

اثر ۱۰ هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر مقادیر آپلین ۱۳ و برون ده قلبی در موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس قلبی

فاطمه کلبادی‌نژاد^۱، سید عبدالله هاشم‌ورزی^۱، عبدالرضا جعفری چاشمی^۲

چکیده

اهداف: امروزه به استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی و اثرات مثبت تمرینات ورزشی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله انفارکتوس قلبی توجه شده است، بنابراین هدف از اجرای این پژوهش بررسی اثر ۱۰ هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر مقادیر آپلین ۱۳ و برون‌ده قلبی موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس قلبی بود.

روش مطالعه: در این مطالعه تجربی از ۶۰ سر موش صحرایی نر استفاده شد که به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل سالم، کنترل بیمار، شم، سلول، تمرین و سلول + تمرین. برای ایجاد انفارکتوس قلبی، شریان پایین رونده قدامی با استفاده از نخ سیلک ۰/۶ به طور کامل مسدود شد. سلول‌های بنیادی پس از استخراج، با استفاده از لام نئوبار، حدود ۱۰^۶ سلول برای هر موش از طریق سیاهرگ دمی تزریق شد. موش‌های گروه تمرینی به مدت ۱۰ هفته تمرین هوازی را با شدت ۱۷ متر بر دقیقه انجام دادند. اندازه‌گیری برون ده قلبی به وسیله دستگاه اکوکاردیوگرافی و مقادیر آپلین ۱۳ به وسیله کیت آزمایشگاهی انجام شد.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که القاء انفارکتوس قلبی موجب کاهش معنادار سطوح آپلین ۱۳ و برون ده قلبی در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل سالم شد ($P < 0.05$). تمرین هوازی و سلول‌های بنیادی موجب افزایش معنادار سطح آپلین ۱۳ و برون ده قلبی در گروه‌های تجربی (تمرین و سلول‌های بنیادی) در مقایسه با گروه کنترل (بیمار) شد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ۱۰ هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی احتمال دارد از طریق افزایش Apelin-13 عملکرد انقباضی را بهبود بخشد و موجب افزایش برون ده قلبی شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، سلول بنیادی مزانشیمی، آپلین ۱۳، برون ده قلبی، انفارکتوس قلبی

^۱ دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

^۲ استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. نویسنده مسئول: hashemvarzi_tkd@yahoo.com

^۳ استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی از شایع‌ترین عوامل تهدید کننده حیات انسان محسوب می‌شوند و شناخت عوامل خطر ساز ایجاد آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. انفارکتوس حاد میوکارد^۱ (AMI) به علت انسداد ناگهانی یکی از عروق کرونر قلب ایجاد می‌شود و در عده‌ای از بیماران در اثر بی‌نظمی ضربان قلب و یا نارسایی قلبی اتفاق به مرگ منجر می‌شود (Popov et al., 2023). عدم تحرک بدنی، فشار خون بالا، چاقی، سیگار کشیدن، سطح کلسترول بالا (به ویژه LDL) و سطوح بالای تری‌گلیسیرید از عوامل خطر قابل تغییر برای آترواسکلروز و AMI هستند (Attar et al., 2021). اخیراً پژوهشگران برهم خوردن تعادل پپتیدی به نام آپلین را به عنوان علتی برای افزایش ایست قلبی مطرح کرده‌اند. عوامل مختلفی در متعادل سازی فرآیند فیزیولوژیکی قلبی-عروقی نقش دارند، که گمان می‌رود آپلین نقش اساسی در عملکرد سیستم قلبی-عروقی و تغییرات فشار خون داشته باشد (Mohammadi et al., 2022). آپلین یک پروتئین موثر بر عروق است که در کاردیومیوسیت‌ها سنتز می‌شود و در بافت قلب و سیستم گردش خون قرار دارد. آپلین دارایی عملکردهای قلبی عروقی نظیر گشاد کنندگی عروق با اثر و عملکرد مستقیم روی سلول‌های عضلانی صاف و افزایش قدرت انقباضی قلب دارد. همچنین آپلین اثر وازودیلاتاسیون وابسته به آندوتلین نیز دارد، ولی خیلی از اثرات دیگر آپلین هنوز شناخته نشده‌اند (Zhong et al., 2020). mRNA Apelin در تمام اندام‌های موش صحرایی یافت می‌شود؛ ولی محتوای آن در اندام‌های مختلف به طور قابل توجهی متفاوت بودند. اخیراً گزارشات زیادی درباره آپلین و نارسایی قلبی ارائه گردیده است که نشان دهنده کاهش سطح پلاسمایی آپلین در بیماران با نارسایی قلب است (Guzelburc et al., 2021). همچنین گزارشی مبنی بر کاهش سطح پلاسمایی آپلین در فیبریلاسیون دهلیزی بدون بیماری ساختاری قلب ارائه گردیده است (Asadpour et al., 2010). احتمالاً کاهش سطح پلاسمایی آپلین یک فاکتور مهم پیشگوئی کننده و درمانی در بیماران با نارسایی قلب است. همچنین MI می‌تواند عملکرد دیاستولیک و سیستولیک را مختل کند و خطر آریتمی را افزایش دهد (Popov et al., 2023). گزارش شده است که apelin-13 می‌تواند فشار خون (BP) را کاهش داده و ضربان قلب (HR) را افزایش دهد (Fernandez et al., 2021). انفوزیون داخل وریدی آپلین-۱۳ باعث افزایش شاخص قلبی، کاهش فشار خون و کاهش مقاومت عروق محیطی در افراد شاهد و بیماران مبتلا به نارسایی قلبی شد (Japp et al., 2010). آپلین به عنوان یک لیگاند درون‌زا گیرنده جفت شده با پروتئین G انسانی نقش تنظیمی مهمی در هموستاز قلبی عروقی ایفا می‌کند. سیستم Apelin-APJ ممکن است در محافظت قلبی در طول ایسکمی حاد میوکارد دخالت داشته باشد (Azizi et al., 2015). حفاظت قلبی در برابر آسیب ایسکمی/خون‌رسانی مجدد از طریق فعال سازی مسیرهای سیگنالینگ ERK و PI3K/Akt/eNOS رخ می‌دهد. دخالت apelin-13 در تثبیت غشای سلولی میوکارد، کاهش تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، تنظیم بیان سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و eNOS در ایسکمی/خون‌رسانی مجدد قلب موش در داخل بدن نشان داده شد. فسفوریلاسیون و فعال سازی eNOS همچنین در حفاظت از میوکارد ارائه شده توسط apelin دخیل است (Pisarenko et al., 2014).

