به انسولین در سطح سلول شود. کمبود ویتامین D موجب اختلال در ترشح انسولین، کاهش فعالیت GLUT4 و افزایش مقاومت به انسولین می‌گردد(21).

با توجه به این‌که اکثر تحقیقات انجام شده به اثر جداگانه ورزش وسلول بنیادی و ویتامین D پرداخته شده و اثرتعاملی مصرف ویتامین D و تمرینات هوازی به همراه تزریق درون وریدی سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (STZ:Streptozotocin) بر سطوح Bax و Bcl-2 سلول بتای پانکراس توسط محقق مشاهده نشده است، پژوهش حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که آیا این روش درمانی می‌تواند چشم‌انداز روشن‌تری در درمان آپوپتوز حاصل از بیماری دیابت در سلول‌های بتای پانکراس ایجاد کند یا خیر.

مواد و روش ها

در پژوهش حاضر، با تصویب کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی با شناسه اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1398.206 و با رعایت استانداردهای اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی، 80 سر رت‌های نر بالغ 8 هفته‌ای نژاد ویستار با وزن تقریبی 220-240 گرم تهیه شد. رت‌ها توسط محقق در آزمایشگاه جوندگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به مدت یک هفته به منظور سازگاری با محیط نگهداری شدند. این حیوانات در 9 هفتگی پس از آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان (ساخت ایران) به‌طور تصادفی به 10 گروه کنترل، دیابت، شم(جهت کنترل اثر استرس ناشی از تزریق)، سلول بنیادی، تمرین، ویتامین، سلول بنیادی+تمرین، سلول بنیادی+ویتامین، تمرین+ویتامین، سلول بنیادی+تمرین+ویتامین تقسیم شدند. جهت تطابق با محیط جدید، حیوانات به صورت گروه‌های 4 سر رت در قفس پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای 20تا 25 درجه سانتی‌گراد درشرایط 12 ساعت روشنایی و12 ساعت تاریکی با رطوبت نسبی 55-45 درصد نگهداری شدند. جهت القای دیابت در موش‌ها، از محلول استرپتوزوسین (ساخت کشور چین) با دوز 60 میلی‌گرم در کیلوگرم به‌صورت تزریق درون صفاقی (Intraperitoneal:IP) به حیوانات استفاده شد. 72 ساعت بعداز القای دیابت، از دم حیوان خون‌گیری شد. میزان قندخون با دستگاه گلوکومتر (Bionime مدل Gm110 ساخت سوئیس) اندازه‌گیری شد. حیوانات با قندخون ناشتا بیش‌تر از 250 mg/dl دیابتی تلقی شدند. ویتامین D_3 از شرکت شیمیایی و دارویی کایمن (آلمان) تهیه شد. برای تهیه

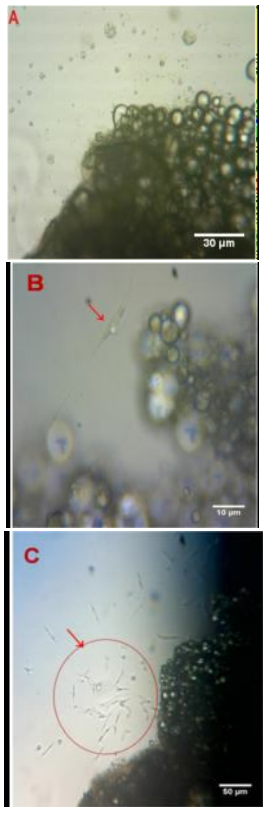
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

مکمل، 100 میکروگرم کلسیتریول در یک میلی‌لیتر از حلال پروپیلن گلیکولتر کیب و سپس در سالین 9 درصد حل شد. ویتامین D3 با دوز یک میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن برای دو هفته اول هفته ای دوبار و چهار هفته آخر هفته‌ای یک‌بار، در مجموع هشت مرحله، برای هر رت گروه دریافت‌کننده مکمل به صورت صفاقی تزریق شد.

