مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و نهم، شماره هفتم، مهر ۱۴۰۰
تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۷/۲۸
تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۸/۲۶

اثر هشت هفته تمرین هوازی و مکمل ویتامین دی بر بیان ژن استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز موش‌های نر مسموم شده با پراکساید هیدروژن

رامین ایمری اسکندری[۱]، حسن متین همایی*[۱]، لیدا مرادی[۲]

مقاله پژوهشی

مقدمه: رادیکال‌های آزاد در زمان پیری و بیماری افزایش می‌یابند، لذا هدف این پژوهش بررسی اثر تمرین و ویتامین دی بر بیان ژن استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز بافت استخوان موش‌های مسموم شده با پراکساید هیدروژن بود.

روش بررسی: در این کارآزمایی تجربی ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به شش گروه شش سری ۱) کنترل؛ ۲)پراکسایدهیدروژن؛ ۳)پراکسایدهیدروژن + ویتامین دی؛ ۴) پراکسایدهیدروژن + تمرین؛ ۵) پراکسایدهیدروژن + تمرین و ویتامین دی و ۶) شم تقسیم شدند. در مدت هشت هفته گروه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ روزانه پراکسایدهیدروژن با دوز یک mmol/kg را در روزهای زوج، گروه‌های ۳ و ۵ روزانه 5/0 µgram/kg ویتامین دی و گروه شم حلال ویتامین دی را به‌صورت درون صفاقی دریافت نمودند.گروه‌های ۴ و ۵ سه جلسه در هفته تمرینات هوازی انجام دادند. بیان ژن استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز به روش PCR اندازه‌گیری و با استفاده از آزمون های t مستقل و آنالیز واریانس دو طرفه با آزمون تعقیبی بن‌فرونی و نرم‌افزار SPSS version 16 تحلیل شدند ($p\leq ۰/۰۵$).

نتایج: اثر تعاملی تمرین و ویتامین دی بر افزایش آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین معنادار بود ($p\leq ۰/۰۵$)؛ تمرین سبب افزایش آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین شد ($p\leq ۰/۰۵$)؛ ویتامین دی نیز با افزایش آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین همراه بود ($p=۰/۰۰۰۱$). بیشترین اثر بر افزایش آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین به‌ترتیب در گروه ۵ و ۳ مشاهده شد ($p=۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: تمرین و ویتامین دی تاثیر مثبتی بر بافت استخوان داشتند، به گونه‌ای که حتی اثر سیستمی پراکسایدهیدروژن نیز نتوانست نتایج این اثر سازنده را تغییر دهد.

واژه‌های کلیدی: آلکالین‌فسفاتاز، استئوکلسین، پراکساید هیدروژن، تمرین هوازی، ویتامین دی

ارجاع: ایمری اسکندری رامین، متین همایی حسن، مرادی لیدا. **اثر هشت هفته تمرین هوازی و مکمل ویتامین دی بر بیان ژن استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز موش‌های نر مسموم شده با پراکساید هیدروژن.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۷): ۴۲-۳۹۳۱.

۱- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۲۳۶۸۰۸۱۰، پست الکترونیکی: hasanmatinhomaee@gmail.com، صندوق پستی: ۱۹۵۵۸۴۷۸۸۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

مقدمه

پوکی استخوان یک بیماری متابولیک استخوان است که با کاهش قدرت استخوان و افزایش خطر شکنندگی و شکستگی استخوان همراه است. شواهدی وجود دارد که بیان می‌دارد استرس اکسیداتیو با پوکی استخوان همراه است. هم‌چنین ارتباط بیوشیمیایی بین افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش توده معدنی استخوان (BMD) در مردان و زنان وجود دارد (۱). تولید گونه‌های فعال اکسیژن یک نتیجه غیر قابل تغییر متابولیسم هوازی است که در ابتدا در میتوکندری اتفاق می‌افتد. این فرآیند سوپراکساید را که بسیار فعال است و عمر کوتاهی دارد، تولید می‌کند. سوپراکساید به سرعت به شکل پایدارتر و کم فعال‌تر پراکساید هیدورژن (H_2O_2 یا آب اکسیژنه) تبدیل می‌شود که بیشترین شکل گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species-ROS) است که به آزادی از غشاء میتوکندری به درون سیتوزول عبور می‌کند (۲). این ROSها می‌توانند سبب آسیب به DNA، پروتئین و چربی شوند. سطوح بالای تولید اکسیدان‌ها در طی متابولیسم طبیعی سلول (چرخه انتقال الکترون)، تحریکات محیطی (نظیر سایتوکاین‌ها یا اشعه ماوراء بنفش) و در زمان بیماری‌ها، تعادل نرمال ردوکس را برهم می‌زنند و سلول‌ها را به سمت وضعیت استرس اکسیداتیو هدایت می‌کنند (۱). استخوان اما یک بافت پویا و بالقوه احیاکننده است که می‌تواند تحت تاثیر نیازهای فیزیکی و برای ترمیم پس از آسیب، ریمودلینگ شود. استئوبلاست نقش مهمی را در رسوب مواد معدنی به شکل کریستال‌های هیدروکسی اپاتیت ساخته شده از کلسیم هیدروکسی فسفات برعهده دارد. بلوغ استئوبلاست‌ها به دو مسیر تکثیر و افتراق بستگی دارد. افتراق و معدنی‌سازی در استئوبلاست‌ها زمانی رخ می‌دهد که تکثیر رخ دهد و مراحل مختلف افتراق استئوبلاست‌ها به وسیله بیان ژن‌های خاص مشخص می‌شود. افتراق اولیه به‌وسیله بیان سطوح بالای آنزیم آلکالین‌فسفاتاز (*ALP*) و افتراق‌های بعدی به‌وسیله بیان استئوکلسین (*OC*) و استئوپوئنتین مشخص می‌شود (۳). استئوکلسین به‌عنوان اسید گاما کربوکسی گلوتامیک اسید حاوی پروتئین استخوان (Bone Gamma-Carboxyglutamic Acid-Containing Protein) شناخته شده است و فراوان‌ترین پروتئین غیرکلاژنی ماتریکس استخوان می‌باشد. همانگونه که اشاره شد، ژن استئوکلسین در طی تکثیر استئوبلاست ها غیرفعال است در حالی‌که تا ۲۰۰ برابر در طی افتراق استئوبلاست‌ها و بلوغ آن‌ها رونویسی می‌شود (۴). هم‌چنین استئوبلاست ها منشاء عظیمی از آلکالین‌فسفاتاز هستند، از این رو افزایش بیان ژن آلکالین‌فسفاتاز و هم‌چنین سطوح سرمی آن نشانه ای از تحریک سلول‌های استئوبلاست بوده و در نتیجه سیگنالینگ سلولی را در راستای افزایش تراکم مواد معدنی استخوان افزایش می‌دهد. ژن آلکالین‌فسفاتاز نقش مهمی در سوخت و ساز فعال و تامین فسفات غیر آلی آزاد با هیدرولیز اجزای فسفو بر عهده دارد. گزارش شده است که تغییر در ژن آلکالین‌فسفاتاز ممکن است تعیین‌کننده مهمی در کاهش استخوان ناشی از سن باشد و مسیر سوخت و ساز فسفات به‌عنوان یک هدف جدید در پیشگیری از پوکی استخوان محسوب شود (۵). تغییر در بیان ژن‌های یاد شده تحت‌تاثیر تحریکات مکانیکی می‌باشد و پژوهش های انجام شده در این خصوص نشان می‌دهند که تمرین به اشکال مختلف هوازی بر افزایش بیان ژن آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین اثرات مطلوبی دارد (۹-۶). علاوه بر فعالیت بدنی محققین استفاده از برخی مکمل‌ها جهت بهبود وضعیت توده معدنی استخوان را به افراد توصیه می‌کنند. از جمله این مکمل‌ها ویتامین دی می باشد که جذب و معدنی‌سازی ماتریکس استخوان را افزایش می دهد. از لحاظ بیولوژیکی، مکمل‌های کلسیم و ویتامین دی باعث کاهش سرعت تخریب توده استخوانی و خطر شکستگی می‌شوند (۱۰). هم‌چنین پژوهش ها نشان می‌دهد که مکمل یاری ویتامین دی تشکیل استخوان و مارکرهای استئوژنیک *ALP*و *OC* را افزایش می‌دهد (۳). اثرات مخرب *invitro* پراکساید هیدروژن بر بافت استخوان نشان داد که H_2O_2 از دست رفتن استخوان به وسیله استئوکلاست‌ها را تحریک و سبب پوکی استخوان می‌گردد (۱۱). اثرات *invivo* پراکساید هیدروژن بر استخوان اما تاکنون مورد پژوهش قرار نگرفته است

