مقاله پژوهشي

اثر ازن درمانی و فعالیت ورزشی هوازی بر تغییرات بیان ژن‌های TRF2 و TERT قلب موش‌های مبتلا به استئوآریت زانو

آزاده گیلانی[۱]، عباسعلی گائینی[۲]، رضا نوری[۳*]

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۰۲/۰۶

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: استئوآرتریت (OA)، شایع‌ترین اختلال عضلانی- اسکلتی است. نداشتن فعالیت در این بیماران، احتمال بروز بیماری‌های قلبی عروقی مانند بیماری عروق کرونر و سکته مغزی را افزایش می‌دهد که از دلایل اصلی ناتوانی و مرگ‌ومیر در سراسر جهان محسوب می‌شود. هدف از پژوهش حاضر، مقایسه تمرین هوازی و ازن درمانی بر دینامیک طول تلومر بافت قلب موش‌های مبتلا به OA است.

مواد و روش کار: این مطالعه از نوع بنیادی-توسعه ای و روش آن تجربی بود که در آن ۱۵ سر موش نر ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۵±۲۳۵ گرم، بعد از القای مدل OA، از راه مداخله مستقیم تصادفی به سه گروه ۵ تایی آرتروز (OA)، آرتروز و ازن (OAO) (ازن با غلظت 20 µg/ml، یک‌بار در هفته در خط مفصلی تیبیوفمورال ۳ مرتبه تزریق شد) و آرتروز و تمرین هوازی (OAE) (۳ جلسه تمرین در هفته با سرعت ۱۶ متر بر ثانیه، ۸ هفته انجام شد) تقسیم شدند. ۴۸ ساعت بعد از پایان تمرین، بافت قلب استخراج و با روش Real time-qPCR بیان ژن‌های TRF2 و TERT قلب اندازه‌گیری شد و داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری کوچک‌تر از ۰/۰۵ بررسی شد.

یافته‌ها: بیان ژن TRF2 در گروه OAE افزایش معنی‌داری نسبت به گروه OA (P=0.045) داشت. همچنین، افزایش بیان ژن TERT در گروه OAE در مقایسه با گروه OA (P= 0.02) نیز معنی‌دار گزارش شد ولی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه OAE و OAO در بیان ژن TRF2 (P=0.303) و TERT (P=0.382) مشاهده نشد. همچنین تغییرات بیان ژن TRF2 (P= 0.490) و TERT (P=۰/۲۵۱) بین گروه OAO و OA معنی‌دار گزارش نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: هشت هفته تمرین هوازی در مقایسه با ازن درمانی با افزایش بیان ژن TRF2 و TERT می‌تواند بر بیولوژی سلولی بافت قلب تأثیرگذار باشد. اما در خصوص اینکه تمرین هوازی آثار بهتری بر افزایش طول عمر بیماران OA دارد یا ازن درمانی، نیاز بـه مطالعات بیشتری در آینده است.

کلیدواژه‌ها: تمرین هوازی، ازن درمانی، TRF2 و TERT

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره سوم، ص ۱۷۷-۱۶۹، خرداد ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: کیش، بلوار میرمهنا، پردیس بین‌الملل کیش، گروه علوم ورزشی، تلفن: ۰۷۶۴۴۴۳۰۰۵۶

Email: nuri_r7@ut.ac.ir

مقدمه

استئوآرتریت (OA) از شایع‌ترین بیماری‌های اسکلتی عضلانی است که به صرف هزینه‌های زیاد اجتماعی و اقتصادی در بودجه درمان پزشکی سالانه کشورها، به ارزش میلیون‌ها دلار منجر می‌شود (۱). نوع اولیه آن با ایجاد عوامل ناشناخته ژنتیکی و اپی ژنتیک و نوع ثانویه آن با بروز عوامل شناخته‌شده مانند فشار مکانیکی و ضربه‌های مفصلی طبقه‌بندی می‌شود (۲). مطالعات جدید نشان می‌دهند، التهاب سینوویال، ضعف عضلانی، داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) که معمولاً برای درمان درد در OA استفاده می‌شود خطر ابتلا به CVD را افزایش می‌دهد (۳). همچنین، تمایل به فعالیت بدنی و اضافه‌وزن از عوامل اصلی ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی قلم داد می‌شود. بیماری‌های قلبی عامل اصلی مرگ‌ومیر در جهان است و اغلب با از دست دادن سلول‌های قلبی همراه است که می‌تواند با کاهش طول تلومر (TL) توجیه شود. عوامل گوناگونی مثل از دست دادن پروتئین‌های تلومر، فشار اکسایشی و هیپوکسی وجود دارد که باعث کاهش TL و عملکرد

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، پردیس بین المللی کیش، کیش، ایران

[۲] استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۳] استادیارگروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین المللی کیش، دانشگاه تهران، کیش، ایران (نویسنده مسئول)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

