Research in Sport Medicine and Technology, Volume 12 - Issue 23 / 2022

Research in Sport Medicine and Technology

Kharazmi University

Print ISSN: 2252 - 0708 Online ISSN: 2588 - 3925

Homepage: https://jsmt.khu.ac.ir

The effect of aquatic activity and alogenic bone marrow derived mesenchymal stem cells fortified with Platelet-Rich Plasma in treatment of Achilles tendon in rat

HomaSheikhani Shahin [1] | Davood Mehrabani [2] | Seifollah Dehghani Nazhvani[3] | Hamid Rajabi[4] Manijeh Norouzian [5]

1. Assistant Professor, Physical Education, Physical Education & Sport Sciences, Shiraz Zand Institute of Higher Education, Iran
2.Associate Professor, Pathology, Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Iran
3. Associate Professor, Veterinary Surgery, Shiraz University of Veterinary Medicine, Iran
4. Associate Professor, Physical Education, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmei University, Iran
5.Assistant Professor, Physical Education, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmei University, Iran

Corresponding author HomaSheikhani Shahin: hsheikhani@yahoo.com

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 2021/06/15
Revised: 2021/11/07
Accepted: 2022/02/17

Keywords:
Aquatic activity, platelet-rich plasma, mesenchymal stem cells, tendon healing

How to Cite:
Sheikhani Shahin., H, Mehrabani., D, Dehghani Nazhvani., S, Rajabi.,H, Norouzian.,M. The effect of aquatic activity and alogenic bone marrow derived mesenchymal stem cells fortified with Platelet-Rich Plasma in treatment of Achilles tendon in rat. Research in Sport Medicine and Technology, 2022: 12(23): 25-40.

Abstract

The aim of this study was to the effect of aquatic activity and alogenic bone marrow derived mesenchymal stem cells fortified with Platelet-Rich Plasma in treatment of Achilles tendon in rat. 74 Sprague-Dawley rats were selected and tendon injury was formed in 69 of them. Subsequently, these rats were randomly divided into 8 groups and 5 rats which were without any injuries were chosen as the control group. 72 hours after the surgery, isolated cells from bone marrow and PRP were injected to the groups via catheters. The experimental groups had aquatic activity for 8 weeks. At the end of the eighth week, the Achilles tendon was separated and H&E and Mason Trichrome were used for special staining to assess the tendon healing. The results show there is a significant difference between the studied groups on the Achilles tendon healing. Also, results from histopathological examination indicated that there is a significant difference between the studied groups on the number of fibroblasts, collagen deposition, cellularity and tendon diameter. It could be generally concluded that, using these treatment methods could help with the tendon healing through bounding with target cells membrane receptors such as fibroblasts, mesenchymal stem cells and endothelial, which leads to activation of a series of intracellular proteins and as a result of their activities some reactions happen that lead into formation of matrix and collagen synthesis.

Published by Kharazmi University, Tehran, Iran. Copyright(c) The author(s) This is an open access article under the: CC BY-NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

پژوهش در طب ورزشی و فناوری

شاپا چاپی: ۲۲۵۲-۰۷۰۸ شاپا الکترونیکی: ۲۵۸۸-۳۹۲۵

Homepage: https://jsmt.khu.ac.ir

اثر فعالیت در آب و تزریق آلوژنیک سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به همراه پلاسمای غنی از پلاکت در ترمیم تاندون آشیل موش های صحرایی(PRP)

هما شیخانی شاهین [۱]* | داوود مهربانی [۲] | سیف اله دهقانی ناژوانی [۳] | حمید رجبی [۴] منیژه نوروزیان [۵]

۱- استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی ، مؤسسه آموزش عالی غیر انتفاعی زند شیراز

۲- دانشیار پاتولوژی، مرکز پژوهشات ترانژنیک و سلولهای بنیادی ،دانشگاه علوم پزشکی شیراز

۳- استاد جراحی دامپزشکی، بخش جراحی دامپزشکی، دانشگاه دامپزشکی شیراز

۴- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی،دانشگاه خوارزمی

۵- استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی،دانشگاه خوارزمی

نویسنده مسئول: هما شیخانی شاهین hsheikhani@yahoo.com

اطلاعات مقاله:

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۲۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۸/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۸

واژه‌های کلیدی:

فعالیت در آب، پلاسمای غنی از پلاکت‌ها، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، ترمیم تاندون

ارجاع:

هما شیخانی شاهین، داوود مهربانی، سیف الله دهقانی ناژوانی، جمید رجبی، منیژه نوروزیان. اثر فعالیت درآب و تزریق‌آلوژنیک سلول‌های-بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به همراه پلاسمای‌غنی از پلاکت(PRP) در ترمیم تاندون آشیل موش‌های صحرایی.

۱۲ (۲۳):۴۰-۲۵

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر فعالیت در آب و تزریق آلوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به همراه پلاسمای غنی از پلاکت ها (PRP) در ترمیم تاندون آشیل موش های صحرایی است. ۷۴ سر موش صحرایی از نژاد اسپراگوداولی انتخاب و در ۶۹ سر از آنها آسیب تاندونی ایجاد شد. موش‌های صحرایی به طور تصادفی به هشت گروه مختلف تقسیم بندی شدند. ۵ سر باقیمانده که آسیبی در آنها ایجاد نشده بود به عنوان کنترل سالم در نظر گرفته شد. ۷۲ ساعت پس از جراحی، به گروه‌ها سلول‌های جداسازی شده از مغز استخوان و پلاسمای غنی از پلاکت از طریق کتتر تزریق شد. گروه های تجربی به مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه فعالیت در آب را انجام دادند. در پایان هفته هشتم تاندون آشیل جدا و برای ارزیابی میزان ترمیم تاندونی از رنگ آمیزی اختصاصی شامل Mason Trichrome و H&E استفاده شد. نتایج نشان داد که از لحاظ میزان ترمیم تاندون آشیل تفاوت معناداری در بین گروه های مورد مطالعه وجود دارد. همچنین نتایج حاصل از بررسی‌های هیستوپاتولوژیک تفاوت معنی داری از لحاظ تعداد فیبروبلاست‌ها، رسوب رشت‌های کلاژن، میزان دانسیته سلولی و قطر تاندونی در گروه‌های مورد مطالعه را نشان داد. به‌کارگیری این روش‌های درمانی به واسطه باند شدن با گیرنده‌های غشای سلول‌های هدف مانند فیبروبلاست‌ها، سلول‌های بنیادی مزانشیمی و اندوتلیال منجربه فعال شدن یک سری پروتئین‌های داخل سلولی می‌گردند که در نتیجه فعالیت آنها واکنش‌هایی اتفاق می‌افتد که باعث شکل‌گیری ماتریکس و سنتز کلاژن می گردد که به ترمیم تاندون کمک می‌کند.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]

[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]

[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]

[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]

[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

مقدمه

معمولا روش درمانی متداولی که برای پارگی ناقص یا کامل وتر آشیل به عنوان یکی از شایع‌ترین آسیب‌های تاندونی در اثر ورزش توصیه می‌گردد، عمل جراحی می‌باشد، که این مسئله باعث ایجاد مشکلات بالینی متعددی شده است(۱). مطالعات کلینیکی در چند دهه اخیر نشان داده است که عوامل بیولوژیکی در سرعت ترمیم تاندونی مؤثر می‌باشند و این عوامل نقش بالقوه‌ای را در ترمیم تاندون آسیب دیده دارند(۲). از سوی دیگر در حال حاضر این مسئله که آیا تحرک و فعالیت‌بدنی در مقایسه با عدم‌تحرک بعد از عمل جراحی باعث سرعت بخشیدن در بازیابی ویژگی‌های بیومکانیکی تاندون و تغییرات اساسی در روند ترمیم می‌گردد، چالش برانگیزاست(۲). هر چند بسیاری از مطالعات نشان داده است که تمرین و فعالیت بدنی‌به عنوان یک عامل مؤثر در افزایش قدرت ندونی به شمار می آید(۳)، اما مکانیسم های مولکولی تاثیرگذار در بازسازی تاندون به طور دقیق ناشناخته باقی مانده است. اخیرا دانشمندان و متخصصان بالینی برخی مکانیزم‌های سلولی و مولکولی درگیر در توسعه تاندون، هومئوستاز، تولید مجدد و بازسازی تاندون‌ها را تا حدی شناخته‌اند (۱) و بیان نموده‌اند که فاکتورهای موضعی مانند پروستاگلاندین ها و سایتوکین‌ها در مراحل تغییرپذیری کلاژن ها درگیر می‌باشند که تمرینات طولانی مدت می‌تواند به عنوان یک راه کار مناسب در جهت تغییرپذیری کلاژن ها در تاندون و لیگامنت‌ها به شمار آید، زیرا تجمع کلاژن نوع I در تاندون آشیل در روزهای اولیه بعد از تمریناتی که با اعمال بار مکانیکی بر تاندون همراه است افزایش می یابد(۲). در حال حاضر پژوهشگران در یک رویکرد جدید نیز به سلول‌های جداسازی شده از تاندون ها اشاره می کنند که نقش بسیار مهمی را در توسعه روش‌های احیاءکننده به منظور ترمیم تاندون دارد. آنان پس از بررسی ویژگی این سلولها متوجه شده‌اند که این سلول‌ها به سختی از سلولهای بنیادی مزانشیمی(MSC) به دست آمده از مغز استخوان انسان قابل تشخیص هستند(٤) بنابراین بیان کردند کهMSC کاربرد قابل‌توجهی را در فرآیندهای بالینی از جمله ترمیم تاندون‌ها دارد(٥،٦).

