

اثر شش هفته تمرین هوازی فزاینده به همراه مصرف ویتامین D₃ بر سطح عامل رشد عصبی

در هیپوکامپ موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین

سید امید حمیدی پرچی‌کلایی^۱، سید عبدالله هاشم‌ورزی^۲، محسن پورقاسم^۳

چکیده:

سابقه و هدف: هدف از اجرای این پژوهش، بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی فزاینده به همراه مصرف ویتامین D₃ بر سطح عامل رشد عصبی (NGF) در هیپوکامپ موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین بود.

روش شناسی: ۴۸ سر حیوان (با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۴۰ گرم و سن ۹ هفته) به شش گروه: گروه کنترل، شم، دیابت، دیابت+تمرین، دیابت+ویتامین D₃، دیابت+تمرین+ویتامین D₃ (ترکیبی) تقسیم شدند. گروه تمرینی شش هفته و هفته‌ای پنج روز به تمرین روی نوارگردان پرداختند. گروه ویتامین D₃ به مدت شش هفته و برای دو هفته اول هفته‌ای دو روز ویتامین با دوز ۱ میکروگرم در کیلوگرم و چهار هفته پایانی هفته‌ای یک بار به صورت درون صفاقی ویتامین D₃ دریافت کردند. برای ایجاد مدل تجربی دیابت، STZ با دوز ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت درون صفاقی به حیوانات تزریق شد. سطح عامل رشد عصبی هیپوکامپ موش‌ها با روش الایزا اندازه گیری شد.

یافته‌ها: سطح NGF در گروه کنترل دیابت نسبت به کنترل کاهش معنی داری یافت ($P=0/0001$). از طرف دیگر در گروه دیابت+تمرین+ویتامین در مقایسه با گروه دیابت افزایش معنی داری داشت ($P=0/0001$). همچنین در گروه دیابت+ویتامین نسبت به گروه دیابت+تمرین+ویتامین افزایش معنی داری مشاهده شد ($P=0/0001$) اما در گروه دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت+تمرین+ویتامین اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

نتیجه گیری: به طور کلی نتایج نشان داد مقادیر NGF در گروه دریافت کننده ویتامین به تنهایی نسبت به سایر گروه‌های تحقیق افزایش معناداری یافته است. از طرف دیگر مقادیر NGF در گروه‌هایی که مداخله تمرین را دریافت کردند نسبت به گروه کنترل دیابت افزایش معناداری یافته است اما این افزایش به میزان گروه دریافت کننده ویتامین به تنهایی نبود. لذا به نظر می‌رسد هر کدام از مداخله‌ها به خصوص مصرف ویتامین D₃ می‌تواند به واسطه تاثیر افزایشی روی عوامل نوروتروفیک یک عامل حفاظت عصبی مرکزی در برابر بیماری دیابت باشد.

کلیدواژه‌گان: تمرین هوازی فزاینده، ویتامین D₃، عامل رشد عصبی، دیابت

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

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

۳. استاد مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل. آدرس ایمیل:

دیابت^۱ یک اختلال متابولیک می باشد که به وسیله افزایش سطح گلوکز خون (هیپرگلیسمی) به دنبال نقص در ترشح انسولین^۲، به عمل انسولین یا هر دو مشخص می گردد، این بیماری با اختلالات غدد درون ریز و عوارض متابولیکی حاصل از آن همراه است (۱). دیابت قندی در اندام های مختلف مانند چشم، کلیه، عروق و اعصاب آثار زیان آوری را به همراه دارد و نیز با آسیب سیستم اعصاب مرکزی^۳ (CNS) و اختلالات شناختی مرتبط است (۲،۳). این بیماری با آتروفی هیپوکامپی و کل مغز، سخته مغزی و زوال عقل ارتباط دارد (۴). نتایج مطالعات متعدد، بیانگر تغییرات ساختاری و عملکردی مغز به ویژه در هیپوکامپ^۴ (۵) و نیز تغییرات محسوس در حافظه و یادگیری طی دیابت کنترل نشده می باشند (۶). در موش های دیابتی شواهد فراوانی بر نقصان رفتاری و بیوشیمیایی به ویژه در هیپوکامپ که ناحیه مهمی از مغز برای یادگیری و حافظه است وجود دارد (۷،۸). هیپوکامپ به عنوان یک مرکز مهم در یادگیری و حافظه نسبت به افزایش قند خون حساس بوده و نرون های آن در دیابت نوع ۱ فوق العاده آسیب پذیر هستند از طرف دیگر نروپاتی^۵، شایع ترین عارضه عصبی دیابت است که علاوه بر تاثیر بر سیستم اعصاب محیطی، منجر به تغییراتی در سیستم اعصاب مرکزی به ویژه مغز می شود. از میان مناطق مغزی، هیپوکامپ یکی از حساس ترین نواحی است که در مقابل فاکتورهای مضر و آسیب رسان مانند ایسکمی، استرس و به ویژه دیابت بسیار آسیب پذیر بوده و در طی آن دستخوش تغییرات نوروفیزیولوژیکی، ساختاری و مولکولی همچون کاهش نورونز، آتروفی هیپوکامپی، کاهش انشعابات دندریتی، تغییرات آستروگلیایی، تغییر در رسپتورهای گلوتاماتی، رسپتورهای انسولینی و فاکتورهای رشد شبه انسولینی، رسپتورهای دوپامینی و فاکتور رشد عصبی^۶ (NGF) می شود (۹،۱۰،۱۱). در سال های اخیر توجه زیادی به عوامل نروتروفیکی و نقش آن ها در بقای عصبی، نورونز، رشد آکسونی، پیوستگی و شکل پذیری نرون جلب شده است (۱۲). NGF اولین عضو کشف شده از خانواده نروتروفین ها می باشد که برای آن نقش تغذیه ای، حفاظتی، تمایز، بلوغ و گسترش نرون ها را قائل شده اند (۱۳). NGF در سیستم عصبی مرکزی و محیطی وجود دارد و از طریق انتقال روبه عقب، به وسیله گیرنده با میل ترکیبی بالا $P75^N$ و $Trk-A^Y$ و گیرنده با میل ترکیبی پایین بر نرون ها اثر می گذارد و رشد و تمایز نرون های جوان را تحریک کرده و به بالیده شدن آن ها کمک می کند (۱۴،۱۵). ناحیه کینازی گیرنده $Trk-A$ به محض اتصال با NGF متحمل ترانس فسفوریلاسیون می شود و اعتقاد بر این است که این رویداد آشبار پیامبر ثانویه را راه اندازی می کند، در نتیجه موجب دامنه ای از تغییرات عملکردی در فعالیت نرونی می شود (۱۴). در وضعیت پاتولوژیکی از قبیل دیابت بیان NGF و گیرنده های آن کاهش می یابد (۱۵). اطلاعات بدست آمده از مدل های حیوانی و انسانی نشان می دهد اختلالات نرونی و عصبی حاصل از دیابت می تواند مرتبط با عدم تنظیم در هر یک از سنتز، انتقال و مصرف NGF به وسیله نرون ها باشد (۱۶).

مطالعات اخیر نشان داده است که فعالیت ورزشی به عنوان یک درمان غیر دارویی نقش مهمی در تنظیم و کاهش سیتوکین التهابی مرتبط با عملکرد سلول های بتا لوزالمعده تولید کننده انسولین، ایفا می کند (۱۷،۱۸). ورزش در بافت مغزی و هیپوکامپ موش های دیابتی توانسته است از کاهش سطح شناخت و حافظه فضایی جلوگیری کند. همچنین ورزش توانسته است سطوح گلوتامات، گلووتاتیون (GSH)، گلوتامین سنتاز (GS) و GFAP

1-diabetes

2 - insulin

3- Central nervous system

4- hippocampus

5- neuropathy

6 - Nerve growth factor

7 - tyrosin kinase A

8 - low affinity neurotrophin receptor

را در مغز موش های دیابتی افزایش دهد و فرایند شناخت را بهبود بخشد (۱۹). گزارش شده است ورزش با نرون زایی و آنژیوژنز حفاظت عصبی را اعمال می کند. ورزش باعث افزایش سیگنال دهی فاکتورهای رشدی به وسیله کاهش عوامل التهاب زا و بهبود سطوح فاکتورهای رشدی می شود. شواهد زیادی نشان می دهد که نقاط مشترکی در سیگنال دهی بین فاکتورهای رشدی IGF-1, BDNF و VEGF وجود دارد (۲۰). شرکت در فعالیت بدنی و ورزش سبب سازگاری های نوروبیولوژیکی می شود. احتمالاً عوامل نوروتروفیک در مکانیسم های این آثار مفید ورزش سهیم اند (۱۳).