قلب می‌شود. در مقابل، افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها، محدودیت کالری و فعالیت ورزشی می‌تواند از هر دو سایش تلومر قلبی و پیشرفت بیماری قلبی جلوگیری کند (۴). مطالعه کندزرسکا و همکارانش (۲۰۱۷) در ۱۸۴۹۰ بیمار مبتلا به OA (۱۰درصد OA ران، ۱۵،۳درصد OA زانو و ۱۶،۳درصد OA دست) نشان داد ۳۱،۹درصد این بیماران در طول ۱۳ سال، دچار حوادث قلبی عروقی شدند به‌ویژه در گروه OA زانو این آمار زیادتر بود (۵). پژوهشگران با شناسایی نشانگرهای زیستی به دنبال تحریکات مثبتی هستند تا بتوانند ظرفیت جوان‌سازی قلبی را افزایش دهند. در همین زمینه، از فعالیت ورزشی و ازن درمانی به‌عنوان محرک‌های مثبت نامبرده می‌شود، اما سازوکارهای سلولی - مولکولی که از راه آن‌ها طول تلومرهای قلبی در بیماران استوآرتریتی افزایش یابد، هنوز شناسایی نشده است. تلومرها ساختارهای نوکلئوپروتئین تکراری در انتهای کروموزوم هستند و کاهش تعداد این تکرارها، که به‌عنوان کاهش طول تلومر شناخته می‌شود، موجب پیری سلولی و آپوپتوز می‌شود (۶). طول تلومرها توسط تلومراز افزایش می‌یابد. برای مقابله با مشکل کوتاه شدن انتهای کروموزم‌ها در طی همانندسازی خصوصاً در سلول‌هایی که توان تکثیری بالا دارند، آنزیم تلومراز که یک ترانس کریپتاز معکوس است بیان می‌شود. آنزیم تلومراز حاوی یک زیر واحد تجزیه‌کننده است که به رونویسی معکوس تلومراز به نام TERT معروف است. این بخش از آنزیم پروتئینی است و خاصیت کاتالیتیکی فعالیت تلومراز را به‌وسیله عوامل وابسته به تلومر- TRF1، TRF2 و POT1 - تنظیم می‌کند(۷). مقادیر TRF1 و TRF2نقشی حیاتی در بیولوژی تلومر و پایداری کروموزوم دارند. مهار تلومراز باعث افزایش زیاد TRF1 (بیان بیش‌ازحد) می‌شود که پیامد آن فرسایش مداوم تلومرها است. بنابراین، نقش اصلی TRF1، تعدیل منفی طول تلومر است، درحالی‌که TRF2 برای حفظ ساختار حلقه T ضروری است و از همجوشی انتها به انتهای کروموزوم و ناهنجاری‌های کروموزومی جلوگیری می‌کند(۶). مطالعات جدید نشان می‌دهند کاهش طول تلومر یک عامل اپی ژنتیک بارز و قابل‌توجه در بیماران استئوآرتریتی است(۸). امروزه، درمان‌های دارویی و غیر دارویی زیادی برای OA پیشنهاد شده است. اکثر این روش‌ها در کوتاه‌مدت مؤثر هستند، اما درمان قطعی وجود ندارد. در مراحل پیشرفته جراحی راه‌حل قطعی است. به‌تازگی، یک راهکار جایگزین که بیمار را فعال نگه داشته و درعین‌حال فشار ناشی از تمرینات ورزشی را نداشته باشد، استفاده از تزریق درون مفصلی زانو شامل کورتیکواستروئیدها، اسید هیالورونیک(HA) ، پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) و ازن (O2-O3) است(۹). ازن یک گاز بسیار محلول و قابلیت اکسایشی دارد، مولکولی بسیار واکنشی است که هنگام تزریق به یک کپسول مفصلی، می‌تواند توانایی‌های فیبروبلاستی مفصلی را بهتر کند. ازن درمانی باعث کاهش التهاب و موجب بهبود رشد غضروف جدید می‌شود(۹). علاوه بر ازن درمانی، فعالیت ورزشی نیز به‌عنوان یک درمان غیر دارویی جایگاه منحصربه‌فردی دارد. اگرچه فعالیت ورزشی در سطوح بالا خطر ابتلا به OA را افزایش می‌دهد، اما سطوح متوسط آن می‌تواند سودمند باشد، به‌طوری‌که امروزه فعالیت بدنی منظم به‌عنوان یک درمان چندجانبه و بی‌خطر در بهتر شدن علائم استئوآرتریت زانو شناخته شده است و یک عامل پیشگیری در ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و مرگ‌ومیر در افراد مسن محسوب می‌شود(۱۰). بااین‌حال فعالیت ورزشی منظم به افزایش طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز بافت قلبی منجر می‌شود و در بهبود بیماری قلبی مؤثر است(۱۱)، سرعت از بین رفتن سلول‌ها را کند می‌کند و نقص عملکرد فیزیولوژیایی ناشی از پیری را نیز کاهش می‌دهد(۱۲). ورنر و همکارانش[1](۲۰۱۸) نیز نشان دادند تمرین هوازی و تناوبی شدید در ۱۲۴ فرد سالم موجب افزایش فعالیت آنزیم تلومراز لکوسیتی شد، ولی تمرین‌های دایره‌ای در ۸ دستگاه باعث تغییراتی در تلومراز لکوسیتی نشده است(۱۳). لودلوو و همکارانش[2](۲۰۱۲) نیز در مطالعه‌ای به بررسی آثار فعالیت ورزشی طولانی‌مدت (یک‌ساله) بر فعالیت آنزیم تلومراز و دینامیک تلومر در رت‌های هشت هفته‌ای پرداختند. نتایج نشان داد فعالیت تلومراز افزایش یافت، اما در بافت کبدی و قلب بین دو گروه تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد(۱۴). همچنین، اکبری بوکانی و همکارانش(۱۳۹۶) در مطالعه‌ای روی ۱۶ سر موش، به مدت ۱۶ هفته تمرین هوازی انجام داده و نتایج نشان داد فعالیت بدنی منظم به فعال شدن آنزیم تلومراز و تثبیت طول تلومر در بافت قلب و لکوسیت خون موش‌ها منجر شده و آثار پیری از بین رفته است (۱۱). بر اساس دانش ما پژوهش‌ها درباره فواید هر یک از روش‌های درمانی جداگانه در بیماران OA انجام شده است، ولی تاکنون پژوهشی تأثیر دو روش درمانی بر عملکرد قلبی بیماران OA را بررسی نکرده است. در این مطالعه پژوهشگران فرض کردند فعالیت ورزشی و ازن درمانی بر تغییرات ژن‌های TRF2 و TERT قلب موش‌های OA مؤثر است. بنابر این، پژوهش حاضر در صدد پاسخ به این سؤال است: آیا ازن درمانی یا فعالیت ورزشی بر تغییرات ژن‌های TRF2 و TERT بافت قلب موش‌های مبتلا به OA تأثیر دارد؟