MSC سلول‌های فیبروبلاست چند قابلیتی می باشند (۷،۸) که می توان آنها را از انواع مختلف بافت ها شامل مغز استخوان، بافت چربی ،ACL و بافت تاندونی جدا کرد (۹). این سلولها توانایی ترشح انواع مختلفی از فاکتورهای رشد اتوکرین و پاتوکرین را دارند و باعث احیای MSC،افزایش بقای سلولی و تکثیر سلولی می گردند(۱۰،۱۱). همچنین سلول‌های مزانشیمی می توانند فاکتورهای بیواکتیوی را ترشح کنند که آنها را به تنظیم عملکرد دیگر انواع سلولها قادر می سازد. بنابراین سلول‌های MSC دارای پتانسیل بالایی جهت کاهش فیبروز،ترمیم زخم و بافت های آسیب دیده می باشد(۷،۱۲). در همین زمینه چانگ (۲۰۰۷) نشان داد که درمان آسیب تاندون آشیل خرگوش باسلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند پارامترهای بیولوژیکی و مکانیکی را در مرحله اولیه ترمیم تاندون بهبود بخشد(۱۳). در این راستا پژوهشگران نیز بیان نمودند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی که در تشکیل فیبرهای عضلانی و رشد عروقی شرکت می‌کنند، می‌توانند در نتیجه فعالیت ورزشی افزایش یابند(١٤). بنابراین می‌توان گفت که هدف از سلول درمانی، استفاده از یک روش مناسب است که شامل ترکیبی از فعالیت‌های مختلف با هدف جایگزینی، ترمیم و تقویت عملکرد نوع

سلولی، تقویت بافت‌ها و ارگان‌ها با شدت مختلف به صورت سلول‌های اتولوگ (مشتق از خود) می باشد(۱۵). از سوی دیگر باید اذعان دا شت که فرآیند ترمیم تاندون و رباط‌ها دارای الگوهای م شابهی با فرآیندهای ترمیمی سایر بافت‌ها می‌باشد که باعث شکل‌گیری لخته در اطراف ناحیه آسیب دیده می‌گردد. لخته‌های خون در بر گیرنده سلول‌ها و پلاکت‌ها می باشند(۱٦). پلاکت‌ها نیز حاوی موادی هستند که عامل اصلی در فرایند ترمیم و بازسازی بافت‌ها محسوب می شوند و به آنها عوامل ر شد گفته می شود. هنگامی که این مواد آزاد می شوند سبب ر شد، تکثیر و تمایز سلول‌های مختلف می شوند که نتیجه‌ی این امر افزایش کلاژن، الا ستین، ماده‌ی بین سلولی، عروق و در نهایت ضخیم شدن و ترمیم شدن بافت‌ها است(۱۷). در این راستا مطالعات متعددی نشان داده است که محرک‌های گوناگونی از جمله فعالیت جسمانی باعث تغییر در محتوی و عملکرد پلاکت‌ها می‌گردد که این پاسخ پلاکت‌ها به فعالیت ورزشی به عوامل مختلفی مانند نوع و شدت تمرین و نیز آمادگی بدنی بستگی دارد(۱۷).

بدین ترتیب با توجه به پیچیدگی فرآیند ترمیم که مولکول‌های بسیاری در این زمینه درگیر می‌باشند، فاکتورهای رشد نقش مرکزی را در این زمینه ایفا می کنند که افزایش هماهنگ تمام این عوامل ر شد پس از فعالیت‌های ج سمانی یک محرک برای افزایش قابلیت تولید آنها لحاظ می گردند. به علاوه اخیرا نیز نقش سلول‌های بنیادی مزانشیمی در تر شح فاکتورهای ر شد به و ضوح آ شکار شده ا ست و از نظر بع ضی از پژوه شگران ا ستفاده از این فاکتورها باعث فرآیند یکپارچه سازی و پیو ستگی در بافت پیوندی می شود. همچنین با توجه به نقشی که تمرینات ورز شی در آماده سازی سلول‌های بنیادی برای پیوند آنها دارد، به نظر می‌رسد مشارکت سه گانه فعالیت بدنی، سلول‌های بنیادی و پلاسمای غنی از پلاکت‌ها بتواند در تسریع ترمیم تاندون عمل کند ولی مطالعات اندکی بر روی پتانسیل واقعی این سلول‌ها همراه با پلا سمای غنی از پلاکت‌ها و فعالیت ج سمانی صورت گرفته ا ست و اطلاعات کافی در این زمینه موجود نیست . در پژوهش حا ضر پژوه شگر با طرح این سؤال که آیا فعالیت‌بدنی و تزریق آلوژنیک سلولهای مزانشیمی مغز ا ستخوان به همراه تزریق پلاسمای غنی از پلاکت‌ها می‌تواند در ترمیم تاندون آشیل مؤثر باشند به بررسی آن پرداخت.

روش شناسی پژوهش

پژوهش حاضر از نوع توسعه ای و روش آن بالینی با طرح تجربی می باشد که جامعه آماری آن را ۷٤ سر موش صحرایی از نژاد ا سپراگوداولی(با سن ۳ ماه و میانگین وزن۲۰ ±۲۰۰ گرم) که در شرایط ا ستاندارد آزمای شگاهی به صورت گروه‌های ۳ تایی در قفس‌های پلی کربنات شفاف به ابعاد ۱۸×٥٤ و ارتفاع۱۸ سانتیمتر ودر محیطی با دمای ۲±۲۱درجه سانتی‌گراد و چرخه رو شنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ٥±٥۰ در صد نگهداری می شدند و دسترسی آنها به آب وغذا آزاد بود، انتخاب شدند و در ٦۹ سر از آنها آسیب تاندونی ایجاد گردید . موش‌های صحرایی به طور تصادفی به گروه‌های ۱) فعالیت در آب[1](AA)، ۲) تزریق سلولهای بنیادی مزانشیمی[2](MSC)، ۳)تزریق