استخراج و کشت سلول های بنیادی

برای تهیه سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، قطعات چربی از ناحیه اطراف شکم بیماران (30 تا40 سال) مراجعه‌کننده به بخش جراحی جهت عمل لیپوساکشن گرفته شد. بافت مورد نظر بعد از عمل لیپوساکشن درون محفظه استریل در دمای محیط به آزمایشگاه و به پتری دیش استریلی که بر روی یخ قرار داشت منتقل شده و به آرامی و با استفاده از قیچی و تیغ بیستوری به قطعات ریز به اندازه تقریبی 1 تا 2 میلی‌متر مکعب تبدیل شد و جهت زدودن سلول‌های خونی و قطعات بافتی دیگر، چندین مرتبه توسط PBS شستشو داده شد و سپس این قطعات، به فالکون حاوی آنزیم Trypsin–EDTA با غلظت 25 درصد منتقل شدند.

ظرف حاوی قطعات ریز چربی همراه با آنزیم Trypsin–EDTA و در دمای 37 درجه سانتی گراد و 5 درصد دی‌اکسیدکربن به مدت حداقل 60 دقیقه به دستگاه انکوباتور منتقل شد. پس از طی زمان لازم برای هضم بافت، برای مهار فعالیت آنزیم هضم‌کننده، به میزان دو برابر حجم آنزیم، محیط کشت DMEM حاوی FBS افزوده شد. پس از مهار فعالیت آنزیم، فالکون حاوی نمونه، به مدت 5 دقیقه با دور 2000 rpm سانتریفیوژ شد. پس از اتمام سانتریفیوژ سطح رویی فالکون جدا و دور ریخته شده و سطح‌زیری آن که فاز مایع می‌باشد، به فلاسک کشت انتقال داده شد و محیط کشت حاوی 10 درصد FBS و یک آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین - استرپتومایسین) به فلاسک کشت افزوده شد. سلول‌های درون انکوباتور در شرایط دمای 37 درجه سانتی گراد و 5 درصد دی‌اکسیدکربن کشت داده شدند و محیط کشت سلول‌ها با فواصل زمانی دو روز یک‌بار تعویض شد. زمانی که تراکم سلول به میزان 80 حجم پلاسکو رسید با استفاده از آنزیم Trypsin–EDTA سلول‌های چسبیده به کف ظرف جدا شدند و به نسبت 1 به3 در محیط کشت حاوی FBS رقیق گردیدند. سپس با توجه به تعداد سلول‌های جدا شده، آن‌ها به فلاسک‌های کشت جدید با محیط کشت حاوی 10 درصد FBS و با 1 درصد آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین - استرپتومایسین) انتقال داده شدند و مجدداً به داخل انکوباتور با شرایط دمای 37 درجه سانتی‌گراد و 5 درصد دی‌اکسیدکربن باز گردانده شدند. اولین مشاهدات ما 24 ساعت بعد ازکشت و خروج سلول‌ها به‌وسیله دوربین عکس برداری متصل به میکروسکوپ نوری تصویربرداری و ضبط شد(تصویر شماره1) (۲۳،۲۲).



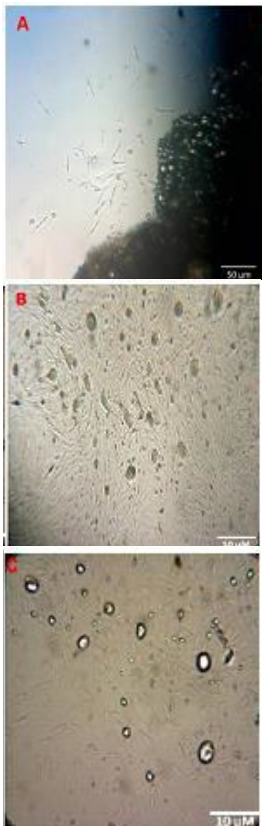
تصویر شماره 1: تصاویر بافت چربی کشت شده به روش آنزیمی. A) بافت چربی بلافاصله بعد از کشت B) بافت چربی 48 ساعت بعد از کشت که اولین سلول ها در حال خارج شدن از بافت می باشند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

C) خروج، تکثیر، و رشد سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی 72 ساعت بعد ازکشت قطعات بافت چربی.(تصویر A با بزرگ نام نمای 40x تصویر B با بزرگنمایی 200 x و تصویر C با بزرگ نمایی 100 x).

