Original Paper

Effect of endurance training and glucosamine consumption on gene expression of IGF-1 and IGFBP-3 in knee tissue of mice with acuteosteoarthritis

Mahnaz Alinejad, Ph.D Candidate in Sport Physiology _ Cardiovascular and Respiration, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
ORCiD 0000-0003-2156-7340

***Alireza Barari (Ph.D)**, Corresponding Author, Associate Professor, Department of Sport Physiology , Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. E-mail: alireza54.barari@gmail.com ORCiD 0000-0001-5199-463X

Asieh Abbasi Daloii (Ph.D), Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
ORCiD 0000-0003-0746-0299

Parvin Farzanegi (Ph.D), Associate Professor, Department of Sport Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran. ORCiD 0000-0003-2182-3068

Abstract

Background and Objective: Knee osteoarthritis is one of the most common causes of musculoskeletal disability. This study was performed to determine the effect of endurance training and glucosamine consumption on Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP-3) gene expression in knee tissue of mice with osteoarthritis.

Methods: This experimental study was performed on 30 adult male Wistar rats. Induction of osteoarthritis of the knee was performed by surgery. The animals were randomly allocated into 5 groups and each group consisted of 6 mice. Groups include: Control, Saline, glucosamine, train and train-glucosamine. The training program for eight weeks, three sessions per week and included 29-25 minutes running on a treadmill at a speed of 15 m/ min for the first week, and each week one meter per minute was added to reach 22 m/min for the eighth week. All animals followed 12-hour fasting and 48 hours after the last session of the session, anesthetized with intraperitoneal injection of Ketamine and Xylosin. The expression of IGF-1 and IGFBP-3 of cartilage was measured by Real Time PCR.

Results: Expression of IGF-1 and IGFBP-3 increased to be 22% and 6% in control group compared to Saline group. Also, level of IGF-1 in exercise groups, glucosamine and exercise-glucosamine group was significantly increased compared to control group ($P<0.05$). The gene expression of IGFBP-3 in the exercise-glucosamine group was significantly increased compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: Probably Chondrocytes secrete higher levels of IGF-1 during tissue damage that causes the structural synthesis of collagen 2 and proteoglycans and Finally, endurance training with consumption of glucose amine increases the expression of IGFBP-3 gene.

Keywords: Endurance Training, IGF-1, IGFBP-3, Osteoarthritis

Received 15 Sep 2019 **Revised** 31 Dec 2019 **Accepted** 4 Jan 2020

Cite this article as: Alinejad M, Barari A, Abbasi Daloii A, Farzanegi P. [Effect of endurance training and glucosamine consumption on gene expression of IGF-1 and IGFBP-3 in knee tissue of mice with acuteosteoarthritis]. J Gorgan Univ Med Sci. 2020 Autumn; 22(3): 73-82. [Article in Persian]

تحقیقی

اثر تمرینات استقامتی و مصرف گلوکزآمین بر بیان ژن‌های IGF-1 و IGFBP-3 بافت زانوی موش‌های صحرایی مبتلا به استئوآرتریت حاد زانو

مهناز علی نژاد، دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی _ گرایش قلب و عروق و تنفس، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. ORCiD 0000-0003-2156-7340

* **دکتر علیرضا براری**، دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. ORCiD 0000-0001-5199-463X

دکتر آسیه عباسی دلویی، دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. ORCiD 0000-0003-0746-0299

دکتر پروین فرزانگی، دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. ORCiD 0000-0003-2182-3068

چکیده

زمینه و هدف: *استئوآرتریت زانو یا آرتروز یکی از شایع‌ترین دلایل ناتوانی عضلانی اسکلتی محسوب می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرینات استقامتی و مصرف گلوکزآمین بر بیان ژن‌های IGF-1 و IGFBP-3 بافت زانوی موش‌های صحرایی مبتلا به استئوآرتریت حاد زانو انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار انجام شد. القای استئوآرتریت زانو توسط روش جراحی انجام شد. حیوانات به صورت تصادفی در ۵ گروه ٦ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل کنترل، سالین، گلوکزآمین، تمرین و تمرین – گلوکزآمین بودند. برنامه تمرین به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته و شامل ۲۹-۲۵ دقیقه دویدن بر روی تردمیل و با سرعت ۱۵ متر در دقیقه برای هفته اول بود و هر هفته یک متر بر دقیقه اضافه شد تا در هفته هشتم به ۲۲متر بر دقیقه رسید. تمام حیوانات به دنبال ۱۲ ساعت ناشتایی و ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلوزین بیهوش شدند. بیان ژن های IGF-1 و IGFBP-3 بافت غضروف از طریق روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها: *سطح بیان ژن‌های IGF-1 و IGFBP-3 در گروه کنترل نسبت به گروه سالین به ترتیب به مقدار ۲۲درصد و ٦ درصد افزایش داشت. همچنین سطح IGF-1 در گروه‌های تمرین، گلوکزآمین و گروه تمرین - گلوکزآمین افزایش آماری معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل یافت (P<۰/۰۵). بیان ژن IGFBP-3 در گروه تمرین – گلوکزآمین در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *احتمالاً کندروسیت‌ها در هنگام آسیب بافتی، مقدار بیشتری IGF-1 ترشح می‌کنند که موجب سنتز ساختاری کلاژن ۲ و پروتئوگلیکان‌ها می‌گردد و تمرینات استقامتی به همراه مصرف گلوکز آمین سبب افزایش بیان ژن IGFBP-3 می‌گردد.*

کلید واژه‌ها: *تمرینات استقامتی ، IGF-1 ، IGFBP-3 ، استئوآرتریت*

* نویسنده مسؤول : دکتر علیرضا براری ، پست الکترونیکی alireza54.barari@gmail.com

نشانی: آمل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن و نمابر ۰۱۱-۴۳۲۱۷۱۲۶

وصول مقاله: ۱۳۹۸/٦/۲٤ ، اصلاح نهایی: ۱۳۹۸/۱۰/۱۰ ، پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۱۰/۱٤

مقدمه

استئوآرتریت یک بیماری غیرالتهابی مفصلی است که به‌وسیله تخریب غضروف مفصلی همراه با استخوان‌سازی جدید تظاهر می‌کند. مفصل زانو شایع‌ترین محل استئوآرتریت پس از انگشتان و مهره‌ها است (۱).

شیوع علایم استئوآرتریت زانو در ۱۲ درصد افراد آمریکایی که بالاتر از ۲۵ سال سن داشتند (۲) و تغییرات رادیوگرافی (بدتر از درجه ۲ شاخص Kellgren-Lawrence) در مفاصل زانو در ۴۲/۶ درصد مردان و ۶۲/۴ درصد زنان ژاپنی گزارش شده است (۳).

برای آرتروزو تاکنون درمانی یافت نشده است؛ اما می‌توان به کاهش وزن و عواملی دیگرکه نوید درمان می‌دهند و یا به عوامل موجود در خون مانند PRP یا استفاده از سلول‌های بنیادی اشاره کرد. در روش‌های ترمیمی غضروف در درمان آرتروز مشخص شده است که استئوآرتریت شامل چندین مسیر سلولی و مولکولی است که در تخریب تدریجی غضروف موثر است. فعال شدن پتانسیل ساخت غضروف و کاهش سرعت پیشرفت دژنراسیون، یکی از اهداف اصلی تحقیقات است. یکی از این شاخص‌ها، استفاده از سلول‌های بنیادی است (۴).