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

درحالی‌که بر سایر بافت‌هایی نظیر کبد، کلیه، شش ها، مغز و قلب بررسی شده است (۱۵-۱۲). هم‌چنین شواهد رو به رشد افزایش پوکی‌استخوان در مردان ایرانی در مقایسه با همتایان آمریکایی (۱۶) نیز بر ضرورت انجام این پژوهش تاکید دارد، لذا مطالعه حاضر به هدف بررسی اثر H_2O_2، فعالیت بدنی و مصرف ویتامین دی بر بیان ژن‌های درگیر در روند استئوژنیک موش‌های نر انجام شد.

روش بررسی

در این کارآزمایی تجربی با طرح پس آزمون ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۰±۲۰۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و پس از انتقال به خانه حیوانات مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به‌مدت یک هفته جهت سازگاری در قفس مخصوص حیوانات تحت شرایط استاندارد، دمای ۲± ۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵٪±۵۰، چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. رت‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. رژیم غذایی رت‌ها (شرکت غذای دام پارس، تهران، ایران) از ذرت زمین، یونجه، کنجاله سویا، گندم، ویتامین ها، مواد معدنی، جوش‌شیرین و نمک بر اساس ۵۵٪ کربوهیدرات، ۱۷/۵٪ پروتئین، ۱/۹۵٪ چربی (ماده آلی محلول در اتر؛EE)، ۰/۵۶٪ کلسیم، ۰/۶۲٪ تی فسفر، ۶/۶٪ فیبر خام، انرژی متابولیزه شدن (ME) ۳/۱۶ kcal/g، انرژی دفنیشن (DE) ۳/۵۶ kcal/g تشکیل شده بود. این اطلاعات توسط شرکت تولیدکننده ارائه شده است. معیار ورود شامل: موش‌های سالم‌نر، نژاد ویستار، حداقل سن هشت هفته و وزن بالای ۱۸۰ گرم بود و معیار خروج شامل: مشاهده هر گونه بیماری یا کسالت در موش‌ها، کاهش وزن محسوس، حساسیت غذایی، هر گونه تماس پراکساید هیدروژن با پوست و عدم تمرین‌پذیری بود.

گروه بندی حیوانات

پیش از گروه‌بندی، موش‌ها یک هفته برای آشنایی با نحوه فعالیت بر نوارگردان دویدند. سپس نمونه‌ها به طور تصادفی به‌شش گروه شش سری شامل: (۱) کنترل سالم؛ (۲) پراکساید هیدروژن؛ (۳) پراکساید هیدروژن + ویتامین دی؛ (۴) پراکساید هیدروژن + تمرین؛ (۵) پراکساید هیدروژن + تمرین و ویتامین دی؛ و (۶) شم (دی متیل سولفید اکساید-DMSO) تقسیم شدند.

تزریق پراکساید هیدروژن

رت‌های در گروه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ تزریق درون صفاقی پراکساید هیدروژن (تهیه شده از شرکت Merck) را با دوز یک mmol/kg سه بار در هفته در روزهای زوج دریافت کردند (۱۲).

مکمل ویتامین دی

درمان با ویتامین دی در گروه‌های ۳ و ۵ به این صورت بود که رت‌ها ۰/۵ µgram/kg میکروگرم ویتامین دی به‌صورت تزریق روزانه درون صفاقی طی ۸ هفته دریافت کردند (۱۷). از آمپول ویتامین دی با نام تجاری DITHRECOL از شرکت کاسپین ویتامین؛ تهران، ایران با غلظت UI/ml ۳۰۰۰۰۰ استفاده شد. جهت رسیدن به دوز مناسب تزریقی از نرمال سالین برای رقیق کردن و از دی متیل سولفوکساید جهت حل کردن ویتامین دی در سالین استفاده شد. با توجه به لزوم بررسی تاثیر حلال مذکور یک گروه بنام DMSO تعریف شد که روزانه فقط حلال دریافت کردند.