آنالیز فلوسایتومتری

برای تعیین هویت و اثبات بنیادی بودن سلول‌های جدا شده ازبافت‌های چربی، روش‌های متنوعی وجود دارد که مرسوم‌ترین روش برای تایید بنیادی بودن سلول‌های مزانشیمی ،بررسی نشانگرهای سطحی این سلول‌ها به وسیله تکنیک فلوسایتومتری است. در این پژوهش، آنتی‌بادی‌های کونژوگه FITC Mouse Anti-Rat CD90 و PE Mouse Anti-Rat CD29 و همچنین آنتی‌بادی کنترل مورد استفاده قرار گرفت. بعد از پاساژهای متوالی، در پاساژ سوم که سلول‌ها به طور کامل همگن شدند از آنزیم Trypsin–EDTA برای جدا کردن سلول‌های چسبیده به کف ظرف استفاده شد. سپس شمارش سلولی با کمک لام نئوبار انجام گرفت و تعداد 1/5×106 عدد سلول بنیادی شمارش شد. در مرحله بعدی آنتی‌بادی‌های نشان دارشده در یک محیط تاریک با غلظت مناسب (نسبت 1:10) اضافه شد و به مدت 20 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و به‌دنبال آن میزان بیان مارکرهای سطحی و درصد جمعیت‌های سلولی بیان‌کننده این مارکرها با دستگاه فلوسایتومتری becton Dickinson و نرم‌افزار FLOWJ/6 ارزیابی شد(۲۳،۲۲). در نهایت بعد از تعیین هویت جهت تزریق به مدل حیوانی آماده شده و پس از القای بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین 10 درصد و با دوز 50 میلی‌گرم در کیلوگرم و زایلازین 2 درصد با دوز 10 میلی‌گرم در کیلوگرم، دم موش را به مدت یک دقیقه در آب گرم نگه‌داشته تا عروق دم متسع شوند و بدین‌سان سیاهرگ دمی نمایان شود. سپس به کمک سرنگ انسولینی بعد از شستشو سلول‌ها با PBS و پیپتاژ کردن در محیط کشت، با استفاده از لام نئوبار، حدود 1/5×106 عدد سلول بنیادی استخراج شده از بافت چربی انسانی به سیاهرگ دم موش‌های دیابتی تزریق شد (تصویر شماره 2)(22).



تصویر شماره 2: نمای میکروسکوپی بافت چربی کشت شده به روش آنزیمی. A) جمعیت اولیه سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی B) پاساژ اول سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی که کاملاً دوکی شکل بوده و با سرعت تکثیر می شوند C) پاساژ سوم که جمعیت یکنواختی از سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی رویت می‌شوند. (تصویر Aبا بزرگ نام نمای 40x تصویر B با بزرگنمایی 100 x و تصویر C با بزرگ نمایی 100 x).

گروه‌های تمرینی روی نوارگردان به مدت 6 هفته به تمرین هوازی پرداختند. در پژوهش حاضر از سرعت تمرینی 18تا10 متر در دقیقه معادل 70-60 درصد VO2max استفاده شد (جدول شماره 1) (23).

جدول شماره 1: جزئیات پروتکل تمرین هوازی شش هفته ای مورد استفاده در پژوهش

هفته ها / متغیرهای تمرین	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
سرعت به متر در دقیقه	10	10	14-15	14-15	17-18	17-18
مدت فعالیت به دقیقه	10	20	20	30	30	30
تعدادجلسات تمرین در هفته	5	5	5	5	5	5

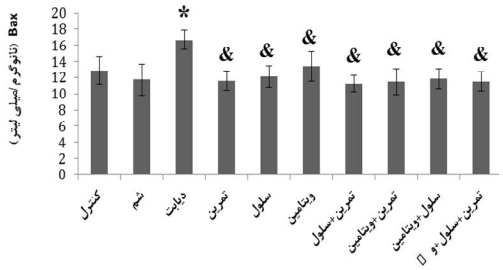
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