علایم شایع استئوآرتریت زانو درد، انقباض مفصلی، عدم تعادل و ضعف عضلانی است که منجر به کاهش تحرک می‌شود. محققان بر روی نقش‌های احتمالی سایتوکین‌ها و عوامل رشد در توسعه و پیشرفت استئوآرتریت متمرکز شده اند. فاکتور رشد شبه انسولینی ۱

(Insulin-Like Growth Factor 1: IGF-1) پلی‌پپتید ۷۰ اسید آمینه‌ای است که به‌طور تقریبی در ۵۰ درصد هماهنگی با انسولین اشتراک دارد. به‌طور کلی IGF-1 توسط کبد تولید می‌شود. اگرچه اکثر سلول‌های سوماتیک در بدن می‌توانند IGF-1 را تولید کنند. همچنین کندروسیت‌ها می‌توانند IGF-1 ترشح کنند و تولید آن را در شرایط استئوآرتریت افزایش دهند. گیرنده IGF-1 یک گیرنده تیروزین کیناز ویژه است که اثرات IGF-1 را از طریق سیگنالینگ درون سلولی میانجیگری می‌کند. سطح آزاد و در گردش خون IGF-1 توسط عوامل مختلفی تعیین می‌شوند. هورمون رشد که از هیپوفیز قدامی ترشح می‌شود؛ موجب تولید IGF-1 می‌شود. همچنین نشان داده شده هورمون‌های کلسی تروپیک مانند 1,25(OH)2Vit D3 نیز می‌توانند ترشح IGF-1 را افزایش دهند (۵و۶). در کندروسیت‌های استئوآرتریتی مبدل فاکتور رشد B (Transforming Growth Factor B) ترشح IGF-1 را تحریک می‌کند. بهرحال، مهم‌ترین فاکتوری که سطح IGF-1 را تحت تاثیر قرار می‌دهد؛ پروتئین متصل به IGF (Insulin-Like Growth Factor Binding Protein: IFGBP) است که در این میان IGFBP3 نقش مهم‌تری دارد. IGF-1 به IGFBP3 متصل می‌شود و به عنوان انبار گردش خون IGF-1 عمل می‌کند. IGFBP3 در ماتریکس سلولی غضروف مفصلی واقع شده و سطح آن در شرایط غضروف استئوآرتریتی تنظیم افزایشی دارد (۲). اگرچه این امکان وجود دارد که کاهش در توزیع IGF-1 در فلات میانی غضروف ۱۲ ماهه با افزایش در IGFBP3 مرتبط باشد؛ ثابت شده کاهش مستقل در سنتز IGF-1 توسط کندورسیت‌ها اتفاق افتاده است که کاهش نسبی در سطوح IGF-1 در غضروف را تقویت می‌کند (۷). Wandel و همکاران به بررسی ارتباط بین فاکتور رشد انسولینی۱ و تخریب غضروف استئوآرتریتی پرداختند. کاهش سطح IGF-1 ممکن است نقش حیاتی در نگهداری تعادل بین فرآیندهای کاتابولیک و انابولیک در متابولیسم غضروف مفصلی طی دوره استئوآرتریت داشته باشد و لذا این احتمال وجود دارد که افزایش در IGF-1 ممکن است در درمان استئوآرتریت پیشرونده کاربردی باشد (۵).

روش‌های درمانی به‌طور عمده به درمانی جراحی (آرتروپلاستی جراحی مفصل زانو) و غیرجراحی تقسیم می‌شوند. درمان‌های غیرجراحی شامل تزریق داخل مفصلی، داروهای خوراکی، پلاستر، ورزش و مکمل‌های خوراکی است. به‌عنوان یک داروی خوراکی استفاده از ترکیبات بیولوژیکی مانند هیالورون‌ها، کندروئیتین سولفات و گلوکزآمین به عنوان مکمل‌های خوراکی پیشنهاد شده است. گلوکزآمین جزء بیولوژیکی غضروف مفصلی است و در ایالات متحده آمریکا، اروپا و کشورهای آسیایی به عنوان مکمل همراه با کندروئیتین سولفات برای استئوآرتریت زانو شناخته شده است. آزمایش‌های متعدد و همچنین بررسی‌های سیستماتیک مربوط به گلوکزآمین انجام شده و نتایج متفاوتی نیز حاصل شده است. با این‌حال، تاکنون هیچگونه توافقی در مورد به‌کارگیری یا عدم به‌کارگیری از این مکمل در مجامع پزشکی دنیا بوجود نیامده است (۸و۹).

نقش مصرف مکمل گلوکزامین سولفات بر استئوآرتریت زانوی موش صحرایی مورد مطالعه قرار گرفته و تجزیه و تحلیل هیستولوژیک نشان داده که آزمودنی‌های گروه گلوکزامین، به‌شکل معنی‌داری کمتر از گروه کنترل، دچار دژنراسیون غضروف شده‌اند (۱۰). همچنین احتمالاً گلوکزامین موجب توقف التهاب غشای سینوویال و تنظیم متابولیسم کندروسیت‌ها، از طریق مهار جزء پایانی آنزیم پروتئین کیناز فعال شونده در اثر استرس‌آنزیم ERK (Extracellular signal-regulated kinase) شده است (۸). در مطالعه‌ای فرا تحلیلی که به وسیله Norman و همکاران انجام شد؛ آثار مصرف مکمل گلوکزآمین،کندروئیتین و ترکیب آنها با هم در بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو مورد بررسی قرارگرفت (۸). پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که مصرف این دو مکمل به طور مجزا یا به شکل ترکیبی، نسبت به گروه دارونما، موجب کاهش درد مفصل نشده و اثری روی کم شدن فضای مفصلی ندارند (۱۱). در مورد روش‌های غیردارویی مورد استفاده در درمان استئوآرتریت، می‌توان به ورزش اشاره نمود که تحقیقات متعددی به اثر آن بر علایم این بیماری پرداخته‌اند (۱۲). در این مورد، بایستی این نکته را موردتوجه قرار دادکه نتایج برخی از تحقیقات، از نقش مخرب ورزش شدید در بروز استئوآرتریت حکایت دارند. در حالی که بیشتر مطالعات انجام شده، اثر ورزش با شدت متوسط را مثبت ارزیابی کرده‌اند. برای نمونه، یک مطالعه دوز - پاسخ به وسیله گالویس و همکاران به بررسی نقش شدت‌های مختلف تمرین روی علایم استئوآرتریت زانوی موش صحرایی پرداخت. این پژوهشگران نتیجه گرفتندکه تمرین روی نوارگردان با شدت کم تا متوسط، اثر مثبت بر روی شدت زخم‌های غضروفی داشته است؛ حال آن که تمرین با شدت بالا، باعث از بین رفتن این اثر شده است (۱۳). در مطالعه دیگری به وسیله Cifuentes و همکاران، نقش تمرین روی نوارگردان با شدت متوسط استئوآرتریت زانوی موش صحرایی، مثبت ارزیابی شد (۱۳). براساس توصیه‌های انجمن بین‌المللی تحقیقات استئوآرتریت در سال ۲۰۱۰، درمان مطلوب علایم استئوآرتریت زانوشامل ترکیبی از روش‌های درمانی دارویی وغیردارویی است (۲). باتوجه به مروری که بر تحقیقات گذشته انجام شده؛ مطالعات کمتری وجود دارندکه به بررسی تأثیر ترکیب هر دو روش ورزش و مکمل پرداخته باشند. تحقیقات انجام شده در