برنامه تمرین

رت‌های گروه‌های ۴ و ۵ به طور روزانه فعالیت تمرینی منظم بر روی تردمیل به‌مدت ۸ هفته انجام دادند. رت‌ها در هفته اول با سرعت ۸ m/min و شیب ۱۰ درجه به‌مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل تمرین کردند، در هفته دوم با سرعت ۱۲ m/min با شیب و زمان مشابه، در هفته سوم با سرعت ۱۶ m/min با شیب مشابه به‌مدت ۴۵ دقیقه و در چهارمین هفته با سرعت ۲۰ m/min با شیب مشابه به‌مدت ۴۵ دقیقه تمرین کردند. طی هفته‌های پنجم تا هشتم رت‌ها در سرعت ۲۰ m/min با زاویه ده درجه به‌مدت ۶۰ دقیقه هر روز تمرین داده شدند (جدول ۱) (۱۸).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

جدول۱: پروتکل تمرین پژوهش

هفته متغیر	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
زمان کل(دقیقه)	۳۰	۳۰	۴۵	۴۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
سرعت(متر/دقیقه)	۸	۱۲	۱۶	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
شیب(درجه)	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰

نحوه استخراج نمونه و اندازه‌گیری بیان ژن

بیست و چهار ساعت پس از آخرین جلسه و بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی، موش‌های صحرایی با استنشاق کلروفرم بیهوش شدند، سپس به وسیله خونگیری مستقیم ازقلب، قربانی شدند. استخراج بافت استخوان تیبیا موش‌ها توسط متخصص انجام شد. سپس نمونه‌ها در کرایوتیوب در نیتروژن مایع قرار داده شدند و برای اندازه‌گیری بیان ژن استئوکلسین و آلکالین فسفاتاز به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بی‌درنگ (real-time polymerase chain reaction- RealTime PCR) در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج RNA بر اساس دستورالعمل کیت استخراج RNA ساخت شرکت یکتا تجهیز، با استفاده از محلول‌های کیت استخراج و پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده انجام شد. برای این منظور ۳۰ میلی‌گرم بافت استخوان را در نیتروژن مایع خشک و پس از کوبیدن در آونگ استریل، درون تیوب یک و نیم قرار گرفت. اولین مرحله برای استخراج RNA از سلول‌های حیوانی از بین بردن دیواره سلول‌ها با کمک یک بافر لیزکننده (در اینجا RB Buffer) می‌باشد، لذا ۳۵۰µl از RB Buffer به نمونه (رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه شد (از قبل به ازای هر یک میلی لیتر ۱۰ میکرولیتر mercaptoethanol –β نیز به بافر اضافه شده بود) و به‌مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد Filter Column درون Collection Tube قرار گرفت و مخلوط نمونه به Filter Column انتقال داده شد و با دور rpm ۱۴۰۰۰ به‌مدت دو دقیقه سانترفیوژ گردید. بعد از سانترفیوژ محلول روشن از Collection Tube به یک تیوپ میکروسانترفیوژ جدید انتقال یافت. سپس هم حجم آن یعنی ۳۵۰µl اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه گردید سپس به‌خوبی ورتکس شد. RB Mini Column درون Collection Tube قرار گرفت و نمونه‌ای که اتانول به آن اضافه شده بود به RB Mini Column انتقال یافت و با سرعت rpm ۱۴۰۰۰ به‌مدت یک دقیقه سانترفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در مرحله بعد ۵۰۰µl از Wash Buffer1 به RB mn Mini Colu اضافه گردید و با سرعت rpm ۱۴۰۰۰به‌مدت یک دقیقه سانترفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در ادامه RB Mini Column با ۷۵۰µl از Wash Buffer2 با سرعت ۱۴۰۰۰rpm به‌مدت یک دقیقه سانترفیوژ شد و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. این مرحله دوبار تکرار شد، سپس به‌مدت سه دقیقه با سرعت rpm ۱۴۰۰۰ سانترفیوژ انجام شد. سپس RB Mini Column درون Elution Tube قرار داده شد و ۵۰µl از RNase-free ddH2O به RB Mini Column اضافه شد و یک دقیقه به آن زمان داده شد و بعد از یک دقیقه به‌مدت دو دقیقه با سرعت rpm ۱۴۰۰۰ سانترفیوژ گردید. محلول درون Elution Tube، RNAهای استخراج شده بود که در ۷۰- نگهداری شدند. سنتز cDNA طبق دستورالعمل موجود در کیت فرمنتاز (K1622) تهیه گردید. واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid™M-MuLV Reverse transcriptas صورت گرفت. هنگام تهیه cDNA از نمونه تخلیص شده پس از قرائت جذب، حجمی شامل ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته، سپس نیم میکرولیتر Random Hexamers (الیگودئوکسی ریبو نوکلوتید که به‌عنوان یک پرایمر برای شروع سنتز cDNA استفاده می‌شود)، نیم میکرولیتر پرایمر oligodT و تا حجم ۱۲ میکرولیتر آب به کیت اضافه گردید و به دمای ۶۵ درجه برای پنج دقیقه منتقل گردید. و سپس به‌مدت دو دقیقه بر روی یخ قرار گرفت. در مرحله بعد ۴µl از 5X Reaction Buffer و ۲ µl از dNTP Mix و ۱µl از RiboLock

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

RNase Inhibitor و۱ µl از RevertAid RT به ترکیب قبل که برای پنج دقیقه در دمای ۶۵ قرار گرفته بود اضافه شد. سپس ترکیب ابتدا به‌مدت پنج دقیقه در دمای ۲۵ قرار گرفت. بعد از آن به‌مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ قرار گرفت. در آخر به‌منظور از کار افتادن آنزیم RT، تیوب‌های واکنش به‌مدت پنج دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. cDNA آماده شده جهت انجام RT- PCR مورد استفاده قرار گرفت. دمای اتصال برای همه پرایمرها C° ۶۰ بود. لازم به‌ذکر است که از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. پس از اتمام فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشرفلورسانس با محاسبه $\Delta\Delta C_t$ میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به GAPDH و حالت کنترل که فاقد محیط‌های تمایزی است با استفاده از فرمول $\Delta C_t = C_{t\ interets} - C_{t\ GAPDH}$ و $\Delta\Delta C_t = \Delta C_{t\ Treat} - \Delta C_{t\ Un\ Treat}$ سنجیده شد، سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن‌ها محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیروویلک و هم‌چنین جهت تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آزمون‌های t مستقل، آنالیز واریانس دو طرفه همراه با آزمون تعقیبی بنفرونی در نرم‌افزار SPSS version 16 استفاده شد ($p \leq ۰/۰۵$).