به منظور تهیه بافت پانکراس، ابتدا موش‌ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت 60 به40 بیهوش شدند. بلافاصله پس از شکافتن قفسه‌سینه و شکم، پانکراس جدا و در نیتروژن مایع قرار گرفت. پس از منجمد شدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای 80- درجه نگهداری شد. بعد از هموژنیزه و سانتریفیوژ، میزان غلظت شاخص‌ها به‌وسیله کیت آزمایشگاهی شرکت HANGZHOU چین با روش الایزا ریدر با طول موج 540 نانومتر خوانده شده و با 88 درصد حساسیت اندازه‌گیری شد. در این مطالعه به منظور بررسی تفاوت‌های موجود بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه (ONE-WAY ANOVA) استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی توکی (TUKEY) برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها و برای بررسی نرمال بودن از آزمون کولمگروف اسمیرنف استفاده شد.در این بررسی‌ها سطح معنی‌داری $P\leq 0/05$ در نظر گرفته شد. همه تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم افزار SPSS نسخه 20 انجام شد.

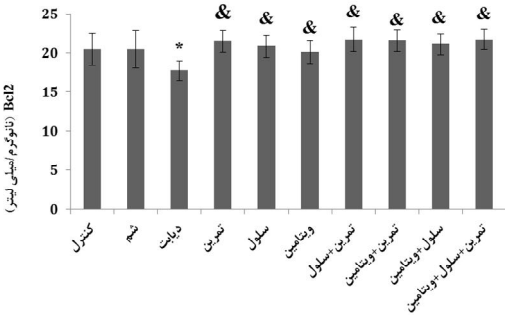
یافته ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، اختلاف معنی‌داری بین سطوح Bax، Bcl2 و نسبت Bax/Bcl2 سلول‌های بتای پانکراس رت‌های دیابتی در بین گروه‌های مختلف را نشان داد (P=0/001). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی سطوح Bax در گروه دیابت، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (P<0/0001). در گروه‌های سلول، تمرین، تمرین+سلول، ویتامین، تمرین+ویتامین، سلول + ویتامین و همچنین گروه ترکیبی (تمرین+سلول+ویتامین) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت مشاهده شد (P<0/0001) که این کاهش در گروه تمرین+سلول مشهودتر بود (نمودار شماره1).

همچنین، نشان داده شده که سطوح Bcl2 در گروه دیابت، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است (P<0/0001). سطوح Bcl2 در گروه‌های سلول، تمرین و تمرین+سلول، ویتامین، تمرین + ویتامین، سلول+ ویتامین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابت داشته است (P<0/0001) که این افزایش در گروه تمرین+سلول و تمرین + سلول + ویتامین مشهودتر بود (نمودارشماره2).



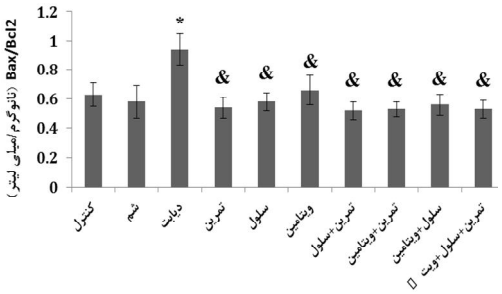
نمودار شماره 1: میانگین و انحراف استاندارد مقادیر Bax در گروه های مختلف پژوهش
*؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل
&؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه دیابت



نمودار شماره 2: میانگین و انحراف استاندارد مقادیر Bcl2 در گروه‌های مختلف پژوهش
*؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل
&؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه دیابت

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که نسبت سطوح Bax/Bcl2 گروه دیابت، نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد (P<0/0001). همچنین سطوح Bax/Bcl2 در گروه‌های مختلف پژوهش نسبت به گروه دیابت کاهش معنی‌داری داشته است (P<0/0001) که این کاهش در گره تمرین+سلول مشهودتر بود (نمودارشماره3).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]



نمودار شماره 3: میانگین و انحراف استاندارد نسبت Bax/Bcl2 در گروه¬های مختلف پژوهش
*؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل
&؛ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه دیابت