یکی از رویکردهای درمانی غیرتهاجمی مطرح شده در بیماری دیابت استفاده از ویتامین D می باشد. در ۱۰ تا ۱۵ سال گذشته مطالعات روی رژیم غذایی و ویتامین D^۲ (VD) در حیوانات آزمایشگاهی شواهد قانع کننده ای را نشان می دهد که این ویتامین به عنوان یک هورمون برای هموستاز طبیعی مغز و توسعه مغز نیاز است. ویتامین D در سال ۱۹۲۸ توسط آدولف وینداسین کشف شد (۲۱). داده های متعددی نشان می دهد که مغز بافت هدف برای اقدامات VD است. این هورمون استروئیدی نقش مهمی در سیستم عصبی از جمله، تمایز، تنظیم کلسیم، هموستاز، مدلاسیون، آزاد کردن نورتروفین ها و فعالیت ژن های مغز و آنزیم های متابولیسم انتقال دهنده عصبی دارد (۲۲). VD₃ به دو شکل هیدروکسیلیشن می شود که ۲۵ هیدروکسی ویتامین D₃ را تشکیل می دهد. این هیدروکسیلیشن در کبد انجام می شود. سپس 25OHD₃ تشکیل شده، به هورمون فعال ۱,۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D₃ تبدیل می شود. مانند دیگر لیگاند های کوچک که به گیرندهای هسته ای (مثل ویتامین A) اتصال می یابد متابولیت های VD هم برای عبور از سد خون مغز به آنها متصل می شود. با این حال نفوذ VD از سد خون مغز پایین تر از مقدار دیگر هورمون های دخیل در رشد مغز مانند استروئیدهای جنسی بوده است. نشان داده شده که مغز موش تازه متولد شده که با کمبود VD₃ همراه بودند بطن های جانبی بزرگتر و کاهش ضخامت قشر را به همراه داشتند. در مغز این حیوانات بیان NGF و فاکتور های نروتروفیک مشتق از سلول گلیال^۳ (GDNF) کاهش یافته بود (۱۳). در شرایط آزمایشگاهی بیان ژن VDR^۴ باعث تحریک بیان ژن NGF در سلول های عصبی شده است (۲۳). در پژوهشی عنوان شد VD₃ در مغز می تواند بیان ژن NGF mRNA را افزایش دهد، در این مطالعه سطوح قند خون کاهش داشت ولی این کاهش معنی دار نبود و در این زمینه نیازمند پژوهش های بیشتری می باشیم. در سال های اخیر چندین فرم از ۱,۲۵ دی هیدروکسی D₃ کشف شده است که می توانند بر روی جبران کاهش NGF موثر باشد. مشخص شده است VD₃ با اثر بر روی کلسیم (Ca) و تنظیم متابولیسم آن در داخل بدن، باعث افزایش NGF در بافت های محیطی می شود (۲۴). همچنین شواهد نشان می دهد تغییر در هموستاز ویتامین D و کلسیم می تواند در ایجاد و توسعه بیماری دیابت نقش داشته باشد، از طرف دیگر مشخص شده است غلظت پایین ویتامین D می تواند با اختلال در تحمل گلوکز و بیماری دیابت همراه باشد (۲۵). در زمینه اثرات تمرین هوازی بر روی سطح NGF در موش های دیابتی تحقیقاتی صورت گرفته است. چای و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه ای اثر ورزش اجباری بر روی سطح پروتئین NGF در بافت هیپوکامپ موش های مدل دیابتی را بررسی کردند. در این پژوهش تمرینات به مدت ۶ هفته و شدت تمرینات اجباری از هفته اول ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه شروع و در هفته ۴ و ۵ و ۶ با شدت ۱۸ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه ادامه داشت. نتایج آنها نشان داد، ورزش توانسته در گروه ورزش+دیابت سطح NGF را در هیپوکامپ موش ها به طور معنی