ملاحظات اخلاقی

تمام اصول کار با حیوانات طبق بیانیه هلسینکی سال ۲۰۰۸ و کد اخلاق از کمیته اخلاق وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان کرمان به شماره IR.KMU.REC.1396.1562 و تاییدیه پروپوزال ازگروه فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز صورت گرفت.

جدول۲: توالی پرایمرها برای RT-PCR

نام ژن	توالی پرایمرها[5'→3']
استئوکلسین	*Fwd: AATAGACTCCGGCGCTACCT* *Rev: GAGCTCACACACCTCCCTGT*
آلکالین‌فسفاتاز	*Fwd: GTGCCCTGACTGAGGCTGTC* *Rev: GGATCATCGTGTCCTGCTCAC*
GAPDH	*Fwd: GACAACTTTGGCATCGTGGA* *Rev: ATGCAGGGATGATGTTCTGG*

نتایج

سطوح بیان ژن استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز بافت استخوان موش‌های صحرایی در جدول ۳ گزارش شده است. نتایج آزمون t مستقل نشان داد مصرف پراکساید هیدروژن اثر معنی‌داری بر کاهش بیان ژن *OC* (t= -۱۸/۳، p=۰/۰۰۱) و *ALP* (t= -۳/۱، p=۰/۰۲) بافت استخوان موش‌های صحرایی در مقایسه با گروه کنترل داشت، در حالی‌که اثر تزریق DMSO در مقایسه با گروه کنترل در متغیرهای *OC* (t= -۱/۴، p=۰/۲۲) و *ALP* (t=۱/۷، p=۰/۱۴) معنادار نبود.

نتایج آزمون آنالیز واریانس دو طرفه در جدول ۴ نشان داد هشت هفته تمرین (۰/۲۴= اندازه اثر، P =۰/۰۲، F =۰/۶۴) و مصرف ویتامین دی (۰/۸۸= اندازه اثر، P =۰/۰۰۰۱، F =۱۴/۹۷) اثر معنی‌داری بر افزایش *OC* بافت استخوان موش‌های صحرایی مسموم شده با پراکساید هیدروژن داشت. هم‌چنین اثرات تعاملی تمرین همراه با مصرف ویتامین دی بر *OC* بافت استخوان موش‌های صحرایی مسموم شده با پراکساید هیدروژن (۰/۳۴= اندازه اثر، P =۰/۰۰۵، F =۰/۱۰۳) افزایش معنادار داشت. نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد، اثر مداخلات

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

گروه‌های ۵ و۳ در مقایسه با گروه‌های ۲ و ۴ در افزایش *OC* به‌طور معناداری بیشتر بود (p=۰/۰۰۱)، هم‌چنین گروه پراکساید هیدروژن + تمرین نسبت به گروه پراکساید هیدروژن سبب افزایش معنادار *OC* شد (p=۰/۰۰۴). اما تفاوتی بین گروه پراکساید هیدروژن + تمرین و ویتامین دی با پراکساید هیدروژن + ویتامین دی در *OC* مشاهده نشد (شکل ۱). هشت هفته تمرین (۰/۷۹= اندازه اثر، P =۰/۰۰۰۱، F =۷۴/۷۵) و مصرف ویتامین دی (۰/۷۵= اندازه اثر، P =۰/۰۰۰۱، F =۶۰/۶۷) اثر معنی‌داری بر افزایش *ALP* بافت استخوان موش‌های صحرایی مسموم شده با پراکساید هیدروژن داشت. تمرین همراه با مصرف ویتامین دی نیز اثرات تعاملی در افزایش *ALP* بافت استخوان موش‌های صحرایی مسموم شده با پراکساید هیدروژن داشت (۰/۶۱= اندازه اثر، P =۰/۰۰۰۱، F =۳۱/۱۷) (جدول ۴). نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد تاثیر مداخلات گروه ۵ نسبت به گروه های ۲، ۳ و ۴ بر افزایش *ALP* به‌طور معناداری بیشتر است (p=۰/۰۰۱). اما تفاوتی بین گروه‌های پراکساید هیدروژن + ویتامین دی با پراکساید هیدروژن + تمرین در بیان *ALP* مشاهده نشد. اگرچه مداخلات این دو گروه نسبت به گروه پراکساید هیدروژن در افزایش بیان *ALP* معنادار بود (شکل ۲).

جدول ۳: مقادیر بیان ژن استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز در گروه های سالم و تزریق پراکسایدهیدروژن با مداخله تمرین و ویتامین دی

متغیر / گروه	استئوکلسین انحراف معیار± میانگین	آلکالین‌فسفاتاز انحراف معیار± میانگین
کنترل سالم	۰/۰۰۱۱۸ ± ۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱۰۹ ±۰ /۰۰۰۵
دی متیل سولفید اکساید	۰/۰۰۱۰۴ ± ۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۵۹ ±۰ /۰۰۰۲
پراکساید هیدروژن	۰/۰۰۰۰۳ ± ۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۳۸۸ ± ۰/۰۰۳۹
پراکساید هیدروژن + تمرین	۰/۰۰۰۱۳ ± ۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۱۲۴ ±۰ /۰۰۱۵
پراکساید هیدروژن + ویتامین دی	۰/۰۰۲۳۹ ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۱۵۷ ± ۰/۰۰۰۵
پراکساید هیدروژن + تمرین و ویتامین دی	۰/۰۰۱۸۲ ± ۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۶۷۵ ± ۰/۰۰۱۱