¹ Acute Myocardial Infarction

بهبود درمان‌های تایید شده و توسعه رویکردهای بیشتر برای درمان بیماران مبتلا به نارسایی قلبی پس از MI به شدت مورد نیاز است (Popov et al., 2023). امروزه با پیشرفت علوم پایه و مهندسی بافت، سلول درمانی روشی جدید و جایگزین برای بیشتر بیماری‌های مزمن، مادرزادی و اکتسابی محسوب می‌شود. با عمومیت پیدا کردن سلول درمانی، علاوه بر افزایش طول عمر، زندگی سالمتری به انسان‌ها نوید داده می‌شود. یک رویکرد برای بازیابی میوکارد آسیب دیده پس از MI به درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی اشاره دارد. سلول‌های بنیادی به عنوان یک کاندید امیدبخش برای درمان بیماری‌های ایسکمیک قلب محسوب می‌شوند، زیرا این سلول‌ها منبع نامحدودی از سلول‌های قلبی، سلول‌های اندوتلیال و انواع دیگر سلول‌های تمایز یافته برای استفاده در تمام مراحل ترمیم محسوب می‌شوند (khanabadali et al., 2016). مطالعات زیادی بر روی حیوانات و انسان‌ها برای ارزیابی انواع مختلف سلول و توانایی آنها در ترمیم آسیب‌های قلبی و عروقی در تنظیمات MI، کاردیومیوپاتی و غیره انجام شده است. بر اساس یک متآنالیز توسط فیشر و همکاران، درمان با BM-MNC باعث افزایش $LVEF \uparrow 2.72\%$ بعد از AMI می‌شود (khanabadali et al., 2016). شواهد نشان می‌دهد برنامه‌های توانبخشی مبتنی بر تمرینات بدنی بعد از رخداد حوادث قلبی عروقی تأثیر مهمی بر کاهش میزان مرگ و میر و بهبود شرایط زندگی در این بیماران دارد. توانبخشی قلبی یک جزء اساسی و مهم در برنامه مراقبتی بیماران دچار انفارکتوس قلبی است. توانبخشی قلبی مبتنی بر ورزش یک روش سیستماتیک شامل تمرینات ورزشی و درمان عوامل خطر ساز به همراه ارزیابی و کنترل منظم بیماران است (Abell et al., 2017). تمرین ورزشی با افزایش ظرفیت پرفیوژن میوکارد و با عملکرد طبیعی یا افزایش انقباض در قلب طبیعی همراه است (Calvert et al., 2013). نشان داده شده است که تمرینات هوازی باعث کاهش اختلال عملکرد قلب پس از انفارکتوس میوکارد در موش‌های تمرین شده می‌شود و ورزش یکی از قوی‌ترین محرک‌ها برای ایجاد تحمل به آسیب ایسکمی/خون‌رسانی مجدد است. همچنین مطالعه‌های انسانی و حیوانی متعددی گزارش کرده‌اند پس از ابتلا به انفارکتوس میوکارد، اجرای منظم فعالیت ورزشی به بهتر شدن عملکرد قلبی-عروقی کمک می‌کند و موجب کاهش اختلال‌های بطن چپ می‌شود. شاید بتوان اثرات مفید ورزش بر عملکرد قلب را می‌توان به تنظیم مثبت بیان و فعالیت اکسید نیتریک اندوتلیال سنتاز (eNOS) ناشی از ورزش نسبت داد. NO درون‌زا اثرات محافظتی قلبی ورزش را در زمینه آسیب ایسکمی/خون-رسانی مجدد میوکارد واسطه می‌کند (Soufi et al., 2011). علیرغم پیشرفت‌های زیادی که در این حوزه تحقیقاتی صورت گرفته است، هنوز هم در مورد چگونگی آثار حفاظتی تمرینات ورزشی و سلول‌های بنیادی بر قلب ابهاماتی وجود دارد. هم چنین مکانیسم تأثیر تمرینات ورزشی و سلول‌های بنیادی بر فاکتورهای پیشگوئی کننده نظیر آپلین و همچنین عملکرد قلبی در بیماری‌های ایسکمیک قلبی به درستی شناخته نشده است. بنابراین با توجه به این که تمرینات ورزشی و سلول‌های بنیادی ممکن است اثرات مفیدی بر بیماری‌های قلبی عروقی در مرحله پس از انفارکتوس داشته باشند و یافتن موثرترین روش برای دستیابی به این هدف (یعنی دقیق بودن استراتژی‌های مبتنی بر ورزش با توجه به تکرار، شدت، نوع، مدت زمان تمرین) یک نگرانی بالینی است؛ لذا پژوهش حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که ۱۰ هفته تمرین هوازی پس از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر مقادیر آپلین ۱۳ و برونده قلبی موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس قلبی چه تأثیری دارد؟