1. Aquatic Activity(AA)
2. Mesenchymal Stem Cell(MSC)

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

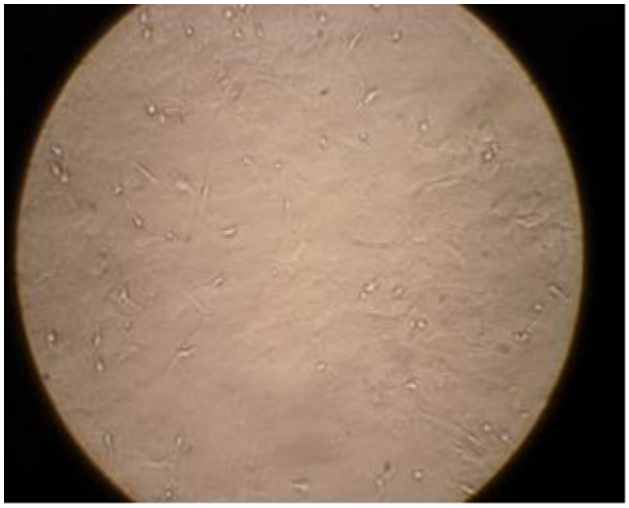
پلاســـمای غنی از پلاکت[1](PRP)، ٤)فعالیت در آب به همراه تزریق ســـلولهای بنیادی مزانشـــیمی(AA+MSC)، ٥) فعالیت در آب به همراه تزریق پلاســـمای غنی از پلاکت(AA+PRP) ، ٦) فعالیت در آب به همراه تزریق ســـلولهای بنیادی مزانشیمی و پلاسمای غنی از پلاکت(MSC+PRP+AA) ،٧)تزریق سلولهای بنیادی مزانشیمی و پلاسمای غنی از پلاکت(MSC+PRP) و ٨) کنترل آسیب[2](CI) تقسیم‌بندی شدند. ٥ سر از موش‌های صحرایی سالم که هیچ گونه آســیبی در آنها ایجاد نشــده بود به عنوان گروه کنترل ســالم[3](CO) قرارداده شــدند. ٧٢ ســاعت پس از جراحی، براساس تقسیم‌بندی ذکر شده به گروه‌ها سلول‌های جداسازی شده از مغز استخوان(١میلیون سلول در ١ میلی لیتر محیط کشت فاقد FBS) و پلاسمای غنی از پلاکت (به میزان ١ میلی لیتر) از طریق کتتر تزریق گردید. سپس یک هفته بعد از ترمیم محل بخیه‌ها، گروه‌های AA (١، AA+MSC، 2) AA+PRP، 3) و MSC+PRP+A (4 به مدت ٨ هفته و هر هفته ٥ جلسه فعالیت در آب را انجام دادند. در پایان هفته هشتم موش‌های صحرایی نیز به روش اخلاقی کشته شدند و با جدا کردن تاندون آشیل و قرار دادن آنها در فرمالین ١٠ درصد، نمونه‌ها به آزمایشگاه پاتولوژی فرستاده شدند. درآزمایشــگاه پاتولوژی از نمونه‌های ارســالی مقطع طولی تهیه شــد و برای ارزیابی میزان ترمیم تاندونی از رنگ‌آمیزی اختصــاصــی شــامل Mason Trichrome و H&E اســتفاده شــد. درآزمایشــگاه نیز فاکتورهای ترمیمی مانند تعدادفیبروبلاست[4] در (HPF)fild High power 400، رسوب رشته های کلاژن[5] و میزان دانسیته سلولی[6] برای بررســی روند ترمیم و امتیاز بندی آنها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. لازم به ذکر اســت که پاتولوژیســت نمونه‌ها را به صورت چشمی(Blind)مشاهده کرده و از گروه‌های مورد بررسی اطلاعی نداشت. به علاوه قطر تاندون‌ها با استفاده از نرم افزارDino Capture و میکروسکوپ Optika با دوربین Dino Eye نیز اندازه‌گیری گردید. از سوی دیگر برای اندازه‌گیری TGF-B به میزان ٥ ســی‌ســی خون از قلب موش‌های صــحرایی گرفته شــد و به وســیله کیت الایزا میزان TGF-B اندازه‌گیری شد.

روش جداسازی و تمایز سلولهای بنیادی مزانشیمی: در ابتدا ٢ سر موش صحرایی از نژاد اسپراگوداولی پس از آرام کشی با گاز CO_2، به روی سینی منتقل شد. پس از الکل پاشی پاها و محوطه شکمی و تمیز کردن پوست، بافت و عضلات اطراف ران و درشت‌نی، به آرامی استخوان‌های ران و درشت‌نی جدا شد. دو انتهای استخوان از محل اپی‌فیز به کمک بن‌کاتر قطع شد. سرنگی را که حاوی محیط کشت DMEM&PEN/STREP بدونFBS است پر کرده و با قرار دادن استخوان در بالای فالکون، به کمک پنس استخوان شست‌شو داده شد به گونه‌ای که محتویات استخوان به درون فالکون تخلیه گردد. محتویات فالکون با دورrpm ١٢٠٠ به مدت ٥ دقیقه ســانتریفیوژ گردید، محیط رویی دور ریخته

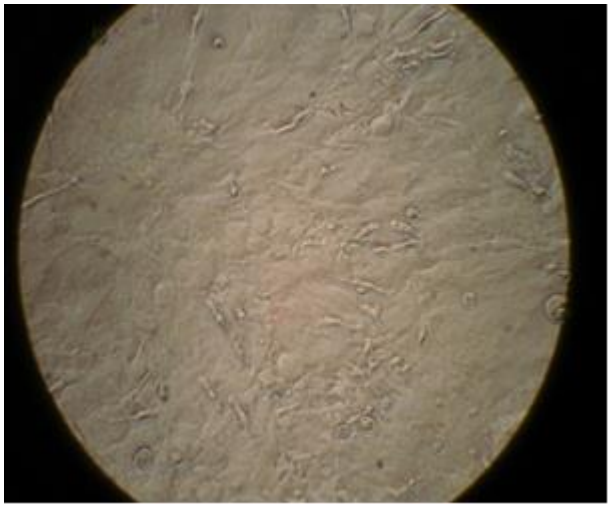
1. Platelet Rich Plasma(PRP)
2. Control Injury(CI)
3. Control Intact(CO)
۴. Fibroblast
۵. Collagen Deposition
۶. Cellularity

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

شد و ۱ میلی لیتر محیط کشت تازه به رسوب حاصل در فالکون اضافه گردید و با پیپتاژ محتویات درون فالکون یک سوسپانسیون سلولی ایجاد شد. با انتقال سوسپانسیون سلولی به داخل فلاسک، ۵ میلی لیتر محیط کشت تازه به داخل فلاسک اضافه گردید. سلول‌ها در زیر میکروسکوپ به صورت شفاف و کروی شکل مشاهده شدند. سلول‌ها به داخل انکوباتور (CO_2 ۵٪، دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۵٪)انتقال داده شدند. محیط کشت در روز بعد و سپس هر سه روز یکبار تعویض شده تا سلول‌های غیر مزانشیمی از محیط خارج و سلول‌های بنیادی مزانشیمی تقریبا خالص با تراکم ۸۰٪-۷۰٪باقی بمانند.در این مرحله سلول‌ها از حالت کروی به دوکی تغییر شکل می‌دهند(شکل ۱الف و ب).



شکل ۱الف: سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان در پاساژ صفر با بزرگنمایی 20× (p_0).

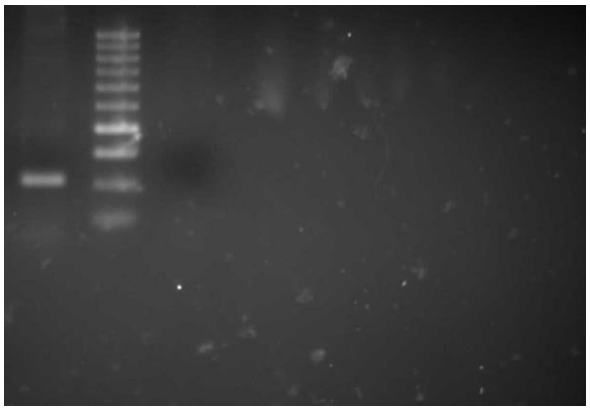


شکل ۱ب: سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان در پاساژ یک با بزرگنمایی 20× (p_1).

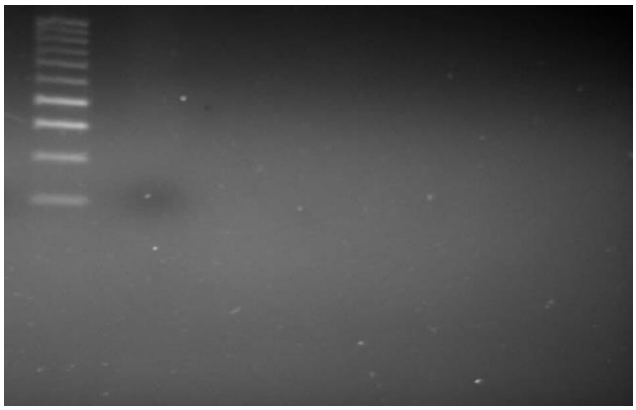
برای تشخیص سلول‌های بنیادی مزانشیمی از روش RT-PCR نیزاستفاده شد. برای اثبات حضور سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان، با استفاده از تکنیک RT-PCR و مارکر سطحیCD73 که یکی از مارکرهای اختصاصی سطحی شناخته شده‌ی سلول های مزانشیمی می‌باشد، تایید گردید. هم‌چنین با استفاده از این تکنیک عدم حضور مارکر CD45 که از مارکرهای سطحی سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک (خونساز) می‌باشد اثبات شد(شکل۲الف و ب). برای شمارش سلول‌ها نیز فلاسک حاوی سلول با PBS شست و شو و به هر فلاسک ml ۳ آنزیم تریپ سین (Bio idea group) اضافه شد و به مدت ۳ دقیقه در انکوباتور انکوبه شد. محتویات فلاسک سلولی به فالکون منتقل گردید و به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ (SIGMA 2-16PK) ۱۵۰۰ rpm و دمای ٤ درجه سانتی گراد قرار داده شد؛ فاز مایع درون فالکون دور ریخته شد. رسوب سلولی به دست آمده با ml ۱ محیط کشت جدید مخلوط شد و۷ لاندا از سوسپانسیون سلولی روی لام هموسیتومتر با ۷ لاندا رنگ تریپان بلو مخلوط شد، لامل بر روی مخلوط سلول قرار داده شد و در زیر میکروسکوپ نوری، با بزرگنمایی۱۰، ٤ خانه ١٦ تایی در هر چهار طرف شمارش گردید. در نهایت با توجه به فرمول زیر تعداد سلول‌ها محاسبه شد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