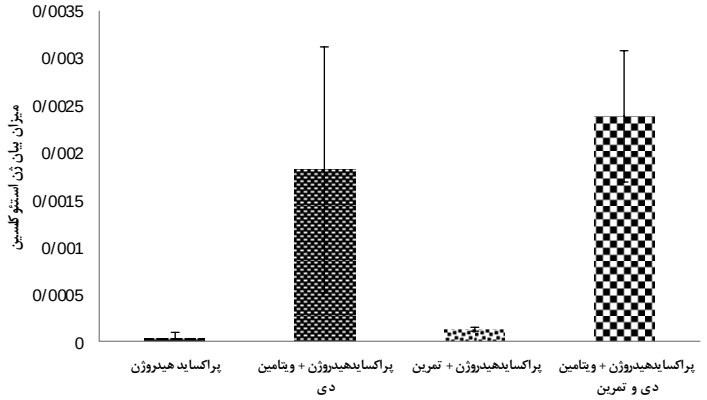
جدول ۴: نتایج آزمون آنووای دو راهه جهت بررسی اثر پراکساید هیدروژن، تمرین و ویتامین دی بر متغیرهای تحقیق

متغیر	تمرین			ویتامین دی			تعامل		
	F	P	اندازه اثر	F	P	اندازه اثر	F	P	اندازه اثر
استئوکلسین	۰/۶۴	۰/۰۲δ	۰/۲۴	۱۴/۹۷	۰/۰۰۰۱γ	۰/۸۸	۰/۱	۰/۰۰۵ε	۰/۳۴
آلکالین‌فسفاتاز	۷۴/۷۵	۰/۰۰۰۱ δ	۰/۷۹	۶۰/۶۷	۰/۰۰۰۱γ	۰/۷۵	۳۱/۱۷	۰/۰۰۰۱ε	۰/۶۱

δ: اثرمعنادار تمرین بر افزایش OC و ALP؛ γ: اثر معنادار ویتامین دی بر افزایش OC و ALP؛ ε: اثر معنادار تعامل تمرین و ویتامین دی بر افزایش OC و ALP.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

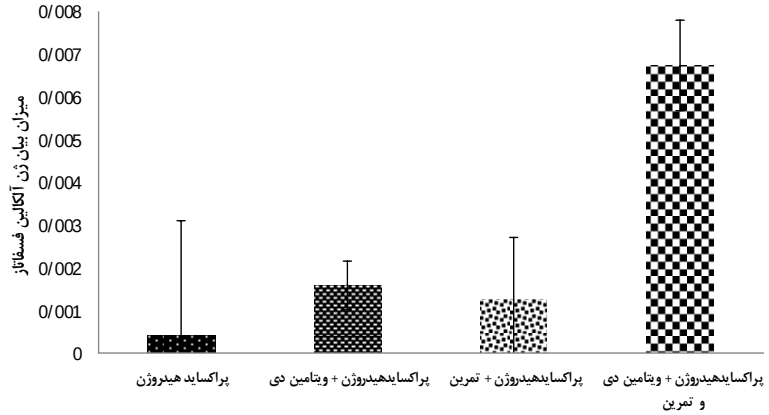


شکل ۱: میانگین بیان ژن اسئوکلسین بافت استخوان در گروه های تزریق پراکسایدهیدروژن با مداخله تمرین و ویتامین دی

a :تفاوت معنادارگروه آزمایشی نسبت به گروه ویتامین دی($p<0.05$)

b :تفاوت معنادارگروه آزمایشی نسبت به گروه تمرین + ویتامین دی($p<0.05$)

c :تفاوت معنادارگروه های آزمایشی نسبت به گروه تمرین($p<0.05$)



شکل ۲: میانگین بیان ژن آلکالین‌فسفاتاز بافت استخوان در گروه های تزریق پراکسایدهیدروژن با مداخله تمرین و ویتامین دی

a : تفاوت معنادارگروه آزمایشی نسبت به گروه تمرین + ویتامین دی($p<0.05$)

بحث

در مطالعه حاضر با تزریق پراکساید هیدروژن به موش‌های نر سعی شد استرس اکسیداتیو در بدن آنها القا شود، سپس با انجام مداخله تمرینی به شکل هوازی و تغذیه (مصرف ویتامین‌دی) روند استئوژنیک را در موش‌ها مورد بررسی قرار دادیم. نتایج نشان داد که مداخلات تمرین، مکمل ویتامین دی و تعامل آن‌ها در افزایش بیان ژن‌های استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز معنادار بود. بیشترین افزایش در بیان ژن استئوکلسین در گروه‌های پراکساید هیدروژن + ویتامین دی و پراکساید هیدروژن + تمرین و ویتامین دی مشاهده شد، اما در بیان ژن آلکالین‌فسفاتاز گروه پراکساید هیدروژن + تمرین و ویتامین دی سبب بیشترین افزایش در مقایسه با سایر گروه‌ها شد. کاهش معنادار بیان ژن آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین در گروه پراکساید هیدروژن در مقایسه با گروه کنترل سالم حاکی از اثرات مخرب آن بر بافت استخوان بود، اما مکمل یاری ویتامین دی فعالیت آلکالین‌فسفاتاز را افزایش داد و سبب افزایش چشمگیر بیان استئوکلسین شد. پژوهش‌های بسیاری تاثیر مصرف مکمل ویتامین دی را بر استخوان مورد پژوهش قرار دادند و نشان می‌دهند که اثرات ویتامین دی بر استخوان همچون یک تیغ دولبه است، چراکه اگرچه تاثیر آن بر فعالیت آلکالین‌فسفاتاز، سطوح استئوکلسین، استئوپوئنتین و کلاژن نوع I در تایید یافته‌های این پژوهش مثبت گزارش شده است،