روش‌شناسی تحقیق

این مطالعه تجربی با طرح پس آزمون همراه با گروه کنترل انجام شد. در این پژوهش ۶۰ سر موش صحرایی نر ویستار با دامنه سنی ۷-۸ هفته به عنوان نمونه پژوهش خریداری و در آزمایشگاه استاندارد ویژه جوندگان در شرایط دمای بین ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵٪ تا ۶۰٪ درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و با در دسترس بودن آب و غذا نگهداری و کنترل می‌شدند. تمام حیوانات به منظور آشناسازی با تردمیل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه دویدند که این پروتکل به مدت سه روز در هفته انجام شد. پس از آشنایی با شرایط آزمایشگاهی در هفته اول و انجام تمرینات آشناسازی در هفته دوم، موش‌ها به صورت تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل سالم، کنترل بیمار، شم، سلول، تمرین و سلول+تمرین بود. گروه کنترل سالم (گروهی که تعیین کننده مقادیر پایه می‌باشد و در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند)، کنترل بیمار (گروهی که در آن‌ها بیماری انفارکتوس قلبی ایجاد شد)، شم (گروهی که تنها سالیان را به صورت درون وریدی جهت تعیین اثر تزریق دریافت کردند و در طول آزمایش در قفس نگهداری شدند) گروه سلول (گروهی که تحت پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی قرار گرفتند)، گروه تمرین (گروهی که ۱۰ هفته تمرین هوازی انجام دادند) و گروه سلول+تمرین (گروهی که علاوه بر اینکه تحت پیوند سلول‌های بنیادی قرار گرفتند و ۱۰ هفته تمرین هوازی هم داشتند). تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این تحقیق تحت نظارت کمیته اخلاق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد مصوب IR.IAU.SARI.REC.1401.219 رعایت شد. ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم (۵۰ mg/kg ip) بیهوش شدند. ناحیه قفسه سینه آن کاملاً تراشیده شده و روی تخت جراحی قرار داده شد و ۲۰۰ U/kg هپارین تزریق گردید. گردن حیوان طوری قرار داده شد تا دست یابی به نای برای انتوبه کردن تسهیل شود. بعد از انتوبه کردن، حیوان به دستگاه ونتیلاتور (Small Animal Ventilator, Harvard Model 683-USA) متصل گردید. سپس برشی روی قفسه سینه در فضای بین دنده‌ای چهارم چپ ایجاد کرده تا قلب در معرض دید قرار بگیرد. لازم به ذکر است که در این مرحله باید با دقت برش اعمال می‌گردد تا به ریه چپ و یا قلب آسیبی نرسد. سپس پریکارد را به آرامی پاره کرده و نخ سیلک ۰/۶ با دقت از زیر شریان کرونری قدامی نزول چپ عبور داده شد. کشیدن و بستن نخ موجب ایسکمی دائمی شد. جهت اطمینان از انفارکته شدن موش از ثبت لید II الکتروکاردیوگرام دستگاه پاورلب استفاده شد (HARVARD - USA). دمای بدن حیوان در حین عمل جراحی به وسیله پد حرارتی در دامنه 37 ± 1 درجه سانتیگراد حفظ شد. بعد از به هوش آمدن کامل، حیوانات در قفس قرار گرفته و آب و غذا در اختیارشان قرار داده شد و به حیوان خانه منتقل شدند (Ranjbar et al., 2015).

به منظور جداسازی سلول‌های بنیادی مغز استخوان، از ۵ سر موش صحرایی نر ۶ هفته‌ای نژاد ویستار استفاده شد. بدین منظور، تحت بیهوشی کامل، استخوان ران و درشتنی موش‌ها خارج شد. سپس مغز استخوان استخراج و در دور ۱۲۰۰ (rpm) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سلول‌های جدا شده در محیط کشت α -MEM (PAA)، حاوی FBS ده درصد و آنتی بیوتیک پنسیلین + استرپتومایسین یک درصد کشت داده شد. پس از ۳ پاساژ مکرر، سلول‌های بنیادی مزانشیمی چسبیده به کف فلاسک با تریپسین جدا و با دور rpm ۱۲۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس سلول‌های بنیادی مزانشیمال با تکنیک ایمونوسیتوکمیستری با آنتی بادی CD71 و CD90 مورد تایید قرار گرفت. سپس بعد از شستشو سلول‌ها با PBS و پیتاژ کردن در

محیط کشت با استفاده از لام نئوبار، حدود 10^6 سلول در ۱ میکرولیتر محیط (PBS) برای هر موش از طریق سیاهرگ دمی بلافاصله بعد از القاء انفارکتوس قلبی تزریق شد (Freitas et al., 2019). موش‌های گروه تمرینی قبل از شروع پروتکل، ۱ هفته، طی ۵ جلسه به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه با شیب صفر، جهت آشنایی با نوارگردان به تمرین پرداخته بودند. برنامه تمرینی اصلی، ۴ هفته پس از ایجاد سکتة قلبی و تزریق سلول بنیادی شروع شد. موش‌های گروه تمرینی به مدت ۱۰ هفته تمرین هوازی را با شدت ۱۷ متر بر دقیقه که معادل ۵۵ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود انجام دادند. برنامه تمرینی شامل دویدن بر روی تردمیل به مدت ۵۰ دقیقه برای ۵ روز در هفته در نظر گرفته شد (Ranjbar et al., 2015). شیب تردمیل از هفته اول تا دهم به تدریج از صفر تا ۱۰ درصد افزایش یافت.