مواد و روش کار

[1] Werner et al

[2] Lodlov et al

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

نمونه آماری پژوهش حاضر شامل ۱۵ سر موش نر جوان نژاد ویستار تقریباً ۸ هفته‌ای با وزن ۱۵±۲۳۵ گرم بود که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شد و مطابق با دستورالعمل گروه پژوهشی دانشگاه تهران و کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با کدIR.SSRC.REC.1398.076 ، در ۱۵ قفس از جنس پلی کربنات شفاف به ابعاد ۱۵ × ۲۶/۵ × ۴۲، دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵ ± ۵۵ درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲: ۱۲ با تهویه مناسب نگهداری شدند. همچنین، حیوانات در طی پژوهش از چیره غذای معمولی تغذیه شدند وآب مصرفی به صورت آزاد از راه بطری‌های ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیارشان بود. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌ها به صورت تصادفی ساده در سه گروه OA، OAO و OAE (۵ سر در هر گروه) تقسیم شدند. برای ایجاد استئوآرتریت در موش‌ها از روش مداخله مستقیم استفاده شد. ابتدا موش‌ها طبق پروتکل آسیس و همکارانش با استفاده از داروی بی هوشی کتامین 40 kg/mgو زایلازین ۲۰ kg/mg، بی هوش شدند و بعد از اصلاح موهای زانوی پای راست یک برش طولی در بخش داخلی زانو توسط تیغ بی سوری و سایر ابزارهای جراحی به طول ۱ سانتی مترایجاد شد. پس از کنار زدن پوست، کشکک زانو کنار زده شد تا رباط‌های متقاطع داخلی و خارجی مشاهده شود. سپس، با ایجاد یک برش پارگی و آسیب در رباط متقاطع قدامی [3](ACL) ایجاد شد. آزمون لاچمن برای جابه جایی کامل رباط و اطمینان از پارگی آن انجام شد(۱۵) و سر آخرناحیه به روش استریل بخیه زده شد. موش‌های جراحی شده زیر دستگاه تنفس مصنوعی باقی ماندند تا به صورت طبیعی به هوش آیند و شروع به تنفس کنند. در نهایت در قفسه‌های مجزا قرار گرفتند. شرط ورود به پژوهش انجام تست لاچمن بود که از پارگی رباط اطمینان حاصل شود. بعداز گذشت یک هفته از عمل جراحی و وزن کشی، ازن زیر نظر متخصص ازن درمانی به روش کاملاً استریل برای گروه OAO تزریق شد.اکسیژن وارد دستگاه ازن ساز شد و با استفاده از جریان الکتریسیته به ازن تبدیل شد. ازن با غلظت 20 µg/ml، یک بار در هفته و به مدت ۳ هفته در خط مفصلی تیبیوفمورال تزریق شد .همچنین، به منظور پخش شدن مناسب ازن در مفصل بعد از تزریق، زانو خم و صاف شد (۴). همچنین، در گروه OAE بعد از گذشت یک ماه از عمل جراحی، یک هفته صرف آشنایی و کاهش استرس موش‌ها روی نوار گردان شد. این تمرینات ۳ روز در هفته، به مدت ۱۰دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه (حدود ۶۰ تا ۷۰ درصدVo2max) و شیب صفر درجه، روی ۸ لاین تردمیل انجام شد. برنامه تمرین هوازی اصلی شامل ۳۰ دقیقه دویدن روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه درهفته اول و با رعایت اصل اضافه بار به صورت پیشرونده، مدت تمرین به ۵۰ دقیقه در هفته هشتم رسید(جدول۱). همچنین، پنج دقیقه با سرعت ۸ متردر دقیقه، قبل و بعد از تمرین برای گرم و سرد کردن حیوانات اختصاص یافت(۱۵). در این مدت، گروه کنترل برنامه تمرینی نداشتند. ۴۸ ساعت بعد از پایان تمرین هوازی با در نظرگرفتن موازین اخلاقی نگهداری حیوانات، همگی با گاز دی اکسید کربن معدوم شدند و بافت قلب موش‌ها برداشته و قسمتی از بطن چپ جدا و پس از شستشو بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و تا زمان سنجش بیان ژن‌های TRF2 وTERT در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