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

اما اثرات آن بر معدنی شدن استخوان در برخی پژوهش‌ها مثبت و در برخی منفی گزارش شده است (۱۹, ۳). هم‌چنین مصرف دوزهای بالای ویتامین دی یا کمبود کلسیم ممکن است سبب شود ویتامین دی روند استئوکلاستوژنزیز را افزایش دهد (۲۰). پژوهش رهام و همکارانش (۲۰۱۸) بر موش‌های آورکتومی شده نشان داد که مصرف مکمل ویتامین دی و کلسیم با افزایش سطوح سرمی آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین همراه بود، که یافته‌های این پژوهش را تایید کرد (۲۱). به نظر می‌رسد تنظیمات موضعی ویتامین دی تحت‌تاثیر وضعیت کلسیم و مرحله افتراق سلول‌های استخوانی باشد (۱۹). تاثیر مستقیم آنابولیکی ویتامین دی در استخوان وابسته به فعالیت گیرنده ویتامین دی (VDR) است. فعالیت VDR در استئوبلاست‌های بالغ هر دو وضعیت آنابولیکی و ضد کاتابولیکی را سبب می‌شود. تاثیرات ضد جذبی در استخوان وابسته به‌کاهش در نسبت *RANKL/OPG* است؛ در مقابل تاثیرات آنابولیکی آن مربوط به افزایش در بیان مسیر سیگنالینگ *LRP5/Wnt* است (۲۰). هم‌چنین ژن استئوکلسین حاوی بخش پاسخ‌دهنده به ویتامین دی است که باعث می‌شود بیان استئوکلسین را از طریق مسیر VDR-VDRE در موش ها و استئوبلاست‌های انسان افزایش دهد (۴) که می‌تواند بخشی از دلایل افزایش قابل توجه بیان ژن استئوکلسین را توضیح دهد. هم‌چنین نتایج این پژوهش نشان داد تمرین هوازی روشی موثر در افزایش بیان ژن آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین در موش‌های مسموم شده با پراکساید هیدروژن است. در تایید یافته‌های این پژوهش ژانگ و همکارانش (۲۰۱۷) افزایش در بیان ژن استئوکلسین را در موش‌های پنج هفته ای که به‌طور متوسط ۵۰۰۰ متر در هر روز چرخ می زدند نشان دادند (۷). هم‌چنین در پژوهش ناگوئیرا و همکارانش (۲۰۱۶) بیان ژن استئوکلسین در موش‌هایی که چهار هفته بر تردمیل دویدند نیز افزایش یافت (۶). گزیئالوئی و همکارانش (۲۰۱۵) نیز نشان دادند در موش‌های اورکتومی شده فعالیت به همراه مصرف مکمل نارنجینگ بیشترین افزایش را در بیان ژن استئوکلسین در مقایسه با موش‌های گروه کنترل ایجاد کرد (۹). اوویی و همکارانش (۲۰۱۳) افزایش در مقادیر سرمی آلکالین‌فسفاتاز را با انجام ۴۰ پرش در هفته گزارش دادند در حالی‌که با تغییر در بار تمرین و برنامه تمرین پرش نتوانستند تغییری در مقادیر سرمی استئوکلسین گزارش کنند (۲۲). تمرین اثر استخوان‌سازی بر متابولیسم استخوان دارد. سیستم اسکلتی ما به گونه‌ای است که تحت‌تاثیر بار مکانیکی ناشی از جاذبه و انقباض عضلانی روند ریمودلینگ را از طریق انتقال مکانیکی تحریک می‌کند. انتقال مکانیکی در واقع به معنای پاسخ بیوشیمیایی به واسطه تحریک مکانیکی است. در اینجا تحریک مکانیکی ناشی از فعالیت بدنی منجر به تقویت و بهبود متابولیسم استخوان شد. مطالعه حاضر نشان داد که اثر مفید فعالیت بدنی بر استخوان‌سازی تحت تاثیر استرس اکسیداتیو سیستمی حداقل به واسطه تزریق پراکساید هیدروژن قرار نمی‌گیرد. تاثیر فعالیت بدنی و بار مکانیکی بر استخوان تاکنون به اشکال مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (۶). یکی از فواید فعالیت بدنی افزایش گردش خون در عضلات و استخوان‌ها است که اکسیژن، مواد غذایی و هورمون‌های لازم را در اختیار بافت قرار می‌دهد. افزایش توده عضلانی به واسطه فعالیت بدنی کشش بیشتری برای اتصالات استخوانی-تاندونی وارد می کند که سبب تحریک عوامل استخوان‌ساز و افزایش مواد معدنی و توده استخوان می‌شود (۶). بار تحمیل شده به وسیله تردمیل تشکیل استخوان را تحریک کرده، از کاهش استخوان در موش‌ها می‌کاهد. شواهد بسیار قوی وجود دارد که نشان می‌دهد عدم فعالیت، سطوح mRNA مارکرهای جذب استخوان *TRACP*، کاتپسین و گیرنده‌های کلسی تونین را کاهش می‌دهد، در حالی که شرکت در فعالیت بدنی مارکرهای استئوژنیک نظیر استئوکلسین، آلکالین‌فسفاتاز، *RUNX2*، *OSX*، *BMP2* و کلاژن نوع *I* را در استئوبلاست ها افزایش می‌دهد (۲۳). به نظر می‌رسد فعالیت بدنی از طریق دستکاری سه مسیر مهم سیگنالینگ *RANKL/RANK/OPG*، *Wnt/βCatenin* و *Jagged/Notch 1 and 3* سبب تعدیل و اثرگذاری بر استئوبلاست ها می‌شود و توده استخوان را از طریق عملکرد استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها تنظیم می‌کند