یک روز بعد از پایان ۱۰ هفته تمرین، اندازه‌گیری‌های اکوکاردیوگرافی برای سنجش برون ده قلبی به وسیله دستگاه اکوکاردیوگرافی مدل M-Mode (GE-VIVID-7, Version-5, USA) مجهز به ترانس دیوسر ۱۰MHz و در نمای محور بلند قلب به دست آمد. اندازه‌گیری و محاسبه پارامترهای مختلف اکوکاردیوگرافی بر اساس پیشنهادات انجمن اکوکاردیوگرافی آمریکا انجام و تمام اندازه‌گیری‌ها توسط یک فرد متخصص صورت گرفته شد. مقادیر حجم ضربه‌ای (حجم پایان سیستولی بطن چپ - حجم پایان دیاستولی بطن چپ = حجم ضربه‌ای) و برون ده قلبی (حجم ضربه ای \times ضربان قلب) سه مرتبه اندازه‌گیری و میانگین آنها ثبت گردید (Ranjbar et al., 2015).

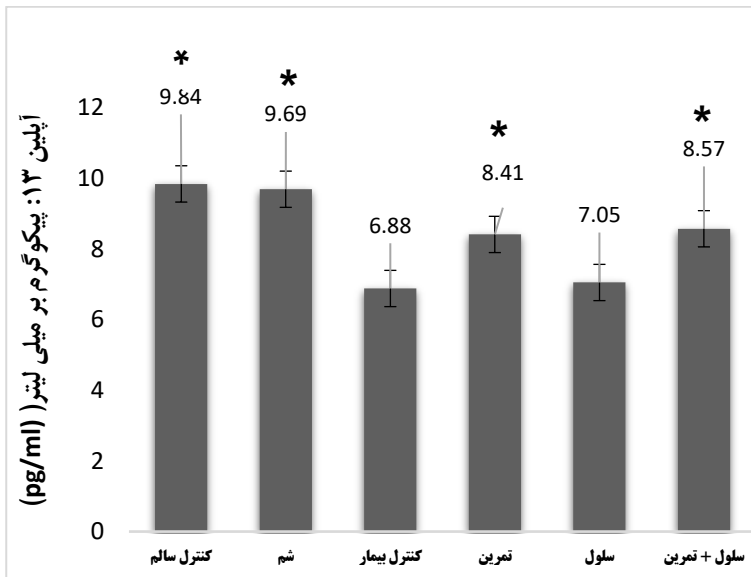
بلافاصله پس از اندازه‌گیری اکوکاردیوگرافی، موش‌ها با تزریق دوز بیشتر داروی بیهوشی تیوپنتال سدیم به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند. سپس پس از بیهوشی کامل حیوان و ارزیابی میزان بی‌هوشی توسط فشردن انگشتان پا، ناحیه قفسه سینه باز و به میزان ۳ میلی لیتر خون با استفاده از سرنگ ۵ سی سی، مستقیماً از قلب آزمودنی‌ها گرفته شد. خون به وسیله سرنگ با فشار یکنواخت در جدار داخلی لوله فاقد EDTA (ماده ضد انعقاد) آزمایش تخلیه و نمونه‌ها تا زمان انتقال به آزمایشگاه در کنار یخ نگهداری شدند تا منعقد گردند. سپس بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ، میزان غلظت شاخص‌های تحقیق به وسیله کیت‌های آزمایشگاهی مربوطه اندازه‌گیری شد. تمامی کارهای آزمایشگاهی در مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری از آمار توصیفی و استنباطی استفاده شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) برای بررسی تغییرات بین گروهی استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها، به منظور روشن نمودن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $P < 0.05$ استفاده گردید. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام شد.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که افزایش معناداری در سطوح آپلین ۱۳ و برون ده قلبی در گروه‌های مورد مطالعه وجود دارد ($p < 0.05$) (شکل ۱ و ۲). نتایج نشان داد که القاء انفارکتوس میوکارد موجب کاهش معنادار در سطوح آپلین ۱۳ و برون‌ده قلبی در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم شد ($p < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد سلول‌های بنیادی افزایش معنادار سطوح آپلین ۱۳ و برون ده قلبی در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل بیمار شد ($p < 0.05$). تمرین هوازی نیز موجب روند افزایشی در سطوح آپلین ۱۳

و برون‌ده قلبی در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه بیمار شد ($p < 0.05$). اثر تعاملی سلول‌های بنیادی و تمرین هوازی موجب افزایش بیشتر در سطوح سرمی اپلین ۱۳ و برون‌ده قلبی در گروه ترکیبی در مقایسه با سایر گروه‌ها شد. با توجه به این که اندازه گروه تعاملی بیشتر از جمع اثر تمرین و مکمل به تنهایی است؛ بنابراین نتایج نشان می‌دهد که سلول‌های بنیادی و تمرین هوازی دارای اثر هم‌افزایی در افزایش اپلین ۱۳ و برون‌ده قلبی در موش‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد می‌باشند ($p < 0.05$).