اثـر ۱۲ هفتـه تمـرین قـدرتی در سـه گـروه دارونمـا، ایپـوپروفن و گلوکزآمین در بیماران سالمند نشان داد که قدرت عضـلانی در هـر سه گروه افزایش داشـت و پـروئین مـاتریکس الیگومریـک مفصـلی سـرم در گـروه گلـوگزآمین نسـبت بـه دو گـروه دیگـر افـزایش معنی‌داری داشـت (۱۴). بررسـی فاکتورهـای رشـد بـه عنـوان یـک درمان بالقوه برای افزایش بهبودی در بیماری آرتریـت مـورد توجـه است (۱۰). ایـن مطالعـه بـه منظـور تعیـین اثـر تمرینـات اسـتقامتی و مصرف گلوکزآمین بر بیان ژن‌های IGF-1 و IGFBP-3 بافت زانوی موش‌های صحرایی مبتلا به استئوآرتریت حاد زانو انجام شد.

روش بررسی

ایـن مطالعـه تجربـی روی ۳۰ سـر مـوش صـحرایی نـر بـالغ ۸-۶ هفتـه‌ای از نـژاد ویسـتار بـا میـانگین وزن اولیـه ۳۵۰-۳۰۰ گـرم در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری طی نیمه اول سال ۱۳۹۸ انجام‌شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری (IR.IAU.SARI.REC.1398.132) قرار گرفت.

حیوانـات پـس از خریـداری از انسـتیتو پاسـتور تهـران بـه مرکـز پرورش و نگهداری حیوانـات آزمایشـگاهی انتقـال داده شـدند و در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنـات شـفاف بـه ابعـاد ۱۵ × ۲۶/۵ × ۴۲ سانتی متر، دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گـراد، رطوبـت ۵±۵۵ درصـد و چرخه روشـنایی – تـاریکی ۱۲ سـاعته بـا تهویـه مناسـب نگهـداری شدند. حیوانات طی پژوهش از غذای پلت سـاخت شـرکت بهپـرور کرج روزانه به میـزان ۱۰ گـرم بـه ازای هـر ۱۰۰ گـرم وزن بـدن (بـا توجه به وزن کشی هفتگی) تغذیه شدند و به‌صـورت آزاد از طریـق بطری‌هایی به آب مصرفی دسترسـی داشـتند. پوشـال مصـرفی بـرای اسـتفاده در بسـتر قفـس نگهـداری حیوانـات، خـاک اره درشـت از جنس چوب نرات (با رنگ روشن بدون گرد و خاک) در نظرگرفته شد که به ارتفاع ۳ تا ۵ سانتی‌متر از کف قفس قرار داده شد و دو بار در هفته در تمام دوره پژوهش تعویض گردید. پس از سازگاری دو هفته‌ای به محیط جدیـد و آشـنایی بـا پروتکـل تمـرین، مـوش هـای صحرایی به صورت تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی به شـرح زیـر تقسـیم شدند.

گروه اول: کنترل (سالم)، هیچ مداخله‌ای صورت نگرفت.

گروه دوم: کنتـرل مبـتلا بـه اسـتئوآرتریت زانـو دریافـت کننـده سالین

گروه سوم: مبتلا به استئوآرتریت زانو دریافت کننده گلوکزآمین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)

گروه چهارم: مبتلا به استئوآرتریت زانو و انجام تمرین استقامتی

گروه پنجم: مبتلا به استئوآرتریت زانو و انجـام تمـرین اسـتقامتی توام با دریافت گلوکزآمین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)

استئوآرتریت با روش جراحی به موش‌ها القاء شد. ابتدا با استفاده از داروی بیهوشی کتامین و زایلازین موش‌ها بیهوش شدند و بعـد از شیو کردن زانوی پای راست یک برش افقی در بخـش داخلـی زانـو توسط تیغ بیسوری و سایر ابزارهای جراحی ایجاد شد. پـس از کنـار زدن پوست لیگامان داخلی جـانبی زانـو کنـار زده شـد تـا مینیسـک داخلی مشاهده گردید. سپس با ایجاد یک بـرش بـه صـورت نـاقص منجر به پارگی و ایجاد آسیب در مینیسک نمودیم و در آخـر ناحیـه به روش استریل بخیه زده شد.

تزریق گلوکز آمین سه روز پس از گذشت دوره ریکـاوری بعـد از جراحی زانوی موش‌ها انجام شد و میزان مصرف آن ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلـوگرم وزن بـدن مـوش بـه روش داخـل صـفاقی بـود (۱۵).

برنامه تمرینی شامل دو مرحله آشنایی بـا محـیط پـژوهش و نـوار گـردان بـود. بـدین منظـور مـوش‌هـا ۴ روز، هـر روز بـه مـدت ۵ تـا ۱۰دقیقه با سرعت ۶ تا۸ متر بر دقیقـه و شـیب صـفر درصـد بـر روی تردمیل فعالیت کردند. برنامه تمرین اسـتقامتی در ۸ هفتـه، ۵ روز در هفته و هر جلسه بین ۲۹-۲۵ دقیقه دویدن روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۵ متر در دقیقه برای هفته اول بود. هر هفتـه یـک متـر بـر دقیقه اضافه شد تا در هفته هشـتم بـه ۲۲متـر بـر دقیقـه رسـید. مـدت جلسه اول ۲۵دقیقه بود که هر جلسه یک دقیقه اضافه شد تا در هفتـه هشتم بـه ۶۴دقیقـه رسـید و بـا رعایـت اصـل اضـافه بـار بـه صـورت پیشرونده برنامه تمرین به مدت ۵ روز در هفته و ۸ هفته ادامه یافت.

به منظورآماده‌سازی بافـت از سـلول‌هـای بنیـادی مزانشـیمی مغـز استخوان موش‌های صـحرایی نـر بـالغ نـژاد ویسـتار (بـا وزن تقریبـی ۳۵۰-۳۰۰ گرم) استفاده گردید. پس از کشته شدن حیـوان از ناحیـه استخوان ران و درشت نی سلول مغز استخوان جمع‌آوری و MSCs جدا شده در محیطی بـا DMEM بـا FBS ۲۰ درصـد در طـول یـک شبانه روز برای انتخاب سلول‌های چسبان انکوبه شدند. کشـت‌هـا از محیط فلاسک هر سه روز تعویض شدند تا سلول‌هایی که نچسـبیده بودند؛ جدا شوند و MSCs ها بعد از ۳ تا ۴ بار پاساژ شدن بـه درجـه خلوص رسیدند و به هدف تزریق انتخاب شـدند. پـس از کشـت در آزمایشگاه برای هر موش تعداد یک میلیون بـه ازای یـک کیلـوگرم وزن بـدن مـوش آمـاده‌سـازی شـد و در طـول دوره ریکـاوری و بـه عنوان یک بار تزریق در محل القاء مدل سلول‌ها تزریق شدند. گروه مـوش‌هـای صـحرایی MSCs تزریـق داخـل سـلول‌هـای ۱×۱۰^{۶} سلول بر کیلوگرم را دریافت کردنـد. MSCs هـا بـه مفصـل زانو راست تزریق شدند (۱۶و۱۷).