1 - Brain Derived Neurotrophic Factor
2 - Vitamin D

3 - Glial cell-line derived neurotrophic factor
4 - Vitamin D receptor

داری نسبت به گروه کنترل دیابت افزایش دهد (۲۶). در زمینه اثرات مصرف ویتامین D3 بر روی سطح NGF در موش های دیابتی تحقیقاتی صورت گرفته است. ریاض و همکاران (۱۹۹۹) در پژوهشی به اثرات مصرف ویتامین D3 بر سطوح NGF در موش های دیابتی شده با STZ پرداختند. در این مطالعه از موش های نر و بیستار ۱۰ هفته ای با وزن ۳۰۰-۳۲۰ گرم استفاده شده است. موش ها به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. بعد از دیابتی شدن موش ها گروه های تحت درمان به دو گروه دیابت به همراه دریافت ویتامین به میزان ۰٫۳ میکرو گرم در کیلوگرم وزن بدن و گروه دیابت به همراه دریافت ویتامین به میزان ۱ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. نتایج این پژوهش نشان داد سطوح NGF در گروه های کنترل و گروه های دیابتی دریافت کننده ۱ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن ویتامین D3 افزایش معناداری نسبت به سایر گروه ها داشته است (۲۴). در پژوهش حاضر از آنجا که تاکنون تحقیقی در زمینه اثرات ترکیب تمرینات هوازی فزاینده به همراه مصرف مکمل ویتامین D3 در موش های دیابتی شده با STZ^۱ بر سطح NGF بافت هیپوکامپ مشاهده نشده است، مورد بررسی قرار خواهد گرفت و می خواهیم به این سوال پاسخ دهیم که آیا این روش درمانی می تواند چشم انداز روشن تری در درمان اختلالات عصبی حاصل از بیماری دیابت در مغز مخصوصا هیپوکامپ ایجاد کند؟

روش پژوهش:

در پژوهش حاضر، ۴۸ سر موش صحرانی نر بالغ ۸ هفته ای نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۴۰ گرم تهیه شد. موش ها توسط محقق در آزمایشگاه چوندگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری به مدت ۱ هفته به منظور سازگاری با محیط نگهداری شدند. این حیوانات در ۹ هفتگی پس آشنایی با نحوه ی فعالیت روی نوارگردان (ساخت ایران) به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند که عبارتند از: گروه کنترل، گروه شم، گروه کنترل دیابت، گروه دیابت+تمرین، گروه دیابت+ویتامین D3 و گروه دیابت+تمرین+ویتامین D3. همه گروه ها با رعایت اصول اخلاقی نگهداری حیوانات به صورت آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. جهت تطابق با محیط جدید حیوانات به صورت گروه های ۴ سر موش در قفس پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند.

گروه های تمرینی روی نوارگردان به مدت ۶ هفته به تمرین هوازی پرداختند. در پژوهش حاضر از سرعت تمرینی ۱۰-۱۸ متر در دقیقه معادل ۵۵-۵۰ درصد VO2max و در عین حال کار آمد از لحاظ فیزیولوژیک، استفاده شد (۳۲). بدین صورت که گروه ورزشی در معرض تمرین نوارگردان با شدت متوسط ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفت. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۴-۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۴-۱۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، ۱۷-۱۸ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. به منظور رسیدن سازگاری های بدست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند (۲۶).

ویتامین D3 از شرکت شیمیایی و دارویی کایمن (آلمان) تهیه شد. برای تهیه مکمل ۱۰۰ میکروگرم کلسیتریول در یک میلی لیتر از حلال پروپیلن گلیکول حل شد و سپس در سالیین ۹ در صد حل شد (هر میلی لیتر از محلول حاوی یک میکروگرم از مکمل بوده است). مکمل دی هیدروکسی ویتامین D3 با دوز ۱ میکرو گرم در کیلوگرم

وزن بدن برای دو هفته اول هفته ای دوبار تزریق و چهار هفته آخر هفته ای یک بار تزریق، در مجموع هشت مرحله تزریق برای هر موش گروه دریافت کننده مکمل به صورت صفاقی تزریق شد (۱۳،۲۴). جهت القا دیابت در رت ها، استرپتوزوسین (Streptozocin) (چین) با دوز ۶۰ میلیگرم در کیلوگرم به صورت درون صفاقی (IP) به حیوانات تزریق شد. STZ در سرم فیزیولوژی سرد حل شده و به صورت تازه استفاده شد. ۷۲ ساعت بعد از القا دیابت از دم حیوان خون گیری شد. میزان قند خون با دستگاه گلوکومتر (Bionime مدل Gm110 ساخت سوئیس) اندازه گیری شد. حیوان با قند خون ناشتا بیشتر از ۲۵۰ mg/dl دیابتی تلقی شدند (۲۷)(جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. میانگین قند خون گروه ها (mg/dl) و تایید دیابتی شدن گروه های مدل