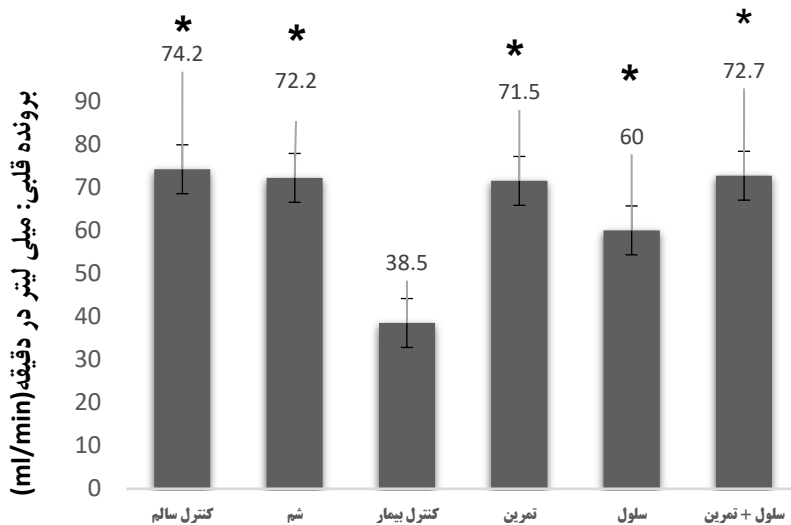


شکل ۱: مقایسه میانگین سرمی اپلین ۱۳ در گروه‌های مورد مطالعه

* تفاوت معنادار با گروه بیمار ($P < 0.05$)

بحث و بررسی:

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که القاء انفارکتوس میوکارد موجب کاهش سطوح سرمی اپلین ۱۳ و برون‌ده قلبی در موش‌های بیمار در مقایسه با گروه سالم شد. تحقیقات مختلفی به ارتباط سطوح اپلین به عنوان فاکتور پیشگوئی کننده بیماری‌های قلبی عروقی پرداختند. گوزلبرگ و همکاران به بررسی سطوح اپلین و نارسایی قلبی پرداختند که نتایج نشان‌دهنده کاهش سطح پلاسمایی اپلین در بیماران با نارسایی قلب بود که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد (Guzelburc et al., 2021). همچنین اسدپور و همکاران در پژوهش خود به بررسی مقایسه سطوح اپلین در بیماران قلبی با فیبریلاسیون دهلیزی پرداختند. نتایج این تحقیق نیز حاکی از کاهش سطح پلاسمایی اپلین در بیماران فیبریلاسیون دهلیزی در مقایسه با گروه کنترل بود که همراستا با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (Asadpour et al., 2010). شاید بتوان گفت که کاهش سطح اپلین می‌تواند به عنوان یک عامل مهم پیش‌بینی کننده در بیماران با نارسایی قلب باشد. همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سطح سرمی اپلین ۱۳ و برون‌ده قلبی بعد از ۱۰ هفته تمرین هوازی در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه بیمار افزایش معناداری یافت.



شکل ۲: مقایسه سطوح برونده قلبی در گروه‌های مورد مطالعه
* تفاوت معنادار با گروه بیمار ($P < 0.05$)

طالب فر و همکاران در پژوهش خود به بررسی مقایسه تمرینات هواری تناوبی و تداومی به همراه تمرین مقاومتی دمی بر اپلین و سیستم رنین آنژیوتانسین در مردان مبتلا به نارسایی قلبی پرداختند. نتایج حاکی از افزایش سطوح اپلین در بیماران قلبی بعد از انجام هر دو نوع تمرینات بود که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد (Talebfar et al., 2022). همچنین شفافبخش و همکاران به بررسی تاثیر تمرین هواری بر بیان ژن اپلین در عضله اسکلتی موش صحرایی و بیستار پرداختند. نتایج نشان داد بیان ژن اپلین در گروه تمرینی افزایش یافت که همراستا با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (Shafabakhsh et al., 2023). مکانیسم‌های فیزیولوژیکی برای محافظت قلبی ناشی از تمرینات هواری در برابر آسیب‌های ایسکمی به طور دقیق مشخص نشده است، اما پیشنهاد شده است که مکانیسم‌هایی مانند تغییرات در گردش خون کرونر، بیان پروتئین‌های استرس شبکه آندوپلاسمی، افزایش فعالیت سیکلواکسیژناز-۲ القای پروتئین‌های شوک حرارتی میوکارد، بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قلب و افزایش کانال‌های پتاسیم حساس به ATP ممکن است در این محافظت قلبی نقش داشته باشد. توسعه عروق کرونر جانبی نیز می‌تواند نقش مهمی در ایجاد محافظت قلبی در برابر آسیب میوکارد ناشی از ایسکمی/خون‌رسانی مجدد ایفا کند و ورزش مزمن می‌تواند رگ‌زایی را در برخی از مدل‌های حیوانی ترویج کند. همچنین مکانیسم‌های وابسته به NO نیز می‌تواند از میوسیت‌های قلبی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی/خون‌رسانی مجدد محافظت کند (Nazari et al., 2018). سبحانی و همکاران در پژوهشی به بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هواری و مکمل‌دهی چای سبز بر سطوح پلاسمایی اپلین و مقاومت به انسولین زنان سالمند مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداختند. نتایج نشان داد که تمرینات هواری تاثیری بر سطح پلاسمایی اپلین نداشت که با نتایج تحقیق حاضر ناهمسو می‌باشد. احتمال دارد تناقض در یافته‌های پژوهش حاضر با تحقیق سبحانی و همکاران به طول دوره تمرینات و سطح