جدول (۱): پروتکل تمرین(زمان به دقیقه)

عوامل تمرینی	سازگاری	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
سرعت نوار گردان (متر/دقیقه)	۱۰	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
مدت هر جلسه تمرین (دقیقه)	۱۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰

استخراج RNA و سنتز cDNA:

استخراج RNA به وسیله QIAzol® Lysis Reagent (Qiagen,Hilden, Germany) و کلروفرم (Qiagen) به روش دستی و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. به این صورت که حدود ۵۰ میلی گرم بافت بطن چپ قلب جداگانه، جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent به روش هاون کوبی هموژن شد. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰ دقیقه،

[3] Anterior cruciate ligament

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰،۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۵ دقیقه، ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند، مایع رویی که محتوای RNA است را برداشته و با نسبت ۱ به ۰،۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰ دقیقه، 12000دور سانتریفوژ شد. پلاک حاوی RNA در اتانول ۸۰درصد شستشو و در ۲۰µL آب RNAS-Free حل گردید. پس از استخراج، کمیت و کیفیت RNA توسط دستگاه نانودراپ (Eppendorff, Germany) و ژل الکتروفورز بررسی شد. نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ جهت تشخیص آلودگی RNA با پروتئین و نسبت ۲۶۰ به ۲۳۰ جهت تشخیص آلودگی RNA با ترکیبات فنولی مورد سنجش واقع شد. باندهای s۱۸ و s۲۸ که به ترتیب در موقعیت‌های bp800 و bp1500 روی ژل آگاروز مشاهده شدند نشان دهنده کیفیت مطلوب RNA استخراج شده بود. همچنین سنتز cDNA با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Reverse transcriptase توسط کیت Easy cDNA Synthesis Kit (Parstous, Iran) و طبق پروتکل کیت انجام شد.

Real time-PCR:

برای سنجش مقادیر بیان ژن‌های TERT و TRF2 از روش Real Time qPCR با استفاده ازPrimix syber greenII (Applied Biosystems, USA) انجام شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت Duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های مربوطه در بانک ژنی NBCI و توسط شرکت ماکروژن (Macrogen Inc, Seoul, Korea) انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ گزارش شده است، GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real Time qPCR دردستگاه (ABI, USA) شامل: ۹۵ °C به مدت ۱۵ دقیقه، ۹۵ °C به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ °C به مدت ۳۰ ثانیه (۴۰ سیکل) و ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه بود.

جدول (۲): توالی پرایمرهای مورد استفاده

Gene name	Forward primer sequences	Reverse primer sequences
TRF2	CTACCCAGTCTTACAGCTTACCAG	GCCCATTTCCATACACACAGCTAC
TERT	TGATGTGGAGGGTGAAAGTGG	GTGGTGTCTGTGATGTAGAAGA
GAP	AAG TTCAACGGCACAGTCAAGG	CATACTCAGCACCAGCATCAC C

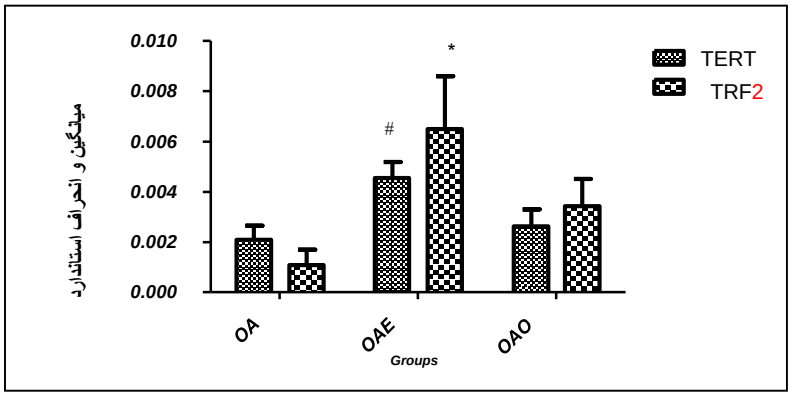
روش‌های آماری:

به منظور بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون‌های شاپرو-ویلک و برای بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس بین گروهی یک سویه در سطح معنی‌داری ($p\leq 0.05$) و آزمون تعقیبی توکی ویژه مقایسه درون گروهی انجام شد. آنالیز آماری به کمک نرم‌افزار SPSS-22 انجام شد و جهت رسم نمودار از نرم افزار اکسل ۲۰۱۷ استفاده شده است.

یافته‌ها

مقایسه بیان ژن TRF2(F=3.736) و TERT (F=4.318) بین سه گروه در شکل ۱ نمایش داده شده است. نتایج تحلیل واریانس یک سویه نشان داد، تفاوت معنی‌داری بین بیان ژن‌های (p=۰،۰۳۹) TRF2 و (p=۰،۰۴۰) TERT در سه گروه OA، OAO وOAE وجود دارد. همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، بیان ژن TRF2 در گروه OAE افزایش معنی‌داری نسبت به گروه OA (P=0.045) داشت. همچنین، افزایش بیان ژن TERT در گروه OAE در مقایسه با گروه OA ((P= 0.02 نیز معنی‌دار گزارش شد ولی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه OAE و OAO در بیان ژن TRF2 (P=0.303) و ((TERT P=0.382 مشاهده نشد. همچنین تغییرات بیان ژن TRF2 (P=0.490) و TERT (P=0.251) بین دو گروه OAO و OA نیز معنی‌دار گزارش نشد (جدول ۳).