تعداد سلول در ۱ میلی لیتر= $x2\ x10^4$ میانگین تعداد سلول های شمارش شده در ٤ خانه



شکل۲ الف: حضورCD۷۳ بااندازه ۲۰۸BP



شکل۲ب: حضورCD۴۵ بااندازه ۴۵۰BP

تهیه پلاسمای غنی از پلاکت: برای تهیه‌ی پلاسمای غنی از پلاکت، در ابتدا ۳ موش صحرایی از نژاد اسپراگوداولی انتخاب شدند . سپس آنها بیهوش شده و ۵ میلی‌لیتر خون از قلب حیوان گرفته شد و سریعا به لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد سیترات دکستروز منتقل گردید. نمونه خون با دور ۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه، سانتریفیوژ گردید تا برا ساس جرم حجمی اجزاء خون، سه لایه‌ی جداگانه که شامل پلاسما (در سطح)، بافی‌کوت حاوی گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها (در میانه) و حجم فشرده‌ی گلبول‌های قرمز(در زیر)تشکیل شود. در این مرحله لایه‌ی میانی (بافی‌کوت)، توسط سمپلر، با دقت جمع آوری و به میکروتیوب منتقل شد و سپس برای بار دوم با دور ۵۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه، سانتریفیوژ شد تا پلاکت‌ها ته‌نشین شوند(پلاسمای غنی از پلاکت) و پلاسمای فقیر از پلاکت از سطح آن خارج گردد. حدود ۰/۰۳ میلی‌لیتر پلاسمای غنی از پلاکت به دست آمد که به صورت تازه در همان روز مورد استفاده قرار گرفت .

چگونگی ایجاد آسیب: در ابتدا موش‌های صحرایی با تزریق داروهای کتامین mg/kg ۹۰و زایلازین mg/kg ۸ بیهوش شده و برای ایجاد آ سیب و مدل سازی بیماری، به پ شت روی تخت جراحی قرار داده شدند و پای را ست آنها روی تخت به حالت ثابت نگه داشته شد و در پشت پای راست یک شکاف به اندازه ۲ سانتی متر ایجاد شد . با قرار دادن یک پنس در زیر تاندون آ شیل (شامل تاندون های گاستروکنمیوس و سولئوس) آن را از سایر بافت های نرم جدا ساخته و سپس تاندون جدا سازی شده را به و سیله پنس خون بند مو سکیتو له نموده(crush)، به گونه‌ای که تعدادی از تارهای کلاژنی آن به حالت گسسته در آمدند(۱۸).

برنامه تمرینی به۲مرحله تقسیم شد:

۱)مرحله آ شنایی: دراین مرحله موش‌های صحرایی به مدت ۳روز ، روزانه ۵ دقیقه در یک اکواریوم شیشه ای به طول ۵۰ عرض ٤۰ وعمق ۸۰ سانتیمتر و با دمای آب ۳٤ درجه سانتی گراد به صورت اختیاری فعالیت کردند.

۲)مرحله ا ضافه بار: در هفته اول تمرین، موش‌های صحرایی به مدت۵ دقیقه و ۵ روز در هفته به صورت اختیاری در آب دست پا زدند.در هفته‌های دوم تا چهارم به ترتیب ۵ دقیقه به مدت تمرین اضافه گردید، به گونه‌ای که در هفته

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]

[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]

[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

دوم تا چهارم به ترتیب به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه به فعالیت پرداختند. همچنین مدت تمرین درهفته‌های پنجم و ششم نیز به ۲۵ دقیقه در روز افزایش یافت. با توجه به رعایت اصل اضافه بار در پژوهش حاضر میزان فعالیت موش‌های صحرایی نیز در هفته‌های هفتم و هشتم به ۳۰ دقیقه در روز رسید(جدول۱)(۱۹ ،۲۰).

جدول ۱: برنامه تمرینی آزمودنی ها در طول دوره پژوهش

ایام هفته	روز های هفته	مدت تمرین
هفته اول	روز اول تا پنجم	۵ دقیقه
هفته دوم	روز اول تا پنجم	۱۰ دقیقه
هفته سوم	روز اول تا پنجم	۱۵ دقیقه
هفته چهارم	روز اول تا پنجم	۲۰ دقیقه
هفته پنجم و ششم	روز اول تا پنجم	۲۵ دقیقه
هفته هفتم و هشتم	روز اول تا پنجم	۳۰ دقیقه

از میانگین و انحراف استاندارد برای توصیف داده ها و برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کالموگروف–اسمیرنوف استفاده شد. به علاوه برای بررسی تعداد فیبروبلاست‌ها، میزان رسوب کلاژنی، میزان دانسیته سلولی، تغییرات TGF-β و قطر تاندون در گروه‌های مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت معنادار بودن مقدار F از آزمون تعقیبی‌توکی استفاده شد. تحلیل داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS، نسخه ۱۶ انجام شد.

یافته‌ها

در جدول ۲ میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش شامل تعداد فیبروبلاست‌ها، رسوب رشته‌های کلاژن، میزان دانسیته سلولی، تغییرات TGF-β۱ و قطر تاندون در گروه‌های مورد مطالعه نشان داده شده است.

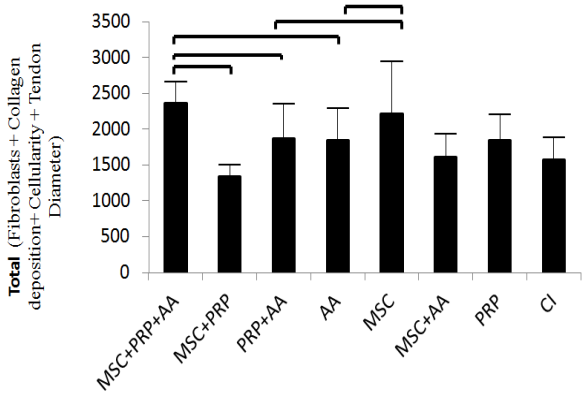
جدول۲: میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش در گروه های مورد مطالعه

متغیرهای پژوهش / گروه‌ها	تعدادفیبروبلاست‌ها (تعداد × بزرگنمایی ۴۰۰)*	رسوب رشته‌های کلاژن (تراکم کلاژن × بزرگنمایی ۴۰۰)	میزان دانسیته سلولی (تعداد × بزرگنمایی ۴۰۰)*	TGF-β۱ (Pg/ml)	قطرتاندون (میکرومتر)	مجموع (فیبروبلاست+ کلاژن+دانسیته سلولی+قطر تاندون)
MSC	۵۰±۷/۶	۲/۷۱±۰/۴۸	۱/۲۸±۰/۴۸	۳۳۵/۷۲±۳۰۳/۷	۲۱۶۴/۷۱±۷۴۲	۲۲۲۳/۱±۷۴۰
PRP	۵۹/۷۱±۶/۹	۱/۴۲±۰/۵۳	۱/۷۱±۰/۴۸	۴۱۶/۶۶±۱۳۱/۷	۱۷۸۰/۸۴±۳۷۹	۱۸۴۳/۶±۳۷۹
MSC+ PRP	۶۲/۲۸±۲/۰۵	۲±۰/۰	۱/۷۱±۰/۴۸	۴۱۱/۷۱±۲۷۵/۳	۱۲۸۲/۳۸±۱۶۹	۱۳۴۸/۳۸±۱۶۸
PRP+AA	۶۸/۱۴±۷/۱	۱/۴۲±۰/۵۳	۱/۵۷±۰/۵۳	۴۴۹/۰۴±۱۱۵/۹	۱۸۰۴/۶۲±۴۸۳	۱۸۷۷/۱۲±۴۹۰
MSC+AA	۵۲/۸۵±۱۰/۶	۲/۴۲±۰/۵۳	۱/۵۷±۰/۵۳	۳۹۴/۰۵±۴۷/۸۳	۱۵۷۱/۶۹±۳۲۷	۱۶۲۰/۵۴±۳۳۳
PRP+MSC+AA	۴۷/۴۲±۸/۵	۲/۸۵±۰/۳۷	۱/۱۴±۰/۳۷	۶۶۷/۰۸±۲۹۸/۰۶	۲۳۱۶/۷±۳۰۹	۲۳۶۸/۵۳±۳۱۰
AA	۶۶±۲/۱	۱±۰/۰	۲±۰/۰	۴۳۱/۲±۱۱۳/۸۸	۱۷۸۲/۸۴±۴۵۵	۱۸۵۲/۱۷±۴۵۴
CI	۵۷/۶±۲/۳	۱±۰/۰	۲±۰/۰	۳۷۳/۰۳±۹۱/۹۴	۱۵۲۰/۴۳±۳۱۵	۱۵۷۷±۳۱۷
CO	۴۶/۸±۴/۶	۲/۶±۰/۵۴	۱/۲±۰/۴۴	۴۳۳/۴۱±۱۰۴/۶۴	۱۴۷۸/۶۶±۱۹۵	۱۵۲۶/۰۶±۱۹۴