بحث

داده‌های حاصل از مطالعه حاضر، افزایش قابل توجه و معنی‌دار سطوح Bcl2 و همچنین کاهش مقادیر Bax و نسبت Bax/ Bcl-2 سلول‌های بتای پانکراس رت‌های دیابتی که تمرین ورزشی را روی نوارگردان به مدت شش هفته به همراه تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی و ویتامین D دریافت کرده بودند، نشان داد. لذا به نظر می‌رسد هر کدام از مداخله‌ها، مخصوصا ترکیب آن‌ها می‌تواند به واسطه تاثیر افزایشی روی عوامل ضد آپوپتوزی (Bcl2)وکاهش عوامل آپوپتوزی (Bax)، به‌عنوان یک عامل حفاظتی برای سلول‌های بتای پانکراس در برابر بیماری دیابت باشد. همچنین همسو با این تحقیق، Mauricio و همکاران(2018)، به بررسی اثر تمرین هوازی بر نشانگرهای آپوپتوز (Bax) در سلول‌های عضلانی قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین پرداختند. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها علت وقوع آپوپتوز سلول های قلبی در اثر دیابت، علاوه بر افزایش استرس‌های اکسیداتیو و وقوع فرآیند التهابی، حضور سایتوکاین‌هایی نظیر IL-1β، IFN.γ، TNF.α بوده که تأثیر بسزایی در تولید اکسید نیتریک داشته که در نهایت با افزایش Fas لیگاند به‌وسیله سلول‌های التهابی و قلبی مواجه شده و باعث افزایش عامل آپوپتوزی (Bax) و در نهایت، مرگ سلولی از نوع آپوپتوز در سلول‌های قلبی شده است(24). همچنین نتایج حاصل از این مطالعه با تحقیقات Krüger و همکاران(2009)(24)، Allen و همکاران (2015) همسو بود(25). در پژوهش حاضر انجام شش هفته تمرین هوازی و مصرف ویتامین D و تزریق سلول‌های بنیادی بافت چربی باعث افزایش عوامل ضد آپوپتوزی (Bcl2) و کاهش عوامل آپوپتوزی (Bax) شد. به نظر می‌رسد استفاده همزمان از این متغیرها می‌تواند به‌عنوان یک مکانیسم محافظتی برای سلول در برابر آپوپتوز، وهمچنین افزایش بیان پروتئین کیناز B باشد، چراکه افزایش بیان و افزایش فعالیت پروتئین کینازB، از طریق فسفوریلاسیون پروتئین‌های ضد آپوپتوز خانواده Bcl-2 و غیرفعالسازی پروتئین پیشبرنده آپوپتوز مانند Bax و یا از طریق مهار مستقیم فعالیت کاسپازی باعث مسدود کردن مسیرهای آپوپتوز می‌گردد(26). همچنین مطالعات گزارش کردند که سطوح پروتئین کیناز B در نمونه‌های جانوری در اثر دیابت کاهش می‌یابد(26). اما استرس اکسایشی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژنی به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است و زمانی که سطوح آن‌ها بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول باشد، می تواند مرگ سلولی را از طریق مسیرهای مختلف راه‌اندازی کند(27). در مطالعه حاضر پس از تزریق سلول‌های بنیادی بافت چربی بر رت‌های دیابتی، مشاهده شده که سطح Bcl-2 سلول‌های بتای پانکراس افزایش و سطوح Baxکاهش داشته که به دنبال آن، قندخون رت‌ها کاهش معنی‌داری داشته که بیانگر جایگزینی سلول‌های بنیادی و تمایز آن‌ها به سلول‌های بتا، جهت تولید هورمون انسولین که نشان‌دهنده عملکرد صحیح سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بوده که با یافته‌های تحقیق علی‌مرادی و همکاران (1394) همسو بود(28).