۸ هفته پس از اجرای تحقیق تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشـابه و به دنبـال ۱۲ تـا ۱۴ سـاعت ناشـتایی و ۴۸ سـاعت پـس از آخـرین جلسه تمرینی و تزریقات (برای حذف اثرات حاد تمرین و مکمـل)، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلـوگرم وزن بـدن)

و زایلوزین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) با نسبت ۵ به ۲ بیهوش و قربانی شدند. بیان ژن IGF-1 و IGFBP-3 بافت غضروف از طریق روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCRتکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های IGF-1 و IGFBP-3 مورد بررسی قرار گرفت. این تکنیک دارای چهار مرحله اساسی به شرح زیر است.

الف) RNA کل از سلول‌های جمع‌آوری شده در هر گروه استخراج گردید. ب) با استفاده از آنزیم کپی برداری معکوس به cDNA تبدیل شد. ج) cDNA حاصل برای حذف DNA ژنومی با آنزیم DNase I تیمار شد. د) به روش PCR Real time تکثیر گردید. اولین و مهم‌ترین مسأله در هنگام کار با RNA، دقت در جلوگیری از آلودگی با RNase است. آنزیم RNase، نوکلئازی است که در هنگام پاره شدن سلول‌ها در بافت خارج می‌شود و روی سطح پوست و درون مایعاتی همچون عرق و بزاق، به فراوانی موجود است. از طرفی، RNase به دلیل دارا بودن باندهای دی سولفیدی درون زنجیره‌ای، در مقابل جوشاندن طولانی و دناتوراسیون ملایم به شدت مقاوم است. لذا بهترین راه برای جلوگیری از بروز مشکل، اجتناب از آلودگی ظروف شیشه‌ای، لوله‌ها و سطوح، با این آنزیم است. دقت در ساخت و استفاده از بافرها و پیپتورها نیز یکی از راه‌های جلوگیری از بروز مشکل است. در صورت آلودگی بافرها با میکروارگانیسم، تنها راه، تعویض بافر است. زیرا RNase با اتوکلاو کردن از بین نمی‌رود. لذا هنگام کار با RNA نکات زیر رعایت شد.

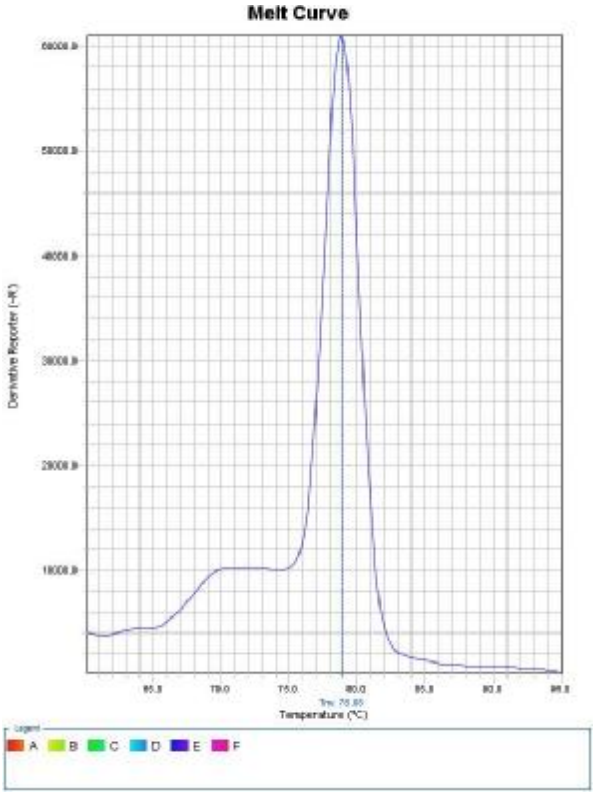
الف) تمامی ظروف و پیپت‌های مورد استفاده باید به ترتیب زیر عاری از آنزیم RNase شوند. ابتدا به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و یا ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محلول ۰/۱ درصد DEPC قرار داده شدند تا DEPC از بین برود. وجود DEPC می‌تواند مانعی در روند بررسی و تجزیه و تحلیل RNA ایجاد کند. ب) پوشیدن دستکش و زدن ماسک در تمامی مراحل کار با RNA الزامی است. ج) تمام بافرها و محلول‌ها باید در آب مقطر تیمار شده با DEPC تهیه شود. د) مراحل استخراج RNA زیر هود که نیم ساعت قبل از آن با UV استریل شده باشد؛ انجام شود.

منحنی ذوب IGF-1 و IGFBP-3 در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. استخراج RNA، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. ابتدا به سلول‌ها ۳۰۰-۲۰۰ لاندا کیازول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت پلاک موجود در کرایوتیوب در حالت نیمه انجماد توسط سرسمپلر خرد شد و سپس کمی پیپتاژ گردید. سپس به نمونه حدود ۱۰۰ لاندا کلروفرم اضافه شد تا سلول‌ها لیز شوند. این محلول حدود یک دقیقه با سلول‌ها در تماس بود. پس از گذشت یک دقیقه محلول با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ محلول به سه فاز تقسیم شد. قسمت بالایی لوله که شفاف و حاوی RNA بود. قسمت وسطی لوله که سفید رنگ و محتوی بافت لیز شده بود. قسمت پایینی لوله که صورتی و حاوی کیازول بود. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود؛ به آرامی برداشته شد و در یک میکروتیوب DEPC شده قرار گرفت. سپس یک میلی‌لیتر ایزوپروپانول بر روی RNA شفاف ریخته شد و به مدت یک دقیقه با دست به هم زده شد. ایزوپروپرانول شفاف بوده و RNA نیز شفاف است؛ اما وقتی این دو با هم مخلوط شوند؛ مایع کدری به وجود می‌آید. پس از افزودن ایزوپروپرانول نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از خارج کردن از سانتریفیوژ مایع رویی تخلیه و روی آن یک میلی‌لیتر الکل ۷۰ درجه اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. سپس مایع رویی با سمپلر تخلیه گردید و پس از آن پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد.