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

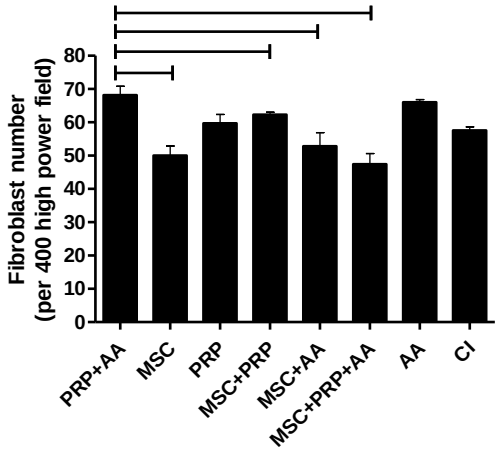
Article I. * تعداد سلول ها ×400 high power field

نتایج تحلیل آماری (نمودار۱) نشـــان داد که فعالیت درآب به همراه تزریق آلوژنیک ســـلول‌های بنیادی مزانشـــیمی و پلاسمای غنی از پلاکت بر ترمیم تاندون آشیل در گروه‌های مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری دارد. در بررسی جفت گروه‌ها از لحاظ ترمیم تاندون آشـیل تفاوت معناداری بین گروهMSC+PRP+AA با گروه‌های (P= 05/0)MSC+PRP، (P= 001/0)PRP+AA و (P= 001/0) AA وجود دارد. همچنین بین گروهی که MSC را دریافت می‌کردند با گروه‌های (P= 001/0) AA و (P= 001/0)PRP+AA تفاوت معناداری مشاهده شد.



نمودار۱: سطح معناداری برای ترمیم تاندون آشیل در گروه‌های مورد مطالعه

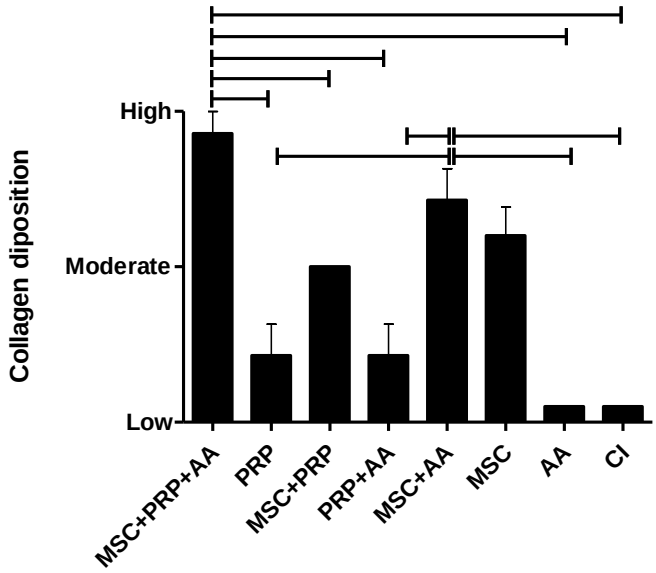
ترمیم تاندون آ شیل شامل ٤ بعد تعداد فیبروبلا ست‌ها، میانگین ر سوب ر شته‌های کلاژن، میزان دان سینه سلولی و میانگین قطر تاندونی می‌با شد. بنابراین برای ارزیابی دقیق‌تر این ابعاد مورد برر سی قرار گرفت. نتایج بد ست آمده ن شان داد که فعالیت درآب به همراه تزریق آلوژنیک ســـلول‌های بنیادی مزانشـــیمی و پلاســـمای غنی از پلاکت بر تعداد فیبروبلاســـت ها، میانگین رســـوب رشـــته های کلاژن، میزان دانســـیته ســـلولی و میانگین قطر تاندونی، درگروه‌های مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری دارد که با مقایســـه جفت گروه‌ها مشـــخص گردید که از لحاظ تعداد فیبروبلاســـت‌ها تفاوت معناداری بین‌گروهی که PRP+AA دریافت می‌کردند با گروه‌های MSC(P= ۰/۰۰۱)، MSC+AA(P= ۰/۰۳)، MSC+PRP+AA(P= ۰/۰۰۱) و MSC+PRP (P= ۰/۰٤) وجود دارد(نمودار۲).



[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

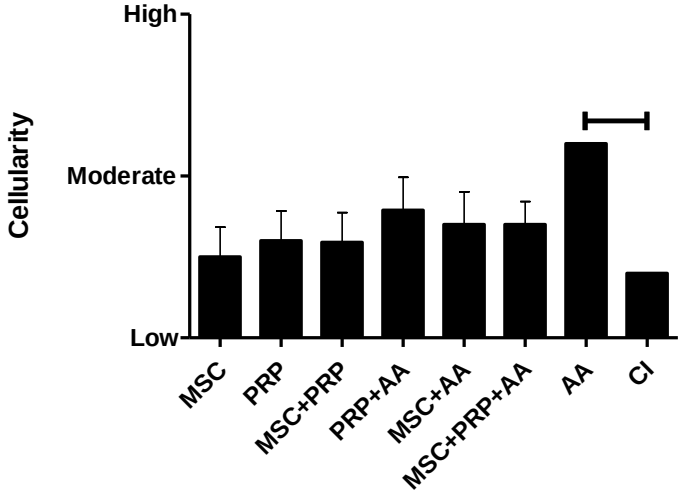
نمودار۲: سطح معناداری برای تعداد فیبروبلاست هادر گروه‌های مورد مطالعه

همچنین از لحاظ رسوب رشته‌های کلاژن بین گروه MSC+PRP+AA نسبت به گروه‌های AA(P=۰/۰۰۱)، PRP(P=۰/۰۰۱)، PRP+AA(P=۰/۰۰۱)، MSC+PRP(P=۰/۰٤) و CI(P=۰/۰۰۱)تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین گروه MSC+AA نسبت به گروه های AA(P=۰/۰۰۱)، PRP(P=۰/۰۲)، PRP+AA(P=۰/۰۲) و CI(P=۰/۰۰۱) تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود(نمودار۳).



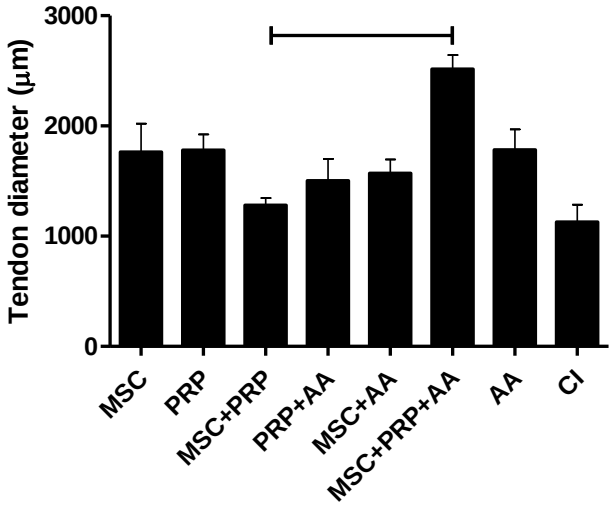
نمودار۳: سطح معناداری برای میزان رسوب رشته‌های کلاژن در گروه‌های مورد مطالعه

علاوه بر این مقایسه جفت گروه‌ها از لحاظ میزان دانسیته سلولی نشان داد که فقط بین گروه AA نسبت به گروه CI (P=۰/۰۵)تفاوت معناداری وجود دارد(نمودار٤)، در حالی‌که از لحاظ قطر تاندونی فقط بین گروه MSC+PRP نسبت به گروه MSC+PRP+AA تفاوت معناداری مشاهده گردید(نمودار۵).