Capitelli وهمکاران (2014)، بیان‌کردند که می‌توان از سلول‌های بنیادی به عنوان یک محصول جدید برای جایگزینی سلول‌های عصبی مرده، بازسازی انتقال

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

دهنده‌ها، وتحریکات یا ایمپالس‌های عصبی و فراهم کردن آثار نوروتروفیک استفاده کرد. همچنین به نظر می‌رسد پیوند این سلول‌ها همراه با مصرف ویتامین D می‌تواند به عنوان یکی از راهکارهای درمانی مناسب وجدید برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری دیابت،آلزایمر، پارکینسون و نوروپاتی‌ها مورد توجه قرار گیرد(22). همچنین در پژوهش‌های مختلف نشان داده شد که احتمالاً سلول‌های بنیادی تزریق شده همراه با مصرف ویتامینD تحت تأثیر محیط اطرافشان و همچنین فاکتورهای رشد از جمله BDNF، VEGF و NGF قرار گرفته و سایتوکین‌ها را ترشح می‌کنند که با مکانیسم‌های اتوکرین و یا پاراکرین بر خود و سلول‌های میزبان اثر گذار بوده واین اثرگذاری نه تنها میزان بقاء و تمایز سلولی را افزایش می‌دهند، بلکه منجر به عصب‌دهی مجدد و برقراری ارتباط عصبی نیز می‌شوند(23). همچنین همسو با مطالعه حاضر در پژوهش هاشم ورزی و همکاران (1395)، عنوان شده پیوند سلول‌های بنیادی می‌تواند باعث بازسازی و ترمیم بافت‌های مختلف آسیب دیده شود که مکانیزم پیشنهادی این پژوهش به واسطه افزایش در سطوح VEGFو عوامل رشد عروقی و فرایند آنژیوژنز در بافت مغزی می‌باشد(29). در پژوهش حاضر گروه ترکیبی تمرین و ویتامین باعث افزایش سطوح Bcl2 و کاهش Bax شد در همین راستا پژوهشی که توسط مهتابی علمداری و همکاران(1398)، در مورد اثر ویتامین D و تمرین تداومی بر نشانگرهای آپوپتوز بافت آئورت در رت‌های مسموم شده با آب اکسیژنه انجام شد، نشان دادکه هرچند تمرین ورزشی سبب افزایش پروتئین Bcl-2 شد، ولی این افزایش معنی‌دار نبود، اما سبب کاهش معنی‌دار Bax شد،که با پژوهش حاضر همخوانی ندارد، همچنین عنوان شده است که تجویز ویتامین D به تنهایی سبب مهار عوامل منجر به آپوپتوزشده و آثار به مراتب قوی‌تری در مقایسه با تمرین ورزشی تداومی بر ضدآپوپتوز از خود نشان دادکه با یافته‌های تحقیق حاضر همسو نیست(30).

چرا که یافته‌های به‌دست آمده از مطالعه حاضر بیان کرد که تمرین ورزشی آثار به مراتب بیش‌تر و مفیدتری نسبت به تجویز ویتامین D دارد. عدم همسویی مطالعه حاضر با تحقیق فوق را می‌توان با نوع بافت مورد مطالعه (آئورت) و همچنین به رت‌های مسموم شده با آب اکسیژنه نسبت داد که باعث ایجاد نتایج متفاوت شده است .آثار ترکیب ورزش و تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی همراه با مصرف ویتامین D می‌تواند به صورت چند مکانیزم احتمالی توضیح داده شود. اول این‌که ترکیب و استفاده همزمان از این متغیرها، می‌تواند در مسیر تولید بیان پروتئین مهارگر آپوپتوز Bcl-2 نقش مثبتی داشته باشد که در پژوهش حاضراین پروتئین افزایش معنی‌داری داشت که احتمالاً دلیلی بر بروز واکنش‌های جبرانی ضد آپوپتوزی است. با توجه به این‌که Bcl-2 مانع افزایش Bax می‌شود، به‌نظر می‌رسد افزایش Bcl-2 یکی از مکانیسم‌های سرکوب‌کننده Bax بوده است(31). افزایش Bcl-2 با تحکیم دیواره میتوکندری، سرکوب Bax، جلوگیری از رهاسازی سیتوکروم c ، تنظیم کلسیم رهاشده از سارکوپلاسمیک و کاهش اثر رادیکال‌های آزاد (Reactive oxygen species: ROS) ناشی از فعالیت ورزشی، ایمنی سلول را بالا برده و از آپوپتوز ناشی از استرس جلوگیری می‌کند(32). ازطرف دیگر مکانیزم‌های مطرح شده در مورد اثرات سلول بنیادی مشتق از بافت چربی همراه با تمرینات منظم ورزشی و مصرف ویتامین D در رت‌های دیابتی نشان می‌دهد این سلول‌ها بعد ار ورود به جریان خون از جدار عروق عبور کرده و وارد بافت‌های آسیب دیده می‌شوند و لانه‌گزینی می‌کنند. سپس سلول‌های پیوندی در ارگان آسیب دیده تحت تاثیر محیط جدید خود به سلول‌های بافت مورد نظر تمایز یافته و در نهایت از لحاظ ساختاری و عملکردی جایگزین بافت صدمه دیده می‌شوند(33،32). در خصوص مکانیزم اثرات تعاملی متغیرهای وابسته پژوهش، مشخص شده است که افزایش سطوح Bcl2 در پژوهش حاضر و همچنین در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