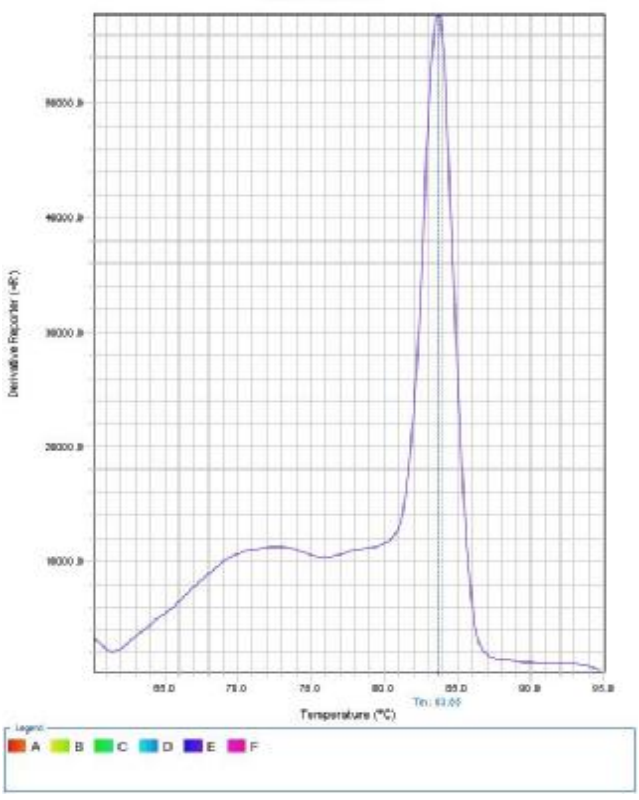
مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا کلیه پرایمرهای طراحی شده مربوط به تمامی ژن‌ها، مورد بررسی قرار گرفت و سپس بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی q-RT PCR انجام گردید.

سپس از تکنیک RT-qPCR برای تایید بیان ژن‌های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کیازول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل سیناژن استخراج شد و برای اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض (DNase I Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNA های استخراج شده با دستگاه اسپکترفتومتری (DPI-1, Kiagen) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligo dt (MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه‌برداری معکوس و براساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از PCR master mixApplied Biosystems و SYBER Green در دستگاه ABI Step One Applied Biosystems Sequences Detection Systems. Focter City, CA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای ژن IGF-1 پیش رو GTTGATAGGTGGTTGATGAATGG و معکوس AGAATGTAAAGAAAGGGCAGGG بود. توالی پرایمر ژن IGFBP-3 پیش رو ACAATGCTGGGGGTGTGGAAAG و معکوس GTTGTGGGTGTCTGTGCTCTGG بود. به‌منظور طراحی

پرایمر از نرم‌افزار gene runner و سایت ncbi استفاده شد و به منظور بررسی کیفیت پرایمرها از نرم افزار آنلاین oligo analyzer استفاده شد و نرم افزار دستگاه abi-step one 4.3 بود.



شکل ۱ : منحنی ذوب IGF-1



شکل ۲ : منحنی ذوب IGFBP-3

بتا اکتین ازجمله ژن‌های House Keeping در این تحقیق بود که به دلیل بیان ثابت در سلول‌های مختلف، برای نرمال کردن داده‌ها و به عنوان استاندارد داخلی، مانند ارزیابی تغییرات بیان ژن مورد نظر مورد استفاده قرار گرفت. توالی ژن خانه‌دار پیشرو (بتا اکتین) AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG و توالی ژن خانه‌دار معکوس (بتا اکتین) CATACTCAGCACCAGCATCACC بود.

برای تجزیه و تحلیل آماری و تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده گردید. برای بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف از روش آنالیز واریانس یک راهه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-20 تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از متغیرهای تحقیق برای گروه‌های مورد مطالعه در جدول یک آمده است.

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار سطح بیان ژن‌های IGF1 و IGFBP3 گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار	
	IGFBP3	*IGF1*
کنترل	۱۹/۴۷±۰/۶۱	۲۳/۴۶±۰/۹ *
سالین	۲۰/۶±۰/۴۱	۲۸/۵۸±۱/۲۹ *
گلوکزآمین	۱۹/۶۲±۰/۶۱	۲۶/۸۶±۰/۷۹ *
تمرین	۲۱/۴۱±۱/۲۳	۲۷/۶±۰/۸۱ *
تمرین + گلوکزآمین	۲۵/۲۸±۱/۵۴ *	۲۶/۳۳±۱/۴۹ *

** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل*

میانگین و انحراف معیار مربوط به سطح بیان ژن IGF-1 در گروه‌های مختلف نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میانگین و انحراف معیار سطح IGF-1 بین گروه‌های مختلف وجود دارد (P<۰/۰۰۱). بیشترین سطح بیان ژن IGF-1 درگروه تمرین ورزشی و کمترین سطوح آن در گروه سالم مشاهده شد. تمرینات بدنی و مصرف گلوکزآمین بر بیان ژن IGF-1 موش‌های مبتلا به استئوآرتریت در گروه‌های مختلف تاثیر داشت. سطح تغییرات بیان ژن IGF-1 در گروه‌های بیمار، گلوکزآمین، تمرین و گروه تمرین توام با دریافت گلوکزآمین در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱) (جدول یک).

میانگین و انحراف معیار مربوط به سطح بیان ژن IGFBP-3 در گروه‌های مختلف نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود دارد (P<۰/۰۰۱). کمترین غلظت

IGFBP-3 درگروه سالم و بیشترین غلظت آن درگروه تمرین توام با دریافت گلوکزآمین بود. تمرینات بدنی و مصرف گلوکزآمین بر بیان ژن IGFBP-3 موش‌های مبتلا به استئوآرتریت در گروه‌های مختلف اثر داشت (جدول یک). سطح IGFBP-3 در گروه ترکیبی تمرین توام با دریافت گلوکزآمین نسبت به گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱) سطح IGFBP-3 در سایر گروه‌های تجربی (سالین، تمرین و گلوکزآمین) نیز افزایش داشت؛ ولی به سطح معنی‌داری نرسید (جدول یک).

بحث

سطح تغییرات بیان ژن IGF-1 در گروه‌های بیمار، گلوکزآمین، تمرین و تمرین توام با دریافت گلوکزآمین در مقایسه با گروه کنترل سالین افزایش معنی‌داری داشت. سطح IGFBP-3 در گروه ترکیبی تمرین توام با دریافت گلوکزآمین نسبت به گروه کنترل سالین افزایش معنی‌داری داشت. البته سطح IGFBP-3 در سایر گروه‌های تجربی شامل سالین، تمرین و گلوکزآمین نیز افزایش آماری غیرمعنی‌داری یافت.