[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

نمودار۴: سطح معناداری برای میزان دانسیته سلولی درگروه‌های مورد مطالعه



نمودار۵: سطح معناداری برای قطر تاندون در گروه‌های مورد مطالعه

از سوی دیگر با توجه به نقش فاکتورهای رشد به ویژه TGF-β1 در ترمیم تاندون، بررسی این فاکتور رشدی نشان داد که فعالیت درآب به همراه تزریق آلوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی و پلاسمای غنی از پلاکت بر میزان تغییرات فاکتور رشد TGF-β۱ سرم خون در گروه‌های مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری نشان نداد(P=۰/۱).

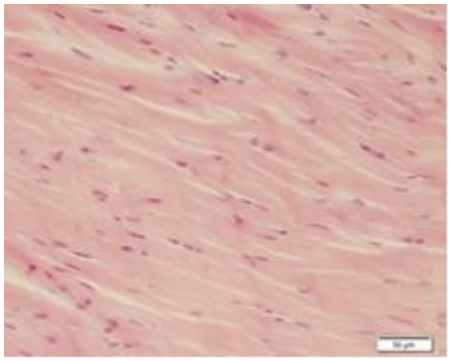
بحث و نتیجه‌گیری

هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر فعالیت در آب به همراه تزریق آلوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی و پلاسمای غنی از پلاکت‌ها بر ترمیم تاندون آشیل بود. نتایج حاصل نشان داد که تزریق همزمان MSC+PRP به همراه فعالیت در آب منجربه یک افزایش ۵۰ و ۵۲ درصدی به ترتیب در ترمیم تاندون آشیل و قطر تاندونی می‌شود، اگرچه که این تغییرات از لحاظ آماری نسبت به گروه CI معنادار نبوده است؛ اما می توان به اثر متقابل سلول درمانی و فعالیت در آب بر میزان ترمیم تاندون آشیل اشاره کرد که این عدم معنی‌داری را می‌توان به تعداد و نوع آزمودنی‌ها و نوع تاندون انتخاب شده در پژوهش نسبت داد. زیرا که تزریق PRP در تاندون های گوناگون تاثیرات مختلفی را اعمال می‌کند که این مسئله به ویژگی‌های استرسی و عروقی هر تاندون در پاسخ به تزریق PRP بستگی دارد(۲۱). به علاوه نتایج پژوهش حاضر نشان داده است که تزریق همزمان پلاسمای غنی از پلاکت و سلول‌های بنیادی مزانشیمی همراه با فعالیت در آب می‌تواند اثربخشی بهتری را در روند ترمیم داشته باشد و اگر در موضعی به دلیل کاهش جریان خون تعداد پلاکت‌ها کم باشد و یا عوامل رشد آزاد شده برای ترمیم کافی نباشد می‌توان با تزریق پلاکت و یا محتوی آنها روند ترمیم را افزایش داد و زمان درمان تاندون را تسریع کرد. میچانا و همکارانش(۱۹۸٤) نشان دادند که تمرین ورزشی روی تردمیل به مدت

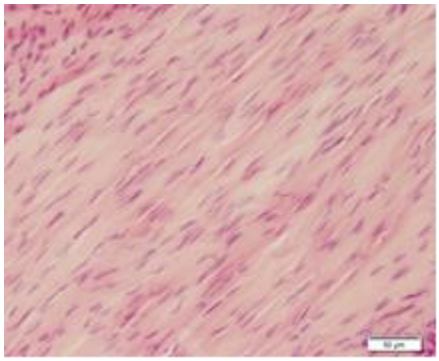
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

یک هفته می‌تواند اندازه فیبرهای کلاژنی و قطر تاندونی را در موش افزایش دهد. کروین و همکارانش(۱۹۸۸) نیز بیان کردند که تمرینات ا ستقامتی شدید منجربه افزایش ر سوب ر شته‌های کلاژن در تاندون آ شیل می‌گردد. از سوی دیگر نتایج حاصل از پژوهش‌ها نشان داده که تمرین ورزشی منجربه افزایش بیان بسیاری از فاکتورهای رشد در تاندون آشیل می‌گردند که این م سئله می‌تواند سنتز کلاژن و تکثیر سلولی را در تاندون تحریک نماید(۲۲). بنابراین با نگاهی کلی به نتایج پژوهش‌های موجود و پژوهش حاضـــر می‌توان گفت که به نظر می‌رســـد انجام فعالیت در آب همزمان با تزریق پلاســـمای غنی از پلاکت و ســـلول‌های بنیادی مزانشـــیمی با نقش متقابل بر یکدیگر و تاثیر بر فاکتورهای رشـــد مؤثر بر تکثیر فیبروبلاست‌ها و در نتیجه سنتز کلاژنی می‌توانند منجربه افزایش ترمیم تاندون و قطر تاندونی گردند .

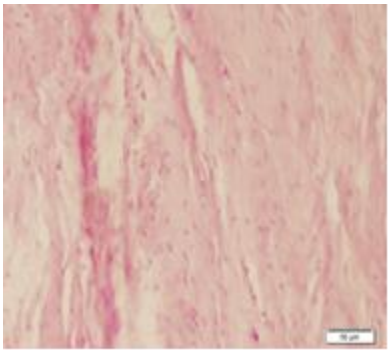
در تایید این مو ضوع، برر سی فاکتورهای هیستوپاتولوژیک به منظور ارزیابی میزان ترمیم تاندون آ شیل ن شان داد که تعداد فیبروبلاســـت‌ها در گروه‌های AA+PRP، AA، MSC+PRP و PRP به ترتیب یک افزایش ۱۸ ،۱٤ ، ۸ و۳ درصدی را نسبت به گروه CI داشته است (شکل ۳)، در حالی که در گروه‌های MSC+PRP+AA، AA+MSC و MSC به ترتیب یک کاهش ۱۸، ۹ و ۱٤ درصدی نسبت به گروه CI مشاهده گردید. بنابراین به توجه به نتایج پژوهش حا ضر که به افزایش در تعداد فیبروبلا ست‌ها در دو گروه AA+PRP و AA به تنهایی نسبت به سایر گروه‌های مورد مطالعه اشاره می‌کند، می‌توان به نقش مؤثر پلاسمای غنی از پلاکت بر میزان ترمیم تاندون آشیل و تاثیر متقابل فعالیت در آب بر آن تاکید کرد. در همین را ستا ارنی(۲۰۱۰) و گرازیانی(۲۰۰۵) ن شان دادند که پلا سمای غنی از پلاکت می‌تواند تکثیر فیبروبلاست ها را تحریک نموده، باعث افزایش تعداد آنها گردد. اگر چه نتایج پژوهش حا ضر از لحاظ افزایش در تعداد فیبروبلا ست‌ها با پژوهش‌های ذکر شده همخوانی دارد، اما این افزایش از لحاظ آماری نسبت به گروه CI معنادار نبود و یک دلیل احتمالی برای آن می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع و تعداد آزمودنی ها و اختلاف در دوزهای تزریق شده از پلا سمای غنی از پلاکت در پژوهش‌های ذکر شده نسبت به پژوهش حا ضر با شد؛ زیرا پژوهشگران بیان نمودند که افزایش نسبی در غلظتPRP می‌تواند تکثیر و تمایز فیبروبلاست‌ها را تحت تاثیر قرار دهد(۲۳).



تشکیل رشته های کلاژن به طور متوسط همراه با جمعیت بیشتر فیبروبلاستی در گروه تزریق پلاسمای غنی از پلاکت ها و فعالیت در آب (رنگ آمیزیH&E؛بزرگنمایی ۲۰۰).



تکثیر زیاد فیبروبلاستی به همراه رسوب کم کلاژن‌ها در گروه فعالیت در آب(رنگ آمیزیH&E؛بزرگنمایی ۲۰۰).