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]



شکل (۱): مقادیر بیان ژن TERT و TRF2

جدول (۳): بررسی تغییراتTERT و TRF2در گروه‌های مورد مطالعه

	گروه OAO (n=5)		گروه OA (n=5)		گروه OAE (n=5)		
متغیر	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	P
TERT	۰،۰۰۲۶	۰،۰۰۱۵	۰،۰۰۱۸	۰،۰۰۱۱	۰،۰۰۴۴	۰،۰۰۱۷	۰،۰۴۰*
TRF2	۰،۰۰۳۴	۰،۰۲۴۳	۰،۰۰۱۱	۰،۰۰۱۳	۰،۰۰۶۱	۰،۰۰۶۵	۰،۰۳۹*

بحث و نتیجه گیری

نتایج پـژوهش حاضـر در شکل ۱ نـشان می‌دهد بیان ژن TRF2 و TERT قلب موش‌های OA پس از تمرین هوازی افزایش معناداری داشته است. از آنجا که پژوهشی درباره مقایسه روش‌های مؤثر بر طول تلومر قلب افراد آرتروزی موجود نیست لذا تلاش شد از مطالعات مشابه و نزدیک به این حیطه استفاده شود. نتایج مطالعه حاضر در مورد آثار مثبت فعالیت بدنی بر طول تلومر و فعالیت تلومراز با تعدادی از پژوهش‌ها همخوانی دارد (۱۶، ۱۷). تمرین هوازی می‌تواند به افزایش طول تلومر ها منجر شود و اکسیژن مصرفی بیشینه را از راه فعال شدن تلومراز که ارتباط مثبت با طول تلومر دارد، بهتر کند(۱۷). در این راستا پژوهش دوو و همکارانش در ۷۸۱۳ زن بالغ نشان داد فعالیت با شدت متوسط و شدید در مقایسه با فعالیت کم شدت، طول تلومر را افزایش می‌دهد (۱۸). لودلو و همکارانش نیز نشان دادند بیشترین افزایش طول تلومر در سه گروه مختلف تمرینی در فعالیت بدنی متوسط اتفاق می افتد (۱۹). چند دلیل احتمالی برای این پدیده وجود دارد. در مرحله اول ، فعالیت ورزشی ممکن است بیان ترانسکریپتاز معکوس تلومراز و TRF2 را افزایش دهد که می‌تواند به افزایش فعالیت پروتئین تثبیت شده تلومراز و تلومر منجر شود (۲۰). دوم ، افزایش طول تلومر در ارتباط با افزایش میزان فعالیت بدنی ممکن است با کاهش فشار اکسایشی و التهاب ، مانند کاهش میزان پروتئین واکنشی C ، اینترلوکین ۶ ، فاکتور نکروز تومور -آلفا و گرانولوسیت همراه شود. همچنین، عامل تحریک کلونی و F2 ایزوپروستان از شاخص‌های التهابی یافت شده است که به جذب تلومر کمک می‌کند. سوم ، فعالیت بدنی ممکن است خطر مقاومت به انسولین و چاقی را کاهش دهد که می‌تواند باعث کاهش سرعت تجزیه تلومر شود (۱۷). همچنین، مطالعات جدید نشان می‌دهد پس از ایجاد استرس خارجی ، TERT با قابلیت برگشت پذیری از هسته به میتوکندری منتقل می‌شود و با اتصال به mt DNA ، موجب عدم تولید mt ROS و با افزایش فعالیت زنجیره تنفسی نقش محافظتی را انجام می‌دهد. بیان بیش‌ازحد TERT در قلب موش‌های انفارکتوس میوکارد ،باعث کاهش تواتر قلبی، بهتر شدن انقباض بطن‌ها و کاهش اندازه انفارکتوس در بستن شریان نزولی قدامی چپ(۲۱) و کاهش آپوپتوز در داخل بدن و در کاردیومیوسیت می‌شود. در مقابل، کاهش فعالیت TERT فشار اکسایشی میتوکندری و سلولی را تقویت می‌کند(۲۲) و باعث افزایش تقسیم سلولی ، هیپرتروفی کاردیومیوسیت و مرگ می‌شود، که با اتساع بطن ، نازک شدن دیواره بطن و اختلال عملکرد قلبی همراه است (۲۲، ۲۳). با وجود این، بسیاری از مطالعات ارتباط خطی بین طول تلومر و تلومراز و شدت فعالیت ورزشی را رد کرده‌اند (۲۴-۲۷) حتی در برخی مطالعات نشان داده شده است بیشترین میزان فعالیت، ارتباط معنا داری با طول تلومر دارد(25, 28). همچنین، ساولا و همکارانش گزارش کرده‌اند مردان در گروه بیشترین فعالیت بدنی کمترین میزان مرگ‌ومیر را دارند (۲۹). این یافته‌های ناهمسو ممکن است مربوط