استفاده از مکمل گلوکزآمین سولفات یکی از روش‌های درمانی است که درآمریکا و سایرکشورها به عنوان داروی ایمن برای بهبود عملکرد و کاهش عوارض بیماری در مبتلایان به استئوآرتریت زانو با سن بالای ۵۴ سال، مورداستفاده قرار گرفته و نسبت به داروهای مسکن، از اثربخشی بیشتری برخوردار است (۱۸و۱۹)؛ اما نتایج در این زمینه متناقض است. برخی مطالعات، نشان‌دهنده بهبودتعادل، عملکرد حرکتی وکاهش درد در بیماران است و برخی نشان از بی‌اثر بودن دارند (۲۰). رمضانی و نکوزاد بعد از ۶ و۱۲ هفته مصرف مکمل گلوکزآمین، بهبود معنی‌داری در عملکرد و میزان درد سالمندان مبتلا به استئوآرتریت زانو گزارش کردند (۱). در مطالعه Kucharz و همکاران اثر انواع ترکیبات گلوکزآمین سولفات (بلورهای گلوکزآمین سولفات نسبت به دیگر مشتقات گلوکزآمین) بر بهبود آرتروز مقایسه شد و به این نتیجه رسیدند که گلوکزآمین سولفات در رفع التهاب مفصل و اثرات اصلاحی بر استئوآرتریت مؤثر است و استفاده از گلوکزآمین یک انتخاب بی‌ضرر برای کاهش پیشرفت بیماری و نیاز به جراحی مفصل است (۲۱). در مطالعه دیگری، مصرف گلوکزآمین سولفات و کندروتین به تنهایی یا مصرف همزمان، اثری بر بهبود علایم آرتروز نظیر بهبود عملکرد و کاهش درد نداشت (۲۲). Naito و همکاران به ارزیابی اثر مکمل گلوکزآمین روی مدل تجربی استئوآرتریت در موش صحرایی پرداختند. بدین منظور مکمل گلوکزآمین به مدت ۸ هفته به صورت خوراکی (محلول در آب) و به میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز تجویزگردید (۲). پژوهشگران دریافتند مکمل گلوکزآمین در برابر استئوآرتریت، دارای آثار محافظت از غضروف بوده و این کار را ازطریق حفظ پروتئوگلیکانو، مهار تخریب کلاژن نوع ۲ و نیز افزایش تولید آن درغضروف مفصلی انجام می‌دهد (۲). محققان بر روی نقش فاکتورهای بیوشیمیایی مانند سایتوکین‌ها، کموکاین‌ها و فاکتورهای رشد در استئوآرتریت متمرکز شدند. بین فاکتورهای آنابولیکی و کاتابولیکی تعادل وجود دارد تا هموستاز غضروف مفصلی حفظ شود. کندروسیت تنها سلولی است که این تعادل را در غضروف مفصلی حفظ می‌کند (۲۳و۲۴). IGF-1 نقش مهمی در آنابولیسم غضروف مفصلی بازی کرده و نیز در تولید پروتئین‌های ماتریکس غضروف و تکثیر سلولی نیز دخیل است. با این وجود ارتباطی بین سطح IGF-1 و تخریب غضروف مفصلی در استئوآرتریت وجود ندارد (۱۵). در مطالعاتی نشان داده شده که کاهش در سطح IGF-1 با از دست دادن کندروسیت و PGs و تخریب غضروف مفصلی همراه است (۲و۲۵). با شروع اولین آسیب غضروف مفصلی فرآیند ترمیمی آغاز خواهد شد. به طوری که کندروسیت‌ها شروع به ساختن اجزایی کردند که در دوباره سازی فرایند تکثیر ماتریکس سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح بیان ژن IGF-1 در موش‌های بیمار نسبت به موش‌های سالم افزایش معنی‌داری داشته است. این موضوع ممکن است علت افزایش سطح اولیه IGF-1 در مایع سینوویال را شرح دهد. کندروسیت‌ها در پاسخ به افزایش آسیب مقدار بیشتری IGF-1 ترشح می‌کنند تا تولید پروتئین‌های ماتریکس که برای فرآیند ترمیم ضروری هستند؛ افزایش یابد. IGF-1 موجب سنتز دو جزء سازنده ساختار و عملکرد غضروف مفصلی یعنی کلاژن ۲ و پروتئوگلیکان‌ها می‌شود. بهرحال اگر از دست دادن غضروف بیشتر باشد و سطح IGf-1 کاهش یابد؛ توانایی‌های ترمیمی کندروسیت‌ها کاهش می‌یابد. در نتیجه میزان تخریب غضروف‌ها از ترمیم آنها پیشی گرفته و به پیشرفت استئوآرتریت منتهی می‌شود که اطلاعات معنی‌داری در محیط آزمایشگاه وجود دارد که نقش حفاظتی IGF-1 را در تکثیر و حفظ بقای کندروسیت حمایت کند. آپوپتوز به موجب اسید اوکادائیک به طور معنی‌داری از طریق پیش درمانی با مقادیر ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر IGF-1 در مدت زمان ۲۴ ساعت کاهش نشان داده است (۳). تحقیقات دیگری بر روی نقش آنابولیکی و ساختاری IGF-1 در متابولیسم غضروف مفصلی متمرکز شده‌اند. علی‌رغم این که در محیط آزمایشگاهی شواهدی وجود دارد که از نقش محافظتی IGF-1 حمایت می‌کند؛ به نسبت مطالعات کمتری در مدل‌های طبیعی صورت گرفته است (۱۵). همچنین مطالعاتی که سعی بر برقراری ارتباط بین سطح IGF-1 سرمی و شدت استئوآرتریت بودند؛ به نتایج متناقضی دست یافتند. تحقیقات دیگری افزایش در سطوح IGF-1 را در درون مایع سینوویال مفاصل استئوآرتریتی ثابت کردند که نشان می‌دهد که