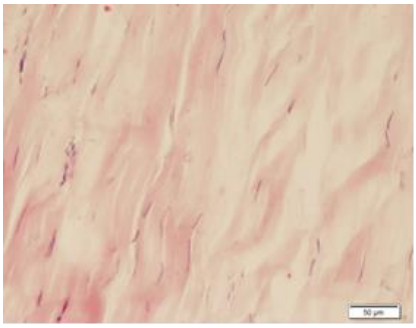
توزیع نا منظم فیبروبلاست‌ها به همراه رسوب کلاژن به صورت موضعی و غیر یکنواخت در گروه کنترل آسیب(رنگ آمیزیH&E؛بزرگنمایی ۲۰۰).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

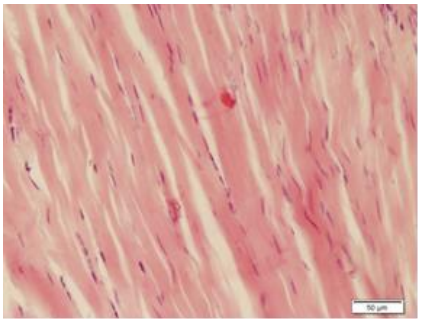
شکل۳: افزایش میزان فیبروبلاست‌ها در گروه های مورد مطالعه که افزایش چشمگیرتری را داشته است.

به طور کلی می‌توان گفت که درمان تاندونی نیز همانند دیگر بافت‌های بدن با واکنش‌های التهابی آغاز می‌شـــود که وجود مرحله حاد التهابی برای پیشرفت عمل ترمیم و فیبروپلازی ضروری می‌باشد به طوری که هر چه واکنش التهابی شدیدتر باشد، بهبود زخم تسریع می‌شود. همچنین در پاسخ به ایجاد آسیب، فیبروبلاست‌ها به بستر زخم مهاجرت کرده و شروع به ترشح کلاژن نوعIII می‌نمایند که در مراحل بعد توسط کلاژن نوعI جایگزین می شوند(۲٤). از سوی دیگر براساس نتایج پژوهش‌ها نشان داده شده که اجسام خارجی موجب تحریک محل شده و مرحله‌ی التهابی را طولانی‌تر می‌کنند(۲٤). بنابراین تزریق پلاسـمای غنی از پلاکت می‌تواند به عنوان یک جسـم خارجی روش درمانی مناسـبی برای واکنش‌های التهابی محسوب گردد که مطالعات کلینیکی نشان داده‌است که به کار بردن پلاسمای غنی از پلاکت راهی مناسب برای افزایش مکانیسم‌های ترمیمی در بدن به شمار می‌آید و تجمع آن باعث تکثیر فیبروبلاست‌ها می‌گردد(۲۵).

به علاوه فشارهای مکانیکی می‌تواند بر هموستاز کلاژن‌ها تاثیرگذار باشد و تحریکات مکانیکی بیان کلاژن‌ها را در انواع گوناگونی از بافت‌ها مانند کلیه، قلب، عروق و تنفس افزایش می‌دهد که در محیط آزمایشـــگاهی نیز پاســـخ‌های مشابهی برای فیبروبلاست‌های تاندون و لیگامنت‌های انسانی بعد از تمرین و فعالیت ورزشی طولانی‌مدت گزارش شده است(۲٦). در تایید این موضوع، نتیجه پژوهش حاضر نشان داد که تزریق پلاسمای غنی از پلاکت و سلول‌های بنیادی مزانشیمی به همراه فعالیت در آب می‌تواند باعث یک افزایش ۱۰ درصدی در رسوب رشته‌های کلاژن نسبت به گروه کنترل آســـیب گردد که‌این تفاوت از لحاظ آماری نیز معنادار بود. بنابراین به نظر می‌رســـد که تحریکات مکانیکی و فعالیت ورزشی می‌تواند باعث افزایش تعداد فیبروبلاست‌ها و در نتیجه رسوب رشته‌های کلاژنی گردد که این مسئله با توجه به نتایج پژوهش حاضـر که فعالیت در آب نیز برافزایش تعداد فیبروبلاســت ها و رســوب رشــته های کلاژن مؤثر بوده است، تایید می‌گردد(شکل٤). بررسی میزان دانسیته سلولی در پژوهش حاضرنشان داد که تنها در گروه فعالیت در آب نسبت به گروه کنترل آسیب تفاوت معناداری وجود دارد. لین و همکارانش(۲۰۱۳) بیان کردند که میزان کلاژن‌ها و دانسیته سلولی با افزایش فعالیت متابولیکی افزایش می‌یابد که این می تواند تاثیر مثبتی را بر روند ترمیم داشته باشد(۲۱).



نقش متقابل فعالیت در آب،تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی و پلاسمای غنی از پلاکتها که منجربه تشکیل باندل‌های ضخیم کلاژن همراه با تشکیل فیبروبلاست‌ها به صورت پراکنده شده است (رنگ آمیزیH&E؛بزرگنمایی ۲۰۰).



رشته های موازی کلاژن و توزیع منظم سلول‌های فیبروبلاست در طول یک تاندون نرمال در گروه کنترل(رنگ آمیزیH&E؛بزرگنمایی ۲۰۰).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]

[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]

[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

شکل۴: افزایش میزان کلاژن‌ها در گروه های مورد مطالعه

بنابراین می‌توان گفت که در تاندون طبیعی میزان غلظت کلاژن‌ها و اندازه فیبرهای کلاژنی بعد از ورزش افزایش می‌یابد که این تغییرات فرا ساختاری و مرفولوژیکی با بهبود عملکرد تاندون آ شکار می شود. از سوی دیگر متابولیسم کلاژن‌ها و بافت پیوندی تحت تاثیر میزان فعالیت بدنی اســـت ؛ به گونه‌ای که با کاهش میزان فعالیت، ســـاخت بافت پیوندی نیز کاهش می یابد. برعکس فعالیت ورزشـــی میزان تمایز و تغییر بافت پیوندی را در تاندون‌ها افزایش می دهد که این مسئله منعکس کننده سازگاری‌های فیزیولوژیکی و ترمیم آ سیب‌های وارده بر ساختار ماتریکس خارج سلولی ناشی از فعالیت ورزشی می باشد(۲۷).

ازســـوی دیگر با توجه به مطالعات موجود که به نقش فاکتورهای رشـــد به ویژهTGF-β1 در ترمیم تاندون اشـــاره کرده‌اند، در پژوهش حاضر نیز این فاکتور رشدی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که میزان TGF-β1 در گروه‌های MSC+PRP+AA ،PRP، MSC+PRP، AA+PRP، AA+MSC و AA به ترتیب یک افزایش ۷۸، ۱۱، ۱۰، ۲۰، ۵ و ۱۵ درصدی را نسبت به گروه CI نشان داد ؛ در حالی که در گروه MSC نسبت به گروه CI یک کاهش ۱۰ درصـــدی مشـــاهده گردید که این تغییرات از لحاظ آماری معنادار نبود. اما با توجه به این که در پژوهش حاضردر گروهی که سلول درمانی را همراه با فعالیت درآب دریافت می‌کردند، افزایش چشمگیری در میزان TGF-β مشاهده گردید؛ می توان به نقش متقابل آنها بر یکدیگر و روی این فاکتور رشدی تاکید کرد. چانگ و همکارانش(۲۰۰۷) گزارش کردند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان می‌تواند در روند ترمیم تاندون در خرگوش‌ها مؤثر باشـــند. در پژوهش دیگری نیز هو وهمکارانش (۲۰۰۹) به نقش TGF-β1 و VEGF در ترمیم تاندون اشـــاره کردند که با نگاهی کلی به نتایج حاصـــل از پژوهش‌ها می‌توان گفت تزریق ســـلول‌های بنیادی مغز اســـتخوان مانند ســـلول‌های بنیادی مزانشـــیمی با تاثیر بر فاکتورهای رشـــد می‌توانند، نقش مؤثری را در روند ترمیم داشـــته باشـــند که پژوهشـــگران از میان فاکتورهای رشـــد به نقش کلیدی TGF-β1 در این زمینه اشـــاره کرده‌اند که ســـطح TGF-β1 در حضـــور ســـلول‌های بنیادی مزانشـــیمی افزایش می‌یابد و این مســـئله با افزایش در میزان کلاژن‌های نوع I و III می‌تواند باعث تســـریع در روند ترمیم گردد(۲۶). به علاوه براســـاس نتایج پژوهشـــات موجود می توان به نقش متقابل فشـــارهای مکانیکی و سنتزTGF-β در انواع سلول‌ها اشاره کرد. فشارهای مکانیکی با آزاد سازی TGF-β از بافت‌های گوناگون و فعالیت پلاکت‌ها می توانند در افزایش سطح سرمی TGF-β مؤثر باشند. پژوهشگران نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی به مدت طولانی می تواند با تاثیر بر روی فعالیت پلاکت‌ها در افزایش میزان TGF-β سرمی و تجمع میزان کلاژن نوع I مؤثر باشـــند که این افزایش در تولید کلاژن‌ها می‌تواند توســـط هورمون‌ها، فاکتورهای رشـــد، کانال‌های یونی کلســـیم و مسیرهای سیگنالی گوناگون در پاسخ به فعالیت ورزشی تعدیل گردد(۲۸). بنابراین با نگاهی کلی به نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت که تزریق همزمان پلاســـمای غنی از پلاکت و ســـلول‌های بنیادی مزانشـــیمی به همراه فعالیت در آب در افزایش میزان TGF-β سرمی مؤثر بوده است و براساس مطالب ارائه شده نقش متقابل این ۳ عامل به عنوان فاکتورهای مؤثر در روند ترمیم تاندون بسیارحائز اهمیت است.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