گروه‌های تحت درمان، تاثیر بسزایی در کاهش پروتئین‌های پیش آپوپتوزی Bax، ازطریق به‌حداقل رساندن نفوذپذیری میتوکندری، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش ایمنی سلول و تعدیل استرس اکسایشی و کاهش ژن‌های پیش آپوپتوزی داشت.

این نکته ضروری است که اندازه‌گیری شاخص‌هایی از قبیل سیتوکروم c و ROS، شاخص‌های مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جزو محدودیت‌های مطالعه حاضر بودند. در نهایت نتیجه‌گیری می‌شود، با توجه به نقش مثبت Bcl2 در سلول‌های بتاپانکراس درکاهش اثرات منفی ناشی از بیماری دیابت، پیشنهاد می‌شود، ازترکیب تزریق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی با مصرف ویتامین D همراه با انجام تمرینات ورزشی هوازی بعنوان یک راهکارحفاظتی و درمانی در جهت کاهش آسیب‌ها ناشی از این بیماری و همچنین به عنوان یک روش غیردارویی برای کاهش عوارض آپوپتوز درسلول‌های بتای پانکراس ناشی از دیابت استفاده شود.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از رساله دکتری در رشتهٔ فیزیولوژی ورزشی با گرایش بیوشیمی ومتابوتیسم در ورزش است که با رعایت کامل اصول اخلاقی هلسینگی با کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1398.206 در گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تصویب شده است، لذا از مساعدت و همکاری تمام کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند بخصوص اساتید محترم دانشگاه آزاد اسلامی ساری که موجب تسهیل اجرای پژوهش شدند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

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 and Life Sciences 2013; 02(06): 1175-1178.
2. Eickhoff H, Guimaraes A, Louro TM, Seica RM, Sousa FC. Insulin resistance and beta cell function before and after sleeve gastrectomy in obese patients with impaired fasting glucose or type 2 diabetes. Surg Endosc 2015; 29(2): 438-443.
3. Zhang T, He H, Yang HL, Huang HJ, Zhang MF, An ZM, et al. Study of glycated albumin cut-off point in diabetes mellitus and impaired glucose regulation. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2014; 45(2): 274-277.
4. Krishna KA, Rao GV, Rao KS. Stem cell-based therapy for the treatment of Type 1 diabetes mellitus. Regenerative Med 2007; 2(2): 171-177.
5. Yiu KH, Tse HF. Specific role of impaired glucose metabolism and diabetes mellitus in endothelial progenitor cell characteristics and function. Arterioscler Thromb Vasc Biolo 2014; 34(6): 1136-1143.
6. Sharma A, Ezekowitz JA. Diabetes, impaired fasting glucose, and heart failure: it's not all about the sugar. Eur J Heart Fail 2014; 16(11): 1153-1156.
7. Hu MJ, Ruan GP, Yao X, Ruan GH, Wang JX, Pang RQ, et al. Induced autologous stem cell transplantation for treatment of rabbit type 1 diabetes. Cell Biol Int 2013; 37(6): 624-632.
8. Quadrilatero J, Bombardier E, Norris SM, Talanian JL, Palmer MS, Logan H, et al. Prolonged moderate-intensity aerobic exercise does not alter apoptotic signaling and DNA

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

fragmentation in human skeletal muscle. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 2010; 298(3): E534-E547.