تعداد (سر)	انحراف استاندارد	میانگین قند خون (mg/dl)	گروه ها
۸	۴/۴۲	۱۱۳/۲۸	گروه کنترل
۸	۴/۲۳	۱۱۴/۴۲	گروه شم
۸	۱۱/۴۸	۳۳۴/۷۱	گروه کنترل دیابت
۸	۱۱/۵۸	۲۹۳/۵۷	گروه دیابت + تمرین
۸	۷/۲۶	۳۳۴/۱۴	گروه دیابت + ویتامین D
۸	۷/۶۵	۳۳۵/۲۸	گروه دیابت + تمرین + ویتامین D

به منظور تهیه نمونه بافتی ابتدا موش ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بیهوش شدند. سپس با جدا کردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جدا کردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسه جمجمه، هیپوکامپ از سایر قسمت های مختلف مغز جدا شد و بلافاصله در ازت قرار گرفت. پس از منجمد شدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای زیر -۸۰ درجه نگهداری شد. بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ، میزان غلظت NGF بافت هیپوکامپ گروه ها به وسیله کیت آزمایشگاهی شرکت HANGZHOU ساخت کشور چین با ضریب حساسیت ۰،۱۹۵ پیکوگرم در میلی گرم به روش الایزا اندازه گیری شد.

در این تحقیق به منظور بررسی تفاوت های موجود بین گروه ها از آنالیز واریانس دوطرفه (TWO-WAY ANOVA) استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی توکی (TUKEY) برای تعیین تفاوت بین گروه ها استفاده شد. در این بررسی ها سطح معنی داری کوچک تر و مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همه تجزیه و تحلیل های آماری به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. برای بررسی نرمال بودن از آزمون کولمگروف اسمیرنوف استفاده شد.

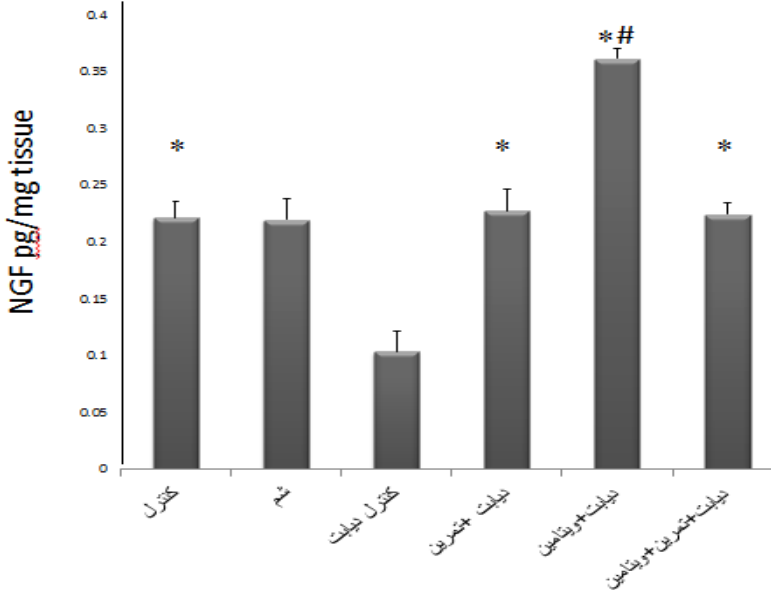
نتایج:

با استفاده از آزمون کولمگروف اسمیرنوف طبیعی بودن توزیع داده ها مشخص شد. بر اساس تجزیه تحلیل آماری مشخص شد که سطح NGF در گروه کنترل دیابت نسبت به کنترل کاهش معنی داری یافت (P=۰/۰۰۰۱). این فاکتور در گروه دیابت + تمرین + ویتامین در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنی داری یافت (P=۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۲). همچنین در گروه دیابت + ویتامین نسبت به گروه دیابت + تمرین + ویتامین افزایش معنی داری

مشاهده شد ($P=0/0001$). از طرف دیگر در گروه دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت+تمرین+ویتامین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0.05$) (شکل شماره ۱).