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

به سلامت قلب و عروق زیادتر آزمودنی‌ها باشد یا شدت و مدت زمان تمرین هوازی ، اندازه نمونه و روش‌های استخراج DNA تفاوت داشته باشد (17). از سوی دیگر، در مطالعه حاضر تجزیه و تحلیل سه گروه نشان داد ازن درمانی نیز موجب افزایش بیان ژن TRF2 وTERT قلب می‌شود، ولی این افزایش از لحاظ آماری معنادار نبود. از آنجا که OA بیماری مخربی است که بر عملکرد فرد اثر گذاشته و باعث درد می‌شود. نفوذ O3 باعث افزایش آنابولیسم می‌شود و عملکرد عروق کرونری را در غضروف و استخوان بهتر می‌کند. در حال حاضر درمان قطعی OA زانو وجود ندارد. به همین دلیل، تمرکز روی بهتر شدن علائم ناشی از OA است. O3 محدوده حرکت[1](ROM) را بهتر می‌کند و روند تخریب را کاهش می‌دهد. همچنین، می‌تواند کاندروسیت، سلول‌های بنیادی، سایتوکاین های التهابی، اکسید نیتریک و متالوپروتئیناز های معدنی را مهار کند. مطالعات منتشر شده درباره O3 در زانو کم است. بیماران مبتلا به OA شدید در مقایسه با کسانی که دارای OA خفیف بودند بیشتر بهبود می‌یابند. O3 در گام نخست، سایتوکاین های ضدالتهابی مانند پروستاگلاندین (PGE2) E2 را مهار می‌کند. در مرحله دوم، بر سایتوکاین های مهار کننده مانند IL-10، TGF-β ، IL-4، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نئوآنژیوژنز عمل می‌کند. همه این‌ها با همکاری در روندترمیم مفصل با تحریک فیبروبلاست ها، کندروسیت ها و سلول‌های بنیادی کار می‌کنند(۳۰). فیلیپو و همکارانش ۲۰۱۵ به جنبه جدیدی از ازن درمانی ، که افزایش مقاومت در برابر خستگی جسمی و استرس در موش‌های تحت تمرین خیلی شدید است، اشاره می‌کند. آن‌ها نشان دادند در یک جلسه تمرینی طولانی‌مدت ، موش‌های گروه تزریق با مخلوط اکسیژن / ازن، به صورت داخل صفاقی، مسافت بیشتری در روز و هفته را در مقایسه با موش‌های تمرین با اکسیژن دویدند. بنابراین ، ازن ، مقاومت موش‌ها به خستگی جسمانی را افزایش و باعث کاهش هیپرتروفی قلب و هیپرتروفی در عضله دوقلو شد. همچنین، فیبروز پیش عروقی در قلب موش‌ها نیز کاهش یافت (۳۱). در پژوهش دیگری فیلیپو و همکارانش دریافتند، ازن درمانی به افزایش آشکار عملکردهای سیستولی و دیاستولی و سپس شاخص عملکرد میوکارد (MPI) منجر شد که تأیید کننده نقش مهم ازن در محافظت قلبی است. ازن درمانی در جریان خون احتمالاً با فعال کردن دستگاه آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت درمانی زیادی برای بهبود نارسایی قلبی دارد(۳۲). علت مغایرت نتایج پژوهش با این یافته‌ها احتمالاً محل تزریق ازن است که در زانو انجام شد. شاید اگر تزریق از راه وریدی بود آثار مثبت بارزی بر کاردیومیوسیت های قلبی داشت. همچنین، ازن یک اکسید کننده مورد توجه است که توانایی تغییر فیزیولوژی سلول‌ها را با ایجاد آنتی‌اکسیدان‌های بیشتر در سطح سلولی، امکان پذیر می‌کند توجه به این نکته مهم است که افزایش غلظت ازن احتمالاً غلظت اکسیدان ها از جمله غلظت پراکسید هیدروژن را افزایش می‌دهد. غلظت‌های زیادتر ازن (بیشتر از 80µg) در پنجره درمانی، احتمالاً مطلوب‌تر است(33) . بنابر این، دریافت مقدار بیشتر ازن یا افزایش تعداد جلسات تزریق امکان افزایش طول تلومر و فعالیت تلومراز را فراهم می‌کند. از آنجا که این مطالعه برای اولین بار در ایران انجام شد می‌توان به محدودیت‌هایی از جمله کم بودن حجم نمونه‌ها، تعداد جلسات تزریق ازن و روش اندازه گیری اشاره کرد، بنابراین پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آتی علاوه بر افزایش تعداد نمونه‌ها ، تعداد جلسات تزریق ازن و بررسی متغییر ها در سطح پروتئینی نیز انجام شود تا بتوان به نتایج دقیق‌تری رسید .