کندروسیت‌ها می‌توانند سطح سنتز IGF-1 را از فاکتور رشد طی دوره آسیب پیشرونده افزایش دهند تا از پیشرفت بیشتر بیماری جلوگیری شود (۱۲و۲۶). اکثر سلول‌های سوماتیک در بدن می‌توانند IGF-1 را تولید کنند. همچنین کندروسیت‌ها می‌توانند IGF-1 ترشح کنند و می‌توانند تولید آن را در شرایط استئوآرتریت افزایش دهند. مهم‌ترین فاکتوری که سطح IGF-1 را تحت تاثیر قرار می‌دهد؛ پروتئین متصل به IGF یا IGFBP است که در این میان IGFBP3 نقش مهم‌تری دارد. IGF-1 به IGFBP3 متصل می‌شود و به عنوان انبار گردش خون IGF-1 عمل می‌کند. IGFBP3 در ماتریکس سلولی غضروف مفصلی واقع شده است و سطح آن در شرایط غضروف استئوآرتریتی تنظیم افزایشی دارد. مطالعات مختلف افزایش در بیان IGFBP3 را در غضروف مفصلی استئوآتریتی ثابت کردند (۷و۲۷). در مطالعه ما سطوح IGFBP3 در گروه بیمار نسبت به گروه سالم روند افزایشی نشان داد؛ ولی به حد معنی‌دار آماری نرسید. اگرچه این امکان وجود دارد که کاهش در توزیع IGF-1 در فلات میانی غضروف ۱۲ ماهه با افزایش در IGFBP3 مرتبط باشد؛ ثابت شده است که کاهش مستقل در سنتز IGF-1 توسط کندورسیت‌ها اتفاق افتاده که کاهش نسبی در سطوح IGF-1 در غضروف را تقویت می‌کند (۲۸). Wei و همکاران ارتباط بین فاکتور رشد انسولینی۱ و تخریب غضروف استئوآرتریتی را بررسی کردند. نتایج نشان‌دهنده از دست دادن سطوح هیستولوژیکی کندروسیت‌ها و ماتریکس غضروف و کاهش IGF-1 بود (۴). همچنین در مقایسه با نمونه‌های ۶ ماه، در نمونه‌های ۱۲ ماهه تخریب مفصلی بیشتر و کاهش سطوح IGF-1 در این نمونه‌ها مشاهده شد. این مشاهدات در سطح داخلی تیبیا نسبت به سطح خارجی بیشتر نمایان بود. کاهش سطح IGF-1 ممکن است نقش حیاتی در نگهداری تعادل بین فرآیندهای کاتابولیک و انابولیک در متابولیسم غضروف مفصلی طی دوره استئوآرتریت داشته باشد. لذا این احتمال وجود دارد که افزایش در IGF-1 در درمان استئوآرتریت پیشرونده کاربردی باشد (۲۹). همچنین مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات استقامتی موجب افزایش سطوح بیان ژن IGF-1 و IGFBP3 در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه سالم شده است. غضروف بافتی است که فاقد عروق خونی بوده و در نتیجه متابولیسم کندروسیت‌ها بستگی به توزیع و انتقال مواد مغذی ازطریق مایع مفصلی دارد. بارگیری چرخه‌ای از طریق فعالیت‌های بدنی موجب تغییرشکل، ایجادگرادیان فشار وگردش مایع در درون بافت خواهد شد. بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده که فشار مکانیکی اثر مستقیمی روی متابولیسم کندروسیت‌ها داشته و می‌تواند تحت شرایط خاصی باعث تحریک عوامل آنتی – اپوپتوتیک همچون Hsp70 گردد. همچنین ورود نیروهای فشاری، کششی رو برشی در حد کم و مناسب، می‌تواند موجب ارتقای تولید پروتئوگلیکان‌ها و سنتزکلاژ شود (۳۰و۳۱). به‌علاوه، ورزش باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و در نتیجه کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش مقاومت در برابر رادیکال‌های آزاد خواهد شد. برخی از مطالعات، افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، گلوتاتیونپروکسیداز و کاتالاز را پس از اجرای ورزش هوازی در موش‌های صحرایی جوان نشان داده‌اند (۳۲). در مطالعه Norman و همکاران ۳۶ بیمار کم تحرک برای ۶ هفته از داروی گلوکزآمین استفاده کردند. سپس برای ۱۲ هفته از یک برنامه پیاده‌روی پیشرونده (۳ یا ۵ روز در هفته) نیز پیروی نمودند. محققان در پایان به این نتیجه دست یافتند که در خلال ۶ هفته اول (تنها مکمل گلوکزآمین) برخی از شاخص‌ها نظیر سطوح فعالیت بدنی، عملکرد بدنی و برخی شاخص‌ها مربوط به علایم استئوآرتریت، بهبودپیدا کرده است. از هفته ششم تا پایان دوره (ترکیب برنامه تمرینی و مکمل گلوکزآمین) پیشرفت های بیشتری در این نتایج دیده شد (۸). در مطالعه Messier و همکاران فقط به مصرف ترکیب گلوکزآمین و کندروئیتین پرداخته شد. سپس به مدت ۶ ماه دیگر، یک برنامه ورزشی (شامل یک ساعت تمرین به شکل ۱۵ دقیقه پیاده روی ودر خلال آن ۲۰ دقیقه تمرین قدرتی برای ۲ روزدرهفته) به درمان آنها اضافه شد. در پایان مشخص شد که گروه گلوکزآمین و کندروئیتین، از نظر عملکرد، درد یاتحرک، پس از هر دو مرحله درمانی (دارو، دارو+ ورزش) نسبت به گروه دارونما، هیچ برتری نداشتند (۲۳). در مطالعه Cifuentes و همکاران آثار یک برنامه تمرینی با شدت متوسط روی غضروف مفصل موش‌های صحرایی دچاراستئوآرتریت بررسی شد. پس از بررسی هیستولوژیک، محققان دریافتند که برنامه تمرینی موجب محافظت غضروف مفصلی در برابر استئوآرتریت و افزایش مکانیسم دفاعی در مقابل استرس اکسایشی شده است (۱۳). محققان بیان کردند که دلیل این موضوع می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان باشد (۱۰و۳۳و۳۴).

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم کنترل فعالیت شبانه موش‌ها و اثر شوک الکتریکی دستگاه نوارگردان بر روی موش‌ها اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سطح بیان ژن IGF-1 و IGFBP-3 در گروه‌های تجربی نسبت به گروه سالم افزایش داشته است. این احتمال وجود دارد که کندروسیت‌ها در پاسخ به افزایش آسیب مقدار بیشتری IGF-1که موجب سنتز دو جزء سازنده ساختار و عملکرد غضروف مفصلی یعنی کلاژن ۲ و پروتئوگلیکان‌ها است؛ ترشح می‌کنند تا تولید پروتئین‌های ماتریکس که برای فرآیند ترمیم

ضروری هستند؛ افزایش یابند. همچنین ورود نیروهای فشاری و کششی در حد کم و مناسب می‌تواند موجب ارتقای تولید پروتئوگلیکان‌ها و سنتز کلاژن شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (کد پژوهشیار ۲۳۹۲۱۴۲۳۹۸۱۰۰۵) خانم مهناز علی نژاد برای اخذ درجه دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی _ گرایش قلب و عروق و تنفس از دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی بود. بدین‌وسیله از همکاران دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند؛ تشکر می‌نماییم.

References

1. Ramezani M, Nekozad N. [Comparison between the effectiveness of glucosamine sulfate and zintoma on clinical improvement of knee osteoarthritis]. EBNESINA. 2011; 14(3): 29-34. [Article in Persian]

2. Naito K, Watari T, Furuhat A, Yomogida S, Sakamoto K, Kurosawa H, et al. Evaluation of the effect of glucosamine on an experimental rat osteoarthritis model. Life Sciences. 2010 Mar; 86(13-14): 538-43. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.02.015

3. Chubinskaya S, Hakimiyan A, Pacione C, Yanke A, Rappoport L, Aigner T, et al. Synergistic effect of IGF-1 and OP-1 on matrix formation by normal and OA chondrocytes cultured in alginate beads. Osteoarthritis Cartilage. 2007 Apr; 15(4): 421-30. DOI: 10.1016/j.joca.2006.10.004

4. Wei FY, Lee JK, Wei L, Qu F, Zhang JZ. Correlation of insulin-like growth factor 1 and osteoarthritic cartilage degradation: a spontaneous osteoarthritis in guinea-pig. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2017 Oct; 21(20): 4493-500.