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

(۲۳). افزایش بیان ژن استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز در این مطالعه نشان‌دهنده فعالیت استئوبلاست‌ها در موش‌های تحت تمرین بود. این پژوهش برای اولین بار نشان داد که اثر تعاملی تمرین و ویتامین دی در افزایش بیان ژن آلکالین‌فسفاتاز و استئوکلسین در موش‌های مسموم شده با تزریق صفاقی پراکساید هیدروژن موثر است. این نتایج حاکی از آن است که تمرین و مصرف ویتامین دی نقش مثبتی بر روند استئوژنیک دارد. پژوهش شریعتی و همکارانش (۲۰۱۹) که بر موش‌های مسموم شده با پراکساید هیدروژن انجام شد، نشان داد که سطوح سرمی استئوکلسین و نه آلکالین‌فسفاتاز در گروه پراکساید هیدروژن +تمرین + ویتامین دی افزایش معنادار یافت (۲۴). این یافته‌ها حداقل با بخشی از نتایج این پژوهش همسان است. مقادیر آلکالین‌فسفاتاز نیز اگرچه در گروه تعاملی نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود اما معناداری آماری را به‌دست نیاورد. اگرچه یافته‌های به‌دست آمده(مقادیر سرمی در مقابل بیان ژن) کاملاً قابل مقایسه نمی‌باشند، اما شاید بتوان بیان داشت که تبدیل آنچه که به‌عنوان بیان ژن می‌شناسیم به پروتئین‌های در دسترس در سرم به زمان زیادی نیاز دارد و ممکن است افزایش‌های مشاهده شده در این پژوهش به‌طور دقیق بازتابی از افزایش در استئوکلسین سرم یا عدم مشاهده تغییر در آلکالین‌فسفاتاز نباشد. ضمناً همانگونه که محقق در پژوهش اشاره کرده‌اند، منابع ترشح آلکالین‌فسفاتاز در سرم متعدد است و اندازه‌گیری بیان ژن آن به درستی نشان از افزایش فعالیت استئوبلاست‌ها دارد. پژوهش آکاگاوا و همکارانش (۲۰۱۸) نشان داد که مصرف فرم فعال ویتامین دی به شکل آلفاکلسیدول (Alfacalcidol) به‌همراه فعالیت هوازی کم شدت برای ۲ هفته یا ۶ هفته همراه با تاثیراتی بر استخوان است. آنها نشان دادند که شش هفته تاثیر همزمان فعالیت و آلفاکلسیدول با افزایش معدنی شدن استخوان همراه است (۲۵). اگرچه در این پژوهش سایر مارکرها اندازه گیری نشد، اما افزایش BMD به طور غیر مستقیم بازتابی از افزایش در فعالیت مارکرهای استئوژنیک بود. در این پژوهش همانگونه که بیان شد تاثیر تعاملی بر افزایش استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز معنادار بود که با توجه به افزایش متغیر های یاد شده در هر یک از مداخلات، نتیجه‌ای دور از انتظار نبود. این پژوهش برای اولین بار انجام شد تا بیان ژن‌های استئوژنیک را در بافت استخوان موش‌های مسموم شده با پراکساید هیدروژن مورد بررسی قرار دهد، چنانچه در این پژوهش مقادیر بیان ژن متغیرهای جذب استخوان نیز اندازه‌گیری می شد بسیار سودمند بود. هم‌چنین اندازه‌گیری میزان پروتئین استئوکلسین و آلکالین‌فسفاتاز در بافت استخوان یا اندازه گیری چگالی مواد معدنی می‌توانست تاثیر مداخلات را به‌گونه محکم تری بر استخوان بیان دارد. لذا به سایر پژوهشگران پیشنهاد می‌شود علاوه بر بررسی متغیرهای یاد شده؛ پژوهشی بر گروه‌های سالم جهت مقایسه با گروه های تحت تزریق پراکساید هیدروژن انجام دهند.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه تمرین و مصرف ویتامین دی اثرات ناشی از مسمویت رادیکال آزاد در استخوان را تعدیل می کنند، لذا این شیوه مداخلات می‌تواند در بیماران پوکی استخوان، افراد سالمند یا بیمارانی که تحت تاثیر مقادیر افزایش یافته رادیکال آزاد در بدنشان هستند، مورد استفاده قرار بگیرد. اگرچه بررسی و تعمیم دقیق نتایج به انسان‌ها نیاز به پژوهش‌های بیشتری دارد.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود از دکتر محمدعلی آذربایجانی، دکتر شیرین زیلائی بوری، دکتر مارینا شریعتی و دکتر غلامرضا کاکا به دلیل حمایت‌هایشان در اجرای طرح را اعلام می‌دارند، هم‌چنین از دست اندرکاران محترم دانشگاه کرمان و همکارانی که با یاری آن‌ها اجرای این پژوهش به پایان رسید سپاسگزاریم. مقاله حاضر از پایان نامه دکتری نویسنده اول با عنوان« تاثیر هشت هفته تمرین هوازی و مکمل یاری ویتامین دی بر بیان عوامل رشدی و مارکرهای بیوشیمیایی استخوان موش‌های نر مسموم شده با پراکساید هیدروژن» مستخرج گردیده است.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

References:

1-Bai XC, Lu D, Bai J, Zheng H, Ke ZY, Li XM, et al. ***Oxidative Stress Inhibits Osteoblastic Differentiation of Bone Cells by ERK and NF-Kb***. Biochem Biophys Res Commun 2004; 314(1): 197-207.

2-Bartell SM, Kim HN, Ambrogini E, Han L, Iyer S, Ucer SS, et al. ***Foxo Proteins Restrain Osteoclastogenesis and Bone Resorption by Attenuating H 2 O 2 Accumulation***. Nat Commun 2014; 5: 3773.

3-Lancaster C, Harrison R. ***Effects of Vitamin D, K1, And K2 Supplementation on Bone Formation by Osteoblasts in Vitro: A Meta-Analysis***. J Biom Biostat 2017; 8(4): 365.

4-Li J, Zhang H, Yang C, Li Y, Dai Z. ***An Overview of Osteocalcin Progress***. J Bone Miner Metab 2016; 34(4): 367-79.

5-Tartibian B, Sheikhlou Z, Malandish A, Rahmati-Yamchi M, Afsargarebag R. ***Effect of Moderate-Intensity Aerobic Training on Alkaline Phosphatase Gene Expression and Serum Markers of Bone Turnover in Sedentary Postmenopausal Women***. Tehran Univ Med J 2017; 74(10): 723-34. [Persian]

6-Nogueira JE, Branco LG, Issa JPM. ***Bone Repair: Effects of Physical Exercise and LPS Systemic Exposition.*** Injury 2016; 47(8): 1828-34.

7-Zhang J ,Valverde P, Zhu X, Murray D, Wu Y, Yu L, et al. ***Exercise-Induced Irisin in Bone and Systemic Irisin Administration Reveal New Regulatory Mechanisms of Bone Metabolism***. Bone Research 2017; 5: 16056.

8-Hell R, Ocarino N, Boeloni J, Silva J, Goes A, Santos R, et al. ***Physical Activity Improves Age-Related Decline in the Osteogenic Potential of Rats' Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells***. Acta Physiol 2012; 205(2): 292-301.

9-Xiaolei S, Fengbo L, Xinlong M, Jianxiong M, Bin Z, Zhang Y, et al. ***The Effects of Combined Treatment with Naringin and Treadmill Exercise on Osteoporosis in Ovariectomized Rats***. Sci Rep 2015; 5: 1-9.

10- Tartibian B, Motabsaee N, Tolouei-Azar J. ***The Influence of Nine-Week Intensive Aerobic Exercises, Calcium and Vitamin D Supplementation on the Metabolic Response of Bone Formation Biomarkers***. Zahedan J Res in Medical Sci 2013; 15(2): e93098. [Persian]

11- Cicek E, Cakmak E. ***Hydrogen Peroxide Induced Oxidative Damage on Mineral Density and Mechanical Properties of Bone.*** Braz Arch Biol Technol 2018; 61: E18180043.

12- Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. ***Exercise Preconditioning Against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Damage in Proteins of Rat Myocardium***. Arch Biochem Biophys 2000; 376(2): 248-51.

13- Ganie SA, Haq E, Hamid A, Masood A, Zargar MA. ***Long Dose Exposure of Hydrogen Peroxide (H2O2) in Albino Rats and Effect of Podophyllum Hexandrum on Oxidative Stress***. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2011; 15(8): 906-15.

14- Li SF, Liu HX, Zhang YB, Yan YC, Li YP. ***The Protective Effects of A-Ketoacids Against Oxidative Stress on Rat Spermatozoa in Vitro***. Asian J Androl 2010; 12(2): 247.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

15- Safrazadeh Gargari S, Matin Homaei H, Azarbayjani Ma. ***Effects of Continues Exercise on BAX and BCL-2 Heart Proteins Following by Different Dos of H2O2 Consumption in Rat Male***. J Shahid Sadoughi University of Medical Sciences 2018; 26(4): 363-79. [Persian]

16- Omrani GR, Masoompour SM, Hamidi A, Mardanifard HA, Taghavi SM, Talezadeh P, et al. ***Bone Mineral Density in the Normal Iranian Population: A Comparison with American Reference Data.*** Arch Osteoporos 2006; 1(1-2): 29-35.

17- Halder SK, Sharan C, Al-Hendy A. ***1, 25-Dihydroxyvitamin D3 Treatment Shrinks Uterine Leiomyoma Tumors in the Eker Rat Model.*** Biol Reprod 2012; 86(4): 116.

18- Husain K, Hazelrigg SR. ***Oxidative Injury Due to Chronic Nitric Oxide Synthase Inhibition in Rat: Effect of Regular Exercise on the Heart.*** Biochim Biophys Acta 2002; 1587(1): 75-82.

19- Gunton JE, Girgis CM, Baldock PA, Lips P. ***Bone Muscle Interactions and Vitamin D***. Bone 2015; 80: 89-94.

20- Goltzman D. ***Functions of Vitamin D in Bone***. Histochem Cell Biol 2018; 149(4): 305-12.

21- Mustafa RA, Alfky NA, Hijazi HH, Header EA, Azzeh FS. ***Biological Effect of Calcium and Vitamin D Dietary Supplements Against Osteoporosis in Ovariectomized Rats***. Progress in Nutrition 2018; 20(1): 86-93.

22- Foong Kiew Ooi, Rabindarjeet S, Harbindar JS, Yoshihisa U. ***Effects of Jumping Exercise and Subsequent Short and Long Term Cessation of Exercise on Bone in Female Rats.*** Malays J Med Sci. 2008; 15(1): 119-31.

23- Tobeiha M, Moghadasian MH, Amin N, Jafarnejad S. ***RANKL/RANK/OPG Pathway: A Mechanism Involved In Exercise-Induced Bone Remodeling***. Biomed Res Int 2020; 2020: 1-11.

24- Shariati M, Azarbayjani MA, Zilaei Bouri S, Kaka G. ***The Effect of Eight Weeks of Aerobic Exercise and Vitamin-D Supplementation on Osteocalcine and Alkaline Pphosphatase in Rats Poisoned with H2O2.*** Iranian J Nutr Sci & Food Tech 2019; 14(2): 1-10.

25- Akagawa M, Miyakoshi N, Kasukawa Y, Ono Y, Yuasa Y, Nagahata I, et al. ***Effects of Activated Vitamin D, Alfacalcidol, And Low-Intensity Aerobic Exercise on Osteopenia and Muscle Atrophy in Type 2 Diabetes Mellitus Model Rats***. Plos One 2018; 13(10): E0204857.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 29| NO 7 | Oct 2021

Received: 18 Oct 2020
Accepted: 16 Nov 2020

Effect of Eight Weeks Aerobic Exercise and Vitamin-D Supplementation on Osteocalcin and Alkaline Phosphatase Gene Expression in Male Rats Poisoned with Hydrogen Peroxide

Ramin Eimari Eskandari[1], Hassan Matin Homaee[†1], Lida Moradi[2]

Original Article

Introduction: Free radicals increase with age and disease, so the aim of this study was to investigate the effect of exercise and vitamin D on the expression of alkaline phosphatase and osteocalcin genes in bone tissue of rats poisoned with hydrogen peroxide.

Methods: In this experimental trial, 36 adult male Wistar rats were randomized into six groups of six rats, 1) control; 2) hydrogen peroxide; 3) hydrogen peroxide + vitamin D; 4) hydrogen peroxide + exercise; 5) hydrogen peroxide + exercise and vitamin D and 6) Sham. For eight weeks, groups 2, 3, 4, and 5 were given daily dose of 1 mmol/kg hydrogen peroxide on even days, groups 3 and 5 received 0.5 mg / kg of Vitamin-D daily, and sham group received only vitamin D solvent intraperitoneally. Groups 4 and 5 performed aerobic exercise 3 day/week. Osteocalcin and alkaline phosphatase gene expression were measured by PCR and were analyzed using independent t-test, two-way analysis of variance and Boferroni's post hoc test with SPSS 16 ($p \leq 0.05$).

Results: The interactive effect of exercise and vitamin D on increasing alkaline phosphatase and osteocalcin was significant. ($p \leq 0.05$); exercise increased alkaline phosphatase and osteocalcin ($p \leq 0.05$); vitamin D was also associated with increased alkaline phosphatase and osteocalcin ($p=0.0001$). The greatest effect on increasing osteocalcin and alkaline phosphatase showed in groups 5 and 3, respectively ($p=0.001$).

Conclusion: Exercise and vitamin D had a positive effect on bone tissue, so that even the systemic effect of hydrogen peroxide could not change the results of this constructive effect.

Keywords: Alkaline phosphatase, Osteocalcin, Hydrogen Peroxide, Aerobic Exercise, Vitamin D.

Citation: Eimari Eskandari R, Matin Homaee H, Moradi L. **Effect of Eight Weeks Aerobic Exercise and Vitamin-D Supplementation on Osteocalcin and Alkaline Phosphatase Gene Expression in Male Rats Poisoned with Hydrogen Peroxide.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 29(7): 3931-42.

[1]Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[2]Department of Physical Education & Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

***Corresponding author:** Tel: 9123680810, **email:** hasanmatinhomaee@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i7.7267]