اولیه اپلین مربوط باشد. در تحقیق سبحانی و همکاران ۸ هفته تمرینات هوازی استفاده شد؛ در حالی که در پژوهش حاضر تمرینات به مدت ۱۰ هفته ادامه یافت. همچنین در تحقیق حاضر القاء انفارکتوس میوکارد موجب کاهش سطح اپلین شده که احتمال دارد بخشی از افزایش سطوح اپلین ناشی از فعالیت بدنی، به سطح اولیه ناشی از اثر انفارکتوس میوکارد مربوط باشد (Sobhani et al., 2019). همچنین نتایج نشان داد که برون ده قلبی در گروه‌های تمرینی افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل داشت. لازم به ذکر است که کاهش اندازه انفارکتوس (اثر ضد نکروز)، کاهش تعداد و شدت آریتمی‌های قلبی (اثر ضد آریتمی) و بهبود عملکرد انقباضی (محافظت در برابر اختلال انقباضی) از مهم‌ترین اثرات محافظت قلبی اپلین ۱۳ می‌باشد. احتمال دارد تمرین ورزشی بتواند از طریق افزایش Apelin-13 عملکرد انقباضی را بهبود بخشد و موجب افزایش برون‌ده قلبی شود. مکانیسم‌های واسطه اثرات محافظتی اپلین ممکن است از طریق تنظیم کردن eNOS باشد. در این زمینه، مطالعه قلبی نشان داد که اپلین تولید ROS و محتوای MDA را کاهش داده و فعالیت SOD را افزایش داده و در تنظیم مثبت پراکسیداسیون لیپیدی در مدل‌های *in vivo* و *in vivo* آسیب ایسکمی/خون‌رسانی مجدد میوکارد نقش دارد. در طول ایسکمی/خون‌رسانی مجدد همچنین نشان داده شد که اپلین می‌تواند اختلال عملکرد قلبی ناشی از ایسکمی/خون‌رسانی مجدد را از طریق افزایش تشکیل NO بهبود بخشد و عمل اپلین-۱۳ در محافظت از قلب در برابر آسیب ایسکمی/خون‌رسانی مجدد درگیر مکانیسم‌های وابسته به NO است (Mughal et al., 2018). در تحقیقات آمده است که تزریق داخل وریدی اپلین-۱۳ برون‌ده قلبی و حجم ضربه‌ای را در موش‌های بیهوش به ترتیب ۱۵ و ۱۲ درصد افزایش داد. افزایش دوز، اثر اینوتروپیک مثبت apelin-13 را افزایش نداد. احتمال دارد این اثر از طریق پروتئین‌های ERK1/2, κ -OR, PKC, PLC و SERCA انجام شده باشد (Gargalovic et al., 2021). همچنین اپلین در تنظیم تون عروق نقش دارد. تحقیقات اخیر نشان داده است که پس از تجویز اپلین در موش‌های صحرایی باعث کاهش فشار خون و تقویت عملکرد قلب می‌شود (Popov et al., 2023). همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از سلول‌های بنیادی موجب افزایش اپلین ۱۳ و برون ده قلبی در گروه سلول بنیادی و ترکیبی در مقایسه با گروه بیمار شد. درمان مبتنی بر MSC سال‌ها به‌عنوان یک درمان بالقوه برای MI مورد بررسی قرار گرفته است (Yan et al., 2020). اپلین یک آدیپوکین است که به طور گسترده در سلول‌های پستانداران از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های ماهیچه صاف عروقی بیان می‌شود (Wang et al., 2019). طبق گزارش‌ها، اپلین در تنظیم اثرات بیولوژیکی مختلف از جمله ادغام ایمنی، هموستاز سلولی و فعالیت‌های قلبی عروقی نقش دارد (Foroughi et al., 2019). همچنین می‌تواند بقای سلول‌های بنیادی مزانشیمی را تحت چالش هیپوکسیک-ایسکمیک در شرایط آزمایشگاهی افزایش دهد، که نشان می‌دهد اپلین نقش مهمی در تنظیم بیولوژی MSC ایفا می‌کند (Hou et al., 2017). اپلین رگ‌زایی سلولی را واسطه می‌کند، بیان بیش از حد اپلین ظرفیت رگ‌زایی MSC را افزایش می‌دهد. قابل ذکر است، پیوند Apelin-MSCs تراکم مویرگی نواحی ایسکمیک را بهبود بخشد. نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که افزایش سطح Apelin ممکن است سلول‌های MSC را جوان کند و اثرات درمانی امیدوارکننده‌ای به دنبال MI به همراه داشته باشد (Zhang et al., 2021). این احتمال وجود دارد که همراه با تزریق سلول‌های بنیادی، تمرینات ورزشی منظم باعث مکان‌یابی سلول‌های بنیادی شده و رشد سلول‌های بنیادی را تحریک می‌نماید. به طور دقیق‌تر، همزمان با پیوند سلول‌های بنیادی، فعالیت منظم ورزشی از طریق فعال کردن ژن‌های

رگ ساز، فاکتورهای سازنده عروق، ژن ضد آپوپتوزیس، فعالیت تلومرازها را بهبود می‌بخشد. فاکتورهایی مانند GCSF و SDF1، VEGF، GM.PGF، سایتوکاین‌ها، پروتئین‌های عامل تحریک سلولی، فاکتورهای رشد دهنده جفت و فاکتور تحریک کننده تجمع گرانولوسیت‌ها باعث انتقال سلول‌های بنیادی به محل آسیب دیده می‌شوند (Zahiri et al., 2019). با توجه به نتایج تحقیق حاضر احتمال دارد که استفاده از سلول‌های بنیادی و تمرینات ورزشی احتمال دارد از طریق افزایش کسر تزریقی، کاهش حجم پایان سیستولی و همچنین روند رگ زایی و افزایش خون رسانی در ناحیه ایسکمی در بهبود روند توان بخشی در بیماران با انفارکتوس حاد میوکارد موثر باشد. به دلیل محدودیت‌هایی که در پژوهش حاضر وجود داشته، بررسی کامل مکانیسم‌های سلولی مرتبط با نقش تمرین هواری و سلول‌های بنیادی بر فاکتورهای مرتبط با آپلین ۱۳ از جمله عوامل آنژیژنز، وازودیلاتورها، همچنین فاکتورهای اکسایشی و آنتی اکسیدانی و ... در قلب مقدر نبود. همچنین تحقیق در خصوص عوامل مرتبط با ساختار و عملکرد قلبی می‌تواند نتایج امیدوارکننده‌ای در درک بیشتر از نقش احتمالی آپلین به همراه داشته باشد. از این رو انتظار می‌رود که محققان در پژوهش‌های آینده، بر روی مکانیسم‌های اثر تمرین هواری بر موارد فوق مطالعاتی انجام دهند.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ۱۰ هفته تمرین هواری پس از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی باعث افزایش مقادیر آپلین ۱۳ و برون‌ده قلبی شد. احتمال دارد تمرین ورزشی بتواند از طریق افزایش Apelin-13 عملکرد انقباضی را بهبود بخشد و موجب افزایش برون‌ده قلبی شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله مقطع دکتری با کد اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1401.219 از دانشگاه آزاد اسلامی ساری میباشد. بدینوسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