9. Favaloro B, Allocati N, GrazianoV,Dillio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. Aging (Albany NY) 2012; 4(5): 330-349.
10. Koçtürk S, Kayatekin BM, Resmi H, Açıkgöz O, Kaynak C, Özer E. The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and solues muscle fibers in rats. Eur J Appl physiol 2008; 102(5): 515-524.
11. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. FASEB J 2004; 18(10): 1150-1152.
12. Noguchi H. Recent advances in stem cell research for the treatment of diabetes. World J Stem Cells 2009; 1(1): 36-42.
13. Mimeault M, Batra SK. Recent progress on normal and malignant pancreatic stem/progenitor cell research: therapeutic implications for the treatment of type 1 or 2 diabetes mellitus and aggressive pancreatic cancer. Gut 2008; 57(10): 1456-1468.
14. Moradi A, Mohammadi S, Hamidi Alamdari D. Effect of adipose tissue-derived stem cells on the control of the blood glucose level in diabetic rats. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(8): 717-726 (Persian).
15. Krishna KA, Rao GV, Rao KS. Stem cell-based therapy for the treatment of Type 1 diabetes mellitus. Regenerative Med 2007; 2(2): 171-177.
16. Lock LT, Tzanakakis ES. Stem/Progenitor cell sources of insulin-producing cells for the treatment of diabetes. Tissue Engineering 2007; 13(7): 1399-1412.
17. Guo F, Lv S, Lou Y, Tu W, Liao W, Wang Y, et al. Bone marrow stromal cells enhance the angiogenesis in ischaemic cortex after stroke: involvement of notch signalling. Cell Biol Int 2012; 36(11):997-1004.
18. De Salles Bf, Simão R, Fleck SJ, Dias I, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Effects of resistance training on cytokines. Int J Sports Med 2010; 31(7):441-450.
19. Tang Z, Yuan L, Gu C, Liu Y, Zhu L. Effect of exercise on the expression of adiponectin mRNA and GLUT ۴mRNA in type 2 diabetic rats. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2005; 25(2):191-193.
20. Eizadi Mojtaba, Laleh Behboudi.Effect of Acute and Chronic Exercise on Beta-Cell Function in Diabetic Patients. Knowledge & Health 2012; 6(4): 15-19 (Persian).
21. Bonakdaran S, Varasteh A, Khaajeh-Dalouie M. Serum 25 Hydroxy Vitamin D3 and Laboratory Risk Markers of Cardiovascular Diseases in Type 2 Diabetic Patients. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2010; 11(5): 504-509.
22. 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. Proc Natl Acad Sci USA 2014; 111(44): 1504-1509.
23. 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): 129-142 (Persian).
24. Krüger K, Frost S, Most E, Völker K, Pallauf J, Mooren FC. Exercise affects tissue lymphocyte apoptosis via redox-sensitive and Fas-dependent signaling pathways. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2009; 296(5): R1518-R1527.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]

25. Allen DA, Yaqoob MM, Harwood SM. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. The Journal of Nutritional Biochemistry 2015; 16(12):705-713.
26. Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, et al. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clin Chim Acta 2014; 340(1-2): 107-115.
27. 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): 717-726 (Persian).
28. 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): 1049-1064.
29. Mahtabi Alamdari J, Matin Homaei H, Farzaneghi P. The Effects of Vitamin D and Continuous Training on Apoptosis Markers in Aorta Tissue of Rats Exposed to Hydrogen Peroxide (H2O2). Sport Physiology 2019; 10(40): 163-178 (Persian).
30. Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. J Appl Physiol (2008); 105(6): 1934-1943.
31. Lock LT, Tzanakakis ES. Stem/Progenitor cell sources of insulin-producing cells for the treatment of diabetes. Tissue Eng 2017; 13(7): 1399-1412.
32. Zhao Y, Lin B, Dingeldein M, Guo C, Hwang D, Holterman MJ. New type of human blood stem cell: a double-edged sword for the treatment of type 1 diabetes. Transl Res 2010; 155(5): 211-216.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-07-11]