نتیجه گیری

ورزش بر پویایی تلومر تأثیر می‌گذارد. این نتایج نشان دهنده اهمیت ورزش منظم در بیماران OA و متعاقباً افزایش طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز است. با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد که هشت هفته تمرین هوازی یک روش کارآمد و مناسب در بیماران مبتلا به OA برای محافظت از طول تلومر قلبی است و ازن درمانی نقشی در حفاظت از کرومزوم ها و افزایش طول تلومرهای قلبی ندارد. بااین‌حال برای تعمیم این یافته‌ها به نمونه‌های انسانی باید مطالعات بیشتری انجام شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله دانشجویی دکتری فیزیولوژی ورزشی مصوب در دانشگاه تهران است که در کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با کد IR.SSRC.REC.1398.076 مورد تأیید قرار گرفت. از تمامی کسانی که در اجرا و به پایان رساندن این پژوهش ما را یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

References

1. AlKuwaity KW, Mohammad TN, Hussain MA, Alkhanani AJ, Ali AM. Prevalence and Determinant Factors of Osteoarthritis of the Knee Joint among Elderly in Arar, KSA. Egypt J Hosp Med 2018; 72(9): 5173-7.

[1] Range of motion

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

2. Eskandari-Nasab E, Dahmardeh F, Rezaeifar A, Dahmardeh T. Telomere and telomerase: From discovery to cancer treatment. Gene, Cell and Tissue 2015; 2: e28034.

3. Rahman MM, Kopec JA, Cibere J, Goldsmith CH, Anis AH. The relationship between osteoarthritis and cardiovascular disease in a population health survey: a cross-sectional study. BMJ open 2013; 3: e002624.

4. Booth SA, Charchar FJ. Cardiac telomere length in heart development, function, and disease. Physiol Genomics 2017; 49(7): 368-84.

5. Kunduracilar Z, Selici K. Cardiovascular and Functional Capacity of Patients with Knee Osteoarthritis, in Osteoarthritis. 2018, IntechOpen.

6. Noorimofrad S. The effect of high intensity interval training on telomere length and telomerase activity in non-athlete young men. Journal of Basic Research in Medical Sciences 2018; 5(2): 1–7.

7. Mosallanezhad Z, Nikbakht H, Gaeini AA, Gholami M. The effect of high-intensity interval training on telomere length of leukocytes in sedentary young women. Advances in Environmental Biology 2014: 841-6.

8. Kuszel L, Trzeciak T, Richter M, Czarny-Ratajczak M. Osteoarthritis and telomere shortening J Appl Genet 2015; 56(2): 169-76.

9. Fernandez-Cuadros ME, Perez-Moro OS, Albaladejo-Florin MJ, Entrambasaguas-Estepa B, Alava-Rabasa S. Mid-Term Effectiveness of Ozone (O2-O3) Compared to Platelet-Rich Plasma (PRP) in the Management of Knee Osteoarthritis: A Randomized Parallel Controlled Trial. Middle East J Rehabil Health Stud 2019; 6 (2): e74140.

10. Hossein Mirkarimpour S, Hossein Alizadeh M, Fallah Mohammadi M, Adibmoradi M, Dilmaghanian A. The Effect of 4-week Swimming Training on Rat's Knee Osteoarthritis induced by Monosodium Iodoacetate. Razi Journal of Medical Sciences 2013;19(104):83-91.

11. Akbari BH, Ravasi AA, Akbari MR. The effect of a endurance training period with cellular anti-aging purpose on telomerase enzyme content in cardiac tissue and peripheral blood lymphocytes in rats. Sport physiology & management investigations 2017; 9(3): 127-41.

12. Norouzi Kamareh MH, Zolfaghari MR, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. Effect of 12 weeks aerobic training and oral green tea extract on cardiac caspase-3 expression in aged male rats. Sport Biosciences 2018; 10(2): 221-35.

13. Werner CM, Hecksteden A, Morsch A, Zundler J, Wegmann M, Kratzsch J, et al. Differential effects of endurance, interval, and resistance training on telomerase activity and telomere length in a randomized, controlled study. Eur Heart J 2018; 40(1): 34-46.

14. Ludlow AT, Lima LC, Wang J, Hanson ED, Guth LM, Spangenburg EE, et al. Exercise alters mRNA expression of telomere-repeat binding factor 1 in skeletal muscle via p38 MAPK. J Appl Physiol 2012; 113(11): 1737-46.

15. Assis L, Milares LP, Almeida T, Tim C, Magri A, Fernandes KR, et al. Aerobic exercise training and low-level laser therapy modulate inflammatory response and degenerative process in an experimental model of knee osteoarthritis in rats. Osteoarthr Cartil 2016; 24(1): 169-77.

16. Stellos K, Spyridopoulos I. Exercise, telomerase activity, and cardiovascular disease prevention. Eur Heart J 2019;40(1):47-9. 17. Tucker LA. Physical activity and telomere length in US men and women: An NHANES investigation. Prev Med 2017;100:145-51.

18. Du M, Prescott J, Kraft P, Han J, Giovannucci E, Hankinson SE, et al. Physical activity, sedentary behavior, and leukocyte telomere length in women. Am J Epidemiol 2012; 175(5): 414-22.

19. Santoso DI, Paramita N, Prijanti AR, Hendrawan T, Wicaksono S. The effect of aerobic

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

exercise on relative leukocyte telomere length in male Sprague-Dawley rats given a high fat-diet. F1000Research 2018;7 (1143):1143.

20. Centers for Disease Control and Prevention. NCHS research ethics review board (ERB) approval. National Center for Health Statistics. Available from: http://www. cdc. gov/nchs/nhanes/irba98. htm. Accessed, 2012. 20.