منابع

- Abell, B., Glasziou, P., & Hoffmann, T. (2017). The Contribution of Individual Exercise Training Components to Clinical Outcomes in Randomised Controlled Trials of Cardiac Rehabilitation: A Systematic Review and Meta-regression. *Sports medicine - open*, 3(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s40798-017-0086-z>.
- Asadpour Piranfar Mohammad, Amir Hamzeh Pardal, Maryam Afshar, Mohammadreza Beyranvand. Comparing the Serum Level of Apelin in Patients with Lone Atrial Fibrillation and their Control Group. *pajoochande* 2010; 15 (2) :83-87
- Attar, A., Bahmanzadegan Jahromi, F., Kavousi, S. *et al*. Mesenchymal stem cell transplantation after acute myocardial infarction: a meta-analysis

- of clinical trials. *Stem Cell Res Ther* 12, 600 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02667-1>
- Azizi Y, Faghihi M, Imani A, et al. Post-infarct treatment with apelin-13 improves myocardial function by increasing neovascularization and overexpression of angiogenic growth factors in rats. *European journal of pharmacology*. 2015; 761:101-108.
- Calvert JW, Lefer DJ. Role of beta-adrenergic receptors and nitric oxide signaling in exercise-mediated cardioprotection. *Physiology (Bethesda, Md.)*. Jul 2013;28(4):216-224.
- Fernandez, K.X.; Fischer, C.; Vu, J.; Gheblawi, M.; Wang, W.; Gottschalk, S.; Iturrioz, X.; Llorens-Cortés, C.; Oudit, G.Y.; Vederas, J.C. Metabolically stable apelin-analogues, incorporating cyclohexylalanine and homoarginine, as potent apelin receptor activators. *RSC Med. Chem.* 2021, 12, 1402–1413.
- Fisher SA, Zhang H, Doree C, Mathur A, Martin-Rendon E. Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015(9): Cd006536.
- Foroughi, K., Khaksari, M., Rahmati, M., Bitaraf, F. S., and Shayannia, A. (2019). Apelin-13 Protects PC12 Cells Against Methamphetamine-Induced Oxidative Stress, Autophagy and Apoptosis. *Neurochem. Res.* 44, 2103–2112. doi: 10.1007/s11064-019-02847-9.
- Gargalovic, P.; Wong, P.; Onorato, J.; Finlay, H.; Wang, T.; Yan, M.; Crain, E.; St-Onge, S.; Héroux, M.; Bouvier, M.; et al. In vitro and in vivo evaluation of a small-molecule APJ (apelin receptor) agonist, BMS-986224, as a potential treatment for heart failure. *Circ. Heart Fail.* 2021, 14, e007351.
- Guzelburc, O., Demirtunc, R., Altay, S., Kemalolu Oz, T., & Tayyareci, G. (2021). Plasma apelin level in acute myocardial infarction and its relation with prognosis: A prospective study. *JRSM cardiovascular disease*. <https://doi.org/10.1177/2048004020963970>.
- Hou, J., Zhong, T., Guo, T., Miao, C., Zhou, C., Long, H., et al. (2017). Apelin promotes mesenchymal stem cells survival and vascularization under hypoxic-ischemic condition in vitro involving the upregulation of vascular endothelial growth factor. *Exp. Mol. Pathol.* 102, 203–209. doi: 10.1016/j.yexmp.2017.01.015
- Japp, A.G.; Cruden, N.L.; Barnes, G.; van Gemeren, N.; Mathews, J.; Adamson, J.; Johnston, N.R.; Denvir, M.A.; Megson, I.L.; Flapan, A.D.; et al. Acute cardiovascular effects of apelin in humans: Potential role in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2010, 121, 1818–1827.