نتیجه گیری

در حال حاضر در حوزه پزشکی ورزشی توجه زیادی به تأثیر درمان و بازگشت به فعالیت پس ازآسیب تاندون و لیگامنت مبذول شده است؛ اما نکته ای که در سال‌های اخیر توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف ساخته است ، نتایج حاصل از پژوهش‌های پیش بالینی می‌باشد که نشان دهنده پتانسیل درمان‌های سلولی جهت افزایش و احیای تنوسیت‌ها و تزریق مستقیم فاکتور رشد در قسمت های آسیب دیده برای ترمیم بافت‌های تاندونی است. در حال حاضر استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل جداسازی آن از بافت‌های گوناگون و قابلیت کنترل و تغییر بسیاری از مکانیزم‌های درگیر در روند ترمیم بسیار مورد توجه قرار گرفته است. سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند از طریق عروق زایی بهتر، رسوب بیشتر و سازمان دهی بهتر ماتریکس خارج سلولی به بهبود تاندون کمک کنند و به دلیل قابلیت ایمنی بالا و پتانسیل بالقوه در کمک به درمان بیماری‌های حاد، در حوزه پزشکی- ورزشی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از سوی دیگر به کارگیری همزمان پلاسمای غنی از پلاکت، تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی و فعالیت درآب می‌توانند تقریبا تمام عملیات درگیر در فرآیند ترمیم نظیر تجمع مونوسیت ها، مهاجرت سلول های بنیادی و فیبروبلاست‌ها، پدیده رگ زایی، تمایز و تکثیر سلول‌های بنیادی و فیبروبلاست‌ها را تحت تاثیر قرار دهند. به کارگیری این روش‌های درمانی به واسطه باند شدن با گیرنده‌های غشای سلول‌های هدف مانند فیبروبلاست‌ها، سلول‌های بنیادی مزانشیمی و اندوتلیال منجربه فعال شدن یک سری پروتئین‌های داخل سلولی می‌گردند که در نتیجه فعالیت آنها واکنش‌هایی اتفاق می‌افتد که باعث شکل‌گیری ماتریکس و سنتز کلاژن می‌گردد که به ترمیم تاندون کمک می‌کند.

References

1. Rodeo, S.A., Delos, D., Weber, A. (2010). What's New in Orthopaedic Research? Journal of Bone Joint Surgery. 92(2): 491–01.
2. Palmes, D., Spiegel, H.U., Schneider, T.O., Langer, M., Stratmann, U., Budny, T., Probst, A. (2002). Achilles tendon healing: Long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model. Journal of Orthopaedic Research. 20: 939-46.
3. Lehninger, L.A. (1982). Principles of biochemistry. 6th. New York. Worth Publishers Inc. 157-60.
4. Andre, F., Steinert, M.K., Patrick, P., Thomas, B., Franz, J., Ulrich, N., Murray, C. H., Evans, D., Ryan, M.P. (2011). Mesenchymal stem cell characteristics of human anterior cruciate ligament outgrowth cells.Tissue Engineering.17: 9- 10.
5. Karp, J.M., Teo, G.S. (2009). Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. Cell Stem Cell. 4: 206-16.
6. Zigang, G.E., Fang, Y., James, C.H., Goh, S.R., Eng, H. (2006). Biomaterials and scaffolds for ligament tissue engineering. Journal of Biomedical Materials Research. 10:639-52.
7. Caplan, A.I., Bruder, S.P. (2001). Mesenchymal Stem Cells: Building Blocks for Molecular Medicine in the 21st Century. Trends in Molecular Medicine. 7: 259-64.
8. Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., Moorman, M.A., Simonetti, D.W., Craig, S., and Marshak, D.R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal. Stem Cells. 284: 143-48.
9. Young, M. (2012). Stem cell applications in tendon disorders: A Clinical Perspective. Stem Cells International. 10(1): 155-65.
10. Obaid, H., Connell, D. (2010). Cell Therapy In Tendon Disorders: What Is The Current Evidence? American Journal of Sports Medicine. 10(2): 123–32.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]

[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]

[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]

11. Phinney, D.G., Prockop, D.J. (2007). Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views. Stem Cells. 11(2): 896–02.
12. Caplan, A.I., Dennis, J.E. (2006). Mesenchymal stem cells as trophic mediators. Journal of Cellular Biochemistry. 98(10): 76-84.
13. Chong, A.K., Ang, A.D., Goh, J.C., Hui, J.H., Lim, A.Y., Lee, E.H., Lim, B.H. (2007). Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Influence Early Tendon-Healing in a Rabbit Achilles tendon Model. Journal of Bone Joint Surgery, 89(1): 74-81.
14. Huntsman, H.D., Zachwieja, N., Zou, K., Ripchik, P., Valero, M.C., De Lisio, M., Boppart, M.D. (2013). Mesenchymal stem cells contribute to vascular growth in skeletal muscle in response to eccentric exercise. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology; 304(1):72-81.
15. Genovese, J.A., Spadaccio, C., Rivello, H.G., Toyoda, Y., Patel, A.N. (2009). Electro stimulated Bone Marrow Human Mesenchymal Stem Cells Produce Follistatin. Cytotherapy.11 (4): 448–56.
16. Mescher, L.A. (2016). Junqueira's basic histology.Shirazi, R. 1.Tehran.Mirmah.580-90. (Persian).
17. Hilberg, T., Volker, H., Wolfgang, L.S., Holger, H.W. (2003). Platelet activity and sensitivity to agonists after exhaustive treadmill exercise. Journal of Sports Science and Medicine. 2:15-22.
18. Akinbo, S., Aiyegbusi, A., Duru, F., Noronha, C., Okanlawon, A. (2008). The efficacy of uktrasound therapy on the acute tendon injury. Journal of Orthopedic Surgery. 13(2): 1-7.
19. Hart, K.J., SHAW, J.M., Vajda, E., Hegsted, M., Miller1, S.C. (2001). Swim-trained rats have greater: bone mass, density, strength, and dynamics. Journal of Applied Physiology. 91(1): 663–68.
20. McVeig, J., Kihngsley, S., Gray, D., and Loram, L.C. (2010). Swimming enhances bone mass acquisition in growing female rats. Journal of Sports Science and Medicine. 9: 612-19.
21. Lane, J.G., Healey, R.M., Chase, D.C., Amiel, D. (2013). Use of platelet-rich plasma to enhance tendon function and cellularity. American Journal of Orthopedics.42 (5): 209-14.
22. Wang, J. H.C. (2006). Mechanobiology of tendon. Journal of Biomechanics. 39(1): 563–82.
23. Graziani, F., Ivanovski, S. Cei, S. Ducci, F. Tonetti, M. Gabriele, M. (2005). The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. Clinical Oral Implants Reserch. 17: 212–19.
24. Lisa, m., Zena, W. (2002). Inflammation and cancer. Nature. 420: 860-67.
25. Ernie, M.S. (2010). Natural growth factor: platelet rich plasma stimulates proliferation of fibroblast cell culture. Indonesian Journal Of Tropical And Infectious Disease.2: 102-04.
26. Heinemeier, K.M. (2007). Adaptation of tendon and muscle connective tissue to mechanical loading. Ph.D Degree, Copenhagen University.
27. Kjaer, M. (2004). Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. Physiological Reviews. 84:649–98.
28. Heinemeier, K., Langberg, H., Olesen, J.K., Kjaer, M. (2003). Role of TGF-β_1 in relation to exercise-induced type I collagen synthesis in human tendinous tissue. Journal of Applied Physiology 95(2): 390–97.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2023-03-31]
[DOR: 20.1001.1.22520708.1398.0.0.4.9]
[DOI: 10.29252/jsmt.12.1.25]