21. Bär C, De Jesus BB, Serrano R, Tejera A, Ayuso E, Jimenez V, et al. Telomerase expression confers cardioprotection in the adult mouse heart after acute myocardial infarction. Nature communications 2014; 5(1):1-4..

22. Ait-Aissa K, Heisner JS, Norwood Toro LE, Bruemmer D, Doyon G, Harmann L, et al., Telomerase deficiency predisposes to heart failure and ischemia-reperfusion Injury. Front Cardiovasc Med 2019; 6: 31.

23. Azabijani M. The Effects of an 8-Week Resistance-Interval Training on the Telomere Length, Telomerase Activity, and TRF2 Expression in Sedentary Young Men. Community Health Journal 2017; 11 :76-85.

24. Brown L, Needham B, Ailshire J. Telomere length among older US adults: differences by race/ethnicity, gender, and age. J Aging Health 2017; 29(8): 1350-66.

25. Control, C.f.D. and Prevention, NHANES questionnaires, datasets, and related documentation. 2011.

26. Marcon F, Siniscalchi E, Crebelli R, Saieva C, Sera F, Fortini P, et al., Diet-related telomere shortening and chromosome stability. Mutagenesis 2011; 27(1): 49-57.

27. Lee JY, Jun NR, Yoon D, Shin C, Baik I. Association between dietary patterns in the remote past and telomere length. Eur J Clin Nutr 2015; 69(9): 1048-52.

28. Kyu HH, Bachman VF, Alexander LT, Mumford JE, Afshin A, Estep K, et al. Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events: systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. bmj 2016; 354: i3857.

29. Johnson CL, Paulose-Ram R, Ogden CL, Carroll MD, Kruszan-Moran D, Dohrmann SM, et al. National health and nutrition examination survey. Analytic guidelines, 1999-2010. Vital Health Stat 2; (161):1-24.

30. Seyam O, Smith NL, Reid I, Gandhi J, Jiang W, Khan SA. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. Med Gas Res 2018; 8(3): 103-10.

31. Di Filippo C, Trotta MC, Maisto R, Siniscalco D, Luongo M, Mascolo L, et al. Daily oxygen/O3 treatment reduces muscular fatigue and improves cardiac performance in rats subjected to prolonged high intensity physical exercise. Oxid Med Cell Longev 2015; 2015: 190640.

32. Di Filippo C, Marfella R, Capodanno P, Ferraraccio F, Coppola L, Luongo M, et al. Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct. Inflamm Res 2008; 57(10):445-9. 33. Smith AJ, Oertle J, Warren D, Prato D. Ozone Therapy: a critical physiological and diverse clinical evaluation with regard to immune modulation, anti-infectious properties, anti-cancer potential, and impact on anti-oxidant enzymes. Open Open J Mol Integr Physiol 2015; 5(03): 37.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

Original Article

EFFECT OF AEROBIC EXERCISE TRAINING AND OZONE THERAPY ON TRF2 AND TERT GENE EXPRESSIONS IN HEART TISSUE OF RATS WITH OSTEOARTHRITIS

*Azadeh Ghilani[1], Abbasali Kaeni[2], Reza Nouri *[3]*

Received: 03 Jan, 2020; Accepted: 25 Apr, 2020

Abstract

***Background & Aims*:** Osteoarthritis (OA) is the most common disease of joints caused by the degradation of articular cartilage and subchondral bone. It is unknown whether different therapies exert differential cellular effects. Telomeres and telomerase play a major role in cellular aging with implications for global health. Also, OA may be associated with CVD and reduction in telomeres length. Thus, this study investigated the effect of ozone therapy and aerobic training on telomeres and telomerase expression genes in the heart of rats with knee OA.

***Materials & Methods*:** In this experimental study, knee OA was induced by the surgical method in rats. OA rats were randomly divided into the OA, OA and ozone therapy (OAO), and OA and aerobic exercise (OAE) groups. Rats in the OAO group received O3 at the concentration of 20µg/ml, once a week for 3 weeks. Rats in the OAE group were trained on rodent treadmill with intensity of 16 m/min, 3 days/week. 48 hours after the intervention, cartilage and heart tissues were isolated and the expression of TRF2 and TERT gene was measured using Real-Time qPCR (RT-qPCR).

***Results*:** OAE significantly increased the expression of TRF2 compared to the OA (p=0.045) group. Also, OAE group had significantly higher expression of TERT compared to the control (p= 0.02) group but no difference was observed between OA and OAO in TRF2 (p=0.303) and TERT (p=0.382) genes expression.

Conclusion: TRF2 and TERT increased after 8 weeks of aerobic exercise compared to the Ozone therapy.

***Keywords*:** TRF2; TWRT; Osteoarthritis; Ozone; Aerobic exercise

***Address*:** Department of Exercise Physiology, Kish International Campus, University Of Tehran, Mirmohanna BLV, Kish Island, Iran
Tel: +987644430056
***Email*:** nuri_r7@ut.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(3): 177 ISSN: 2717-008X

[1] Department of Exercise Physiology, University of Tehran, Kish International Campus, Kish, Iran
[2] Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Exercise Sciences, University of Tehran, Iran
[3] Department of Exercise Physiology, University of Tehran, Kish International Campus, Tehran, Iran (Corresponding Author)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]