- Khanabdali R, Rosdah AA, Dusting GJ, Lim SY. Harnessing the secretome of cardiac stem cells as therapy for ischemic heart disease. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2016;113(January):1–11.
- Mohammadi, M., Mohamadi, M., Moradi, A., Ramawad, H. A., Gharin, P., Azizi, Y., & Yousefifard, M. (2022). Apelin as a Candidate for Hypertension Management; a Systematic Review and Meta-Analysis on Animal Studies. *Archives of academic emergency medicine*, 10(1), e90. <https://doi.org/10.22037/aaem.v10i1.1704>
- Mughal, A.; Sun, C.; O'Rourke, S.T. Activation of large conductance, calcium-activated potassium channels by nitric oxide mediates apelin-induced relaxation of isolated rat coronary arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2018, 366, 265–273.
- Nazari, A., Zahabi, K., Azizi, Y., & Moghimian, M.. (2018). Effects of exercise combined with apelin-13 on cardiac function in the isolated rat heart. *Revista Brasileira Brasileira De Medicina Do Esporte*, 24(4), 273–279. <https://doi.org/10.1590/1517-869220182404175002>.
- Pisarenko OI, Lankin VZ, Konovalova GG, et al. Apelin-12 and its structural analog enhance antioxidant defense in experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem* 2014;391(1-2):241-250.
- Popov, S. V., Maslov, L. N., Mukhomedzyanov, A. V., Kurbatov, B. K., Gorbunov, A. S., Kilin, M., Azev, V. N., Khlestkina, M. S., & Sufianova, G. Z. (2023). Apelin Is a Prototype of Novel Drugs for the Treatment of Acute Myocardial Infarction and Adverse Myocardial Remodeling. *Pharmaceutics*, 15(3), 1029. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15031029>
- Ranjbar k, Nazari A, Nazem F, Effect of exercise training and L-arginine supplementation on oxidative stress and left ventricular function in rats with myocardial infarction. *Physiology and Pharmacology*, 18 (4), 445-454 [Article in Persian].
- Shafabakhsh S R, kazemzadeh Y, Shirvani H, Mirzaiyan Shanjani S, Sedaghati S. Investigating the impact of aerobic training on myokine gene expression in the skeletal muscle of wistar rats. *Jorjani Biomed J* 2023; 11 (1) :20-24
- Sobhani F, Haghshenas R, Rahimi M. Effect of Eight Weeks Aerobic Training and Supplementation of Green Tea on Apelin Plasma Levels and Insulin Resistance in Elderly Women with Type 2 Diabetes. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 28 (170) :84-93.
- Soufi FG, Saber MM, Ghiassie R, Alipour M. Role of 12-week resistance training in preserving the heart against ischemia-reperfusion-induced injury. *Cardiol J.* 2011;18(2):140-145.

- Talebifard, Hamid, Asgharpour, Habib, Rezaei Shirazi, Reza, (2022) Comparison of the effect of intermittent and continuous aerobic exercises along with inspiratory resistance training on apelin 17 and renin-angiotensin system in men with heart failure. *Two Quarterly Journals of Movement Physiology and Health*, 2(2), 75-86.
- Wang, W., Shen, M., Fischer, C., Basu, R., Hazra, S., Couvineau, P., et al. (2019). Apelin protects against abdominal aortic aneurysm and the therapeutic role of neutral endopeptidase resistant apelin analogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 116, 13006–13015. doi: 10.1073/pnas.1900152116
- Yan, W., Lin, C., Guo, Y., Chen, Y., Du, Y., Lau, W. B., et al. (2020). N-Cadherin Overexpression Mobilizes the Protective Effects of Mesenchymal Stromal Cells Against Ischemic Heart Injury Through a β -Catenin-Dependent Manner. *Circ. Res.* 126, 857–874. doi: 10.1161/circresaha.119.315806
- Zahiri, M, Parviz, Sh, , Hosseini, SJ. (2019). The use of stem cells in the treatment of heart attack. *Journal of Advanced Biomedical Sciences, Fasa University of Medical Sciences*, 10(2), 2206-2225. SID. <https://sid.ir/paper/366631/farsi>.
- Zhang, H., Zhao, C., Jiang, G., Hu, B., Zheng, H., Hong, Y., Cui, Z., Shi, L., Li, X., Lin, F., Ding, Y., Wei, L., Li, M., Liang, X., & Zhang, Y. (2021). Apelin Rejuvenates Aged Human Mesenchymal Stem Cells by Regulating Autophagy and Improves Cardiac Protection After Infarction. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 628463. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.628463>
- Zhong, S.; Guo, H.; Wang, H.; Xing, D.; Lu, T.; Yang, J.; Wang, C. Apelin-13 alleviated cardiac fibrosis via inhibiting the PI3K/Akt pathway to attenuate oxidative stress in rats with myocardial infarction-induced heart failure. *Biosci. Rep.* 2020, 40, BSR20200040

The Effect of 10 Weeks of Aerobic Training After Mesenchymal Stem Cells Transplantation on Apelin 13 Levels and Cardiac Output in Heart Infarction Model Rats

Fatemeh Kolbadinezhad, Abdollah Hashemvarzi*, Abdolreza Jafari Chashmi

Exercise Physiology Department, Faculty of Humanities, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

*Corresponding author: hashemvarzi_tkd@yahoo.com

Abstract

Objectives: The use of mesenchymal stem cells and the positive effects of exercise training have been noticed today in the treatment of various diseases, including heart infarction. The purpose of this research was to investigate the effect of 10 weeks of aerobic training after mesenchymal stem cell transplantation on the Apelin 13 and cardiac output of heart infarction model rats.

Methods: In this experimental study, 60 male rats were used and divided into 6 groups of 10 each, healthy control group, patient control, sham, cell, exercise and cell+exercise. To cause cardiac infarction, the anterior descending artery was completely blocked using 0.6 silk thread. After extracting stem cells, using Neobar slide, about 106 cells were injected for each mouse through the tail vein immediately after induction of cardiac infarction. Rats in the training group performed aerobic training with an intensity of 17 meters per minute for 10 weeks. Cardiac output and Apelin level 13 were measured.

Results: The findings showed that the induction of cardiac infarction caused a significant decrease in the levels of apelin 13 and cardiac output in the patient group compared to the healthy control group ($p<0.05$). Aerobic training and stem cells significantly increased the level of apelin 13 and cardiac output in experimental groups (exercise and stem cells) compared to the control group (patient) ($p<0.05$).

Conclusion: The results of this research showed that 10 weeks of aerobic training after mesenchymal stem cell transplantation may improve contractile function and increase cardiac output through the increase of Apelin-13.

Key words: Aerobic Training, Mesenchymal Stem Cell, Apelin 13, Cardiac Output, Cardiac Infarction.