جدول شماره ۲. میانگین و انحراف استاندارد سطوح NGF هیپوکامپ (پیکوگرم/میلی‌گرم بافت)

گروه	میانگین	انحراف استاندارد	حداقل	حداکثر
کنترل سالم	۰/۲۲۲	۰/۰۱۰	۰/۲۰۶	۰/۲۳۲
شم	۰/۲۲۰	۰/۰۰۹	۰/۲۰۷	۰/۲۳۳
کنترل دیابت	۰/۱۰۴	۰/۰۱۹	۰/۰۸۷	۰/۱۴۰
دیابت+تمرین	۰/۲۲۸	۰/۰۱۸	۰/۲۱۲	۰/۲۶۷
دیابت+ویتامین	۰/۳۶۲	۰/۰۱۸	۰/۳۲۶	۰/۳۸۲
دیابت+تمرین+ویتامین	۰/۲۲۵	۰/۰۱۴	۰/۲۱۱	۰/۲۴۸



شکل شماره ۱. تغییرات NGF بر حسب پیکوگرم/ میلی‌گرم در گروه‌های پژوهش

*: نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابت، #: نشانه اختلاف معنی‌دار با سایر گروه‌ها

بحث و نتیجه گیری:

مهمترین یافته مطالعه حاضر برتری استفاده از راهبرد ویتامین D نسبت به تمرین و ترکیب تمرین و ویتامین بر روی افزایش NGF در هیپوکامپ موش‌های دیابتی می‌باشد. همچنین سطح NGF در گروه کنترل دیابت نسبت به گروه سالم کاهش معنی‌داری داشت که مکانیزم احتمالی آن شامل فعال‌سازی آهسته فسفاتیدیل-۳-کیناز (-PI3 K) می‌باشد که در نهایت منجر به انحطاط و کاهش انتقال NGF و افزایش آپاتوز در بیماران دیابتی می‌شود (۲۶).

از طرف دیگر داده مطالعه حاضر در مقایسه با گروه کنترل دیابت، نشان دهنده افزایش قابل توجه و معنی دار سطح NGF در هیپوکامپ موش های دیابتی بود که تمرین ورزشی روی نوارگردان همراه با مصرف ویتامین D3 را به مدت شش هفته انجام دادند. در واقع یکی از اهداف مطالعه حاضر بررسی اثر تقویت کننده تمرینات ورزشی و مصرف ویتامین D به صورت همزمان بود. به عبارت دیگر این سوال مطرح بود که آیا اجرای برنامه تمرینی و مصرف ویتامین D به صورت توامان می تواند موجب بارزتر شدن تغییرات سطح NGF در مطالعه حاضر شود؟ نتیجه بدست آمده نشان می دهد که مصرف این ویتامین به همراه انجام تمرینات ورزشی روی نوارگردان آثار مفیدی در برابر اختلالات هیپوکامپ حاصل از بیماری دیابت دارد. به طور کلی نتایج نشان داد مقادیر NGF در گروه تمرین، ویتامین و همچنین در گروه تمرین+ویتامین+دیابت در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معناداری یافت که این افزایش در گروه ویتامین بیشتر مشاهده شد. لذا به نظر می رسد هر کدام از مداخله ها به خصوص مصرف ویتامین D3 می تواند به واسطه تاثیر افزایشی روی عوامل نوروتروفیک یک عامل حفاظت عصبی مرکزی در برابر بیماری دیابت باشد. همسو با پژوهش حاضر چانگ و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه ای تاثیر تمرین اجباری روی نوارگردان با شدت متوسط بر روی سرکوب مرگ سلولی از طریق افزایش NGF ناشی از ورزش را مورد بررسی قرار داده است. در این مطالعه ۴۵ سر موش صحرایی به ۳ گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل ۱۵ سر، گروه آسیب دیده ۱۵ سر و گروه آسیب دیده و تمرین ۱۵ سر. موش ها به مدت ۸ هفته و هفته ای ۵ روز به تمرین پرداختند. نتایج نشان داده است سطوح پروتئین P-PL3K، NGF و P-AH در گروه آسیب دیده و ورزش نسبت به گروه بدون تمرین بالاتر بوده است. بررسی ها نشان داده است ورزش روی نوارگردان با شدت متوسط سطوح NGF را افزایش می دهد و با فعال کردن P-PL3K از آپوپتوز سلول های عصبی در موش های آسیب دیده عصبی جلوگیری کرده است (۲۸). همچنین حمیدی و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهشی به اثرات حفاظتی چهار هفته تمرینات هوازی و مصرف ویتامین D3 بر روی سطح NGF در موش های مدل پارکینسون پرداخته اند. در این پژوهش تعداد ۴۸ سر موش به ۶ گروه تقسیم شدند. گروه تمرینی به مدت ۴ هفته و هفته ای ۵ روز به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به تمرین پرداختند و همچنین مکمل ویتامین D3 را با دوز ۱ میلیگرم در کیلوگرم به ازای وزن بدن هفته ای ۲ بار به مدت ۴ هفته دریافت کرده اند. نتایج بررسی آن ها مشخص کرد مصرف ویتامین D3 به همراه تمرینات ورزشی هوازی می تواند با افزایش سطوح NGF در جسم مخطط موش های پارکینسونی از سیستم عصبی مرکزی در برابر اختلالات نروژنراتیو حفاظت کند اما وقتی اثرات ورزش به تنهایی بررسی شد این افزایش معنادار نبود (۱۳). ترکیب آثار ورزش با مکمل ویتامین D می تواند به صورت چند مکانیزم احتمالی توضیح داده شود. اول ورزش می تواند در مسیر تولید NGF به واسطه افزایش انرژی در دسترس سلول عصبی و بلوغ پیش سازهای NGF و افزایش بیان تیروزین کیناز A که گیرنده ای فعال برای NGF محسوب می شود، اثربخش باشد (۲۹). از طرف دیگر در پژوهشی جدید مشخص شده است که ورزش در بافت مغزی و هیپوکامپ موش های دیابتی توانسته است از کاهش سطح شناخت و حافظه فضایی جلوگیری کند، مکانیزم های مطرح شده در این پژوهش به افزایش سطوح گلوتامات، گلوتاتیون (GSH)، گلوتامین سنتاز (GS) و پروتئین های اسیدی فیبری گلیا (GFAP¹) طی ورزش در مغز موش های دیابتی اشاره دارد (۱۹). دوم مکمل ویتامین D می تواند به واسطه مسیرهای هسته ای که به آن مسیر ژنتیکی هم گفته می شود بر سیستم عصبی اثرگذار باشد. در مسیر ژنتیکی 1-25(OH)2D با اتصال به گیرنده