5. Wandel S, Jüni P, Tendal B, Nüesch E, Villiger PM, Welton NJ. Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. BMJ. 2010 Sep; 341: c4675. DOI: 10.1136/bmj.c4675

6. Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abamson S, Altman RD, Arden N, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. Osteoarthritis Cartilage. 2008; 16(2): 137-62. DOI: 10.1016/j.joca.2007.12.013

7. Xing C, Peng Y, Chang R, Yin Y, Xie Z. Effects of insulin- like growth factor-1 on okadaic acid-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. Cell Biology International. 2005 Sep; 29(9): 803-8. DOI: 10.1016/j.cellbi.2005.04.012

8. Norman TM, Heesch KC, Brown WJ. Efficacy of a progressive walking program and glucosamine sulphate supplementation on osteoarthritic symptoms of the hip and knee:a feasibility trial. Arthritis Res Ther. 2010; 12(1): R25. DOI: 10.1186/ar2932

9. Escribano O, Guillen C, Nevado C, Gomez-Hernandez A, Kahn CR, Benito M. Beta-Cell hyperplasia induced by hepatic insulin resistance: role of a liver-pancreas endocrine axis through insulin receptor a isoform. Diabetes. 2009 Apr; 58(4): 820-28. DOI: 10.2337/db08-0551

10. Ng CT, Tan MP. Osteoarthritis and falls in the older person. Age Ageing. 2013 Sep; 42(5): 561-66. DOI: 10.1093/ageing/aft070

11. Galois L, Etienne S, Grossin L, Watrin-Pinzano A, Cournil-Henrionnet C, Loeuille D, et al. Dose–response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. Osteoarthritis Cartilage. 2004 Oct; 12(10): 779-86. DOI: 10.1016/j.joca.2004.06.008

12. Golightly YM, Allen KD, Caine DJ. A comprehensive review of the effectiveness of different exercise programs for patients with osteoarthritis. Phys Sportsmed. 2012 Nov; 40(4): 52-65. DOI: 10.3810/psm.2012.11.1988

13. Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, Brito AC, Rueff-Barroso LC, Pinho RA. Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. Osteoarthritis Cartilage. 2010 Aug; 18(8): 1088-95. DOI: 10.1016/j.joca.2010.04.004

14. Fortier LA, Barker JU, Strauss EJ, McCarrel TM, Cole BJ. The role of growth factors in cartilage repair. Clin Orthop Relat Res. 2011 Oct; 469(10): 2706-15. DOI: 10.1007/s11999-011-1857-3

15. Tavera C, Abribat T, Reboul P, Dore S, Brazeau P, Pelletier JP, et al. IGF and IGF-binding protein system in the synovial fluid of osteoarthritic and rheumatoid arthritic patients. Osteoarthritis Cartilage 1996; 4(4): 263-74. https://doi.org/10.1016/S1063-4584(05)80104-9

16. Kalamegam G, Memic A, Budd E, Abbas M, Mobasheri A. A Comprehensive Review of Stem Cells for Cartilage Regeneration in Osteoarthritis. Adv Exp Med Biol. 2018; 1089: 23-36. DOI: 10.1007/5584_2018_205

17. Baxter RC. IGF binding protein-3 and the acid-labile subunit: formation of the ternary complex in vitro and in vivo. Adv Exp Med Biol. 1993; 343: 237-44. DOI: 10.1007/978-1-4615-2988-0_23

18. Blagojevic M, Jinks C, Jeffery A, Jordan KP. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. Osteoarthritis Cartilage. 2010 Jan; 18(1): 24-33. DOI: 10.1016/j.joca.2009.08.010

19. Eriksen P, Bartels EM, Altman RD, Bliddal H, Juhl C, Christensen R. Risk of bias and brand explain the observed inconsistency in trials on glucosamine for symptomatic relief of osteoarthritis: a meta-analysis of placebo-controlled trials. Arthritis Care Res (Hoboken). 2014 Dec; 66(12): 1844-55. DOI: 10.1002/acr.22376

20. Ezadpanah A, Moazami M, Khoshraftar Yazdi N. [Effect of a period of therapeutic exercise and detraining after that on balance in the women with knee osteoarthritis]. J Mod Rehabil. 2016; 9(S1): 101-9. [Article in Persian]

21. Kucharz EJ, Kovalenko V, Szanto S, Bruyere O, Cooper C, Reginster JY. A review of glucosamine for knee osteoarthritis: why patented crystalline glucosamine sulfate should be differentiated from other glucosamines to maximize clinical outcomes. Curr Med Res Opin. 2016 Jun; 32(6): 997-1004. DOI: 10.1185/03007995.2016.1154521

22. Zhao XX, Bi Y, Yin XY, Min R. Suppression of collagen-induced arthritis by lipopolysaccharide in DBA/1 mice. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016; 20(3): 441-46.

23. Messier SP, Mihalko S, Loeser RF, Legault C, Jolla J, Pfruender J, et al. Glucosamine/chondroitin combined with exercise for the treatment of knee osteoarthritis: a preliminary study. Osteoarthritis Cartilage. 2007; 15(11): 1256-66. https://doi.org/10.1016/j.joca.2007.04.016

24. Meulyzer M, Vachon P, Beaudry F, Vinardell T, Richard H, Beauchamp G, et al. Comparison of pharmacokinetics of glucosamine and synovial fluid levels following administration of glucosamine sulphate or glucosamine hydrochloride. Osteoarthritis Cartilage. 2008 Sep; 16(9): 973-79.

25. Vasara AI , Konttinen YT , Peterson L, Lindahl A, Kiviranta I.

Persisting high levels of synovial fluid markers after cartilage repair: a pilot study. Clin Orthop Relat Res. 2009 Jan; 467(1): 267-72. DOI: 10.1007/s11999-008-0434-x

26. Elford PR, Lamberts SW. Contrasting modulation by transforming growth factor-beta-1 of insulin-like growth factor-I production in osteoblasts and chondrocytes. Endocrinology. 1990; 127(4): 1635-39. https://doi.org/10.1210/endo-127-4-1635

27. Massicotte F, Aubry I, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Fernandes J, Lajeunesse D. Abnormal insulin-like growth factor 1 signaling in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts. Arthritis Res Ther. 2006; 8: R177. https://doi.org/10.1186/ar2087

28. Roddy E, Zhang W, Doherty M, Arden NK, Barlow J, Birrel F, et al. Evidence-based recommendations for the role of exercise in the management of osteoarthritis of the hip or knee—the MOVE consensus. Rheumatology. 2005; 44(1): 67-73. https://doi.org/10.1093/rheumatology/keh399

29. Gallagher B, Tjoumakaris FP, Harwood MI, Good RP, Ciccotti MG, Freedman KB. Chondroprotection and the prevention of osteoarthritis progression of the knee: a systematic review of treatment agents. Am J Sports Med. 2015 Mar; 43(3): 734-44. DOI: 10.1177/0363546514533777

30. Tesch GH, Handley CJ, Cornell HJ, Herington AC. Effects of free and bound insulin-like growth factors on proteoglycan metabolism in articular cartilage explants. J Orthop Res. 1992 Jan; 10(1): 14-22. DOI: 10.1002/jor.1100100103

31. Molloy IB, Martin BI, Moschetti WE, Jevsevar DS. Effects of the length of stay on the cost of total knee and total hip arthroplasty from 2002 to 2013. J Bone Joint Surg Am. 2017 Mar; 99(5): 402-7. DOI: 10.2106/JBJS.16.00019

32. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, Pirola AC, Zago MS, Silveira PCL, et al.; Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. Cell Biol Int. 2006 Oct; 30(10): 848-53. DOI: 10.1016/j.cellbi.2006.03.011

33. Louboutin H, Debarge R, Richou J, Si Selmi TA, Donell ST, Neyret P, et al. Osteoarthritis in patients with anterior cruciate ligament rupture: A review of risk factors. Knee. 2009 Aug; 16(4): 239-44. DOI: 10.1016/j.knee.2008.11.004

34. Xia M, Li H, Wang JJ, Zeng HJ, Wang SH. MiR-99a suppress proliferation, migration and invasion through regulating insulin-like growth factor 1 receptor in breast cancer. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016; 20: 1755-63.