هسته‌ای خود (VDR) و بعد از یک واکنش به وسیله 1 RXR و تولید $VDRE$ شروع به پاسخ ژنتیکی می‌کند. VDRE ممکن است با عوامل فعال (COAC) 2 و یا با عوامل سرکوب کننده (CORE) 4 متصل شود. با اتصال به COAC در سیستم عصبی و ایمنی باعث افزایش بیان ژن $TNF-A$ 5 ، استئوپونین، TGF 6 ، $P75NTR$ و NGF می‌شود. لازم به ذکر است که ورزش از راه افزایش بیان گیرنده‌های NGF در سطح سلول، اثربخشی این عامل نوروتروفیک را افزایش می‌دهد. از طرفی دیگر مصرف مکمل VD نیز همین نقش را در مورد گیرنده $P75$ دارد (۳۰). مکانیزم احتمالی در خصوص افزایش معنادار سطح NGF در گروهی که فقط مکمل ویتامین D مصرف کرده بود نسبت به سایر گروه‌ها می‌توان به به نقش استرس اکسایشی حاصل از تمرین اجباری روی نوارگردان اشاره کرد. در یک پژوهش مروری بیان شده است ورزش هوازی هم از نوع حاد و هم مزمن می‌تواند باعث ایجاد مالون دی آلدئید 7 که یک شاخص استرس اکسایشی است شود. در این پژوهش عنوان شده است حداقل زمان برای سازگاری کامل به تمرین هوازی و کاهش سطوح مالون دی آلدئید در حیوانات، ۸ هفته می‌باشد و از طرف دیگر برای افزایش سطوح سوپر اکسید دیسموتاز 8 به عنوان یک شاخص آنتی اکسیدانی، ۶ هفته می‌باشد (۳۱). احتمالاً جهت سازگاری‌های بیشتر به تمرین و کاهش استرس حاصل از آن باید مدت انجام آن را افزایش داد. با توجه به مطالب بیان شده، مصرف مکمل و تمرینات ورزشی می‌توانند در بیان و اثربخشی و مکانیزم‌های عمل NGF در سلول‌های عصبی مکمل هم باشند (۱۳). در پژوهش حاضر نقش عوامل و متغیرهای اثرگذار دیگری که می‌توانست در توجیه تغییرات سطح NGF کمک کننده باشد مانند سطح تغییرات گیرنده‌های سلولی این فاکتور، proNGF و میزان سطوح عوامل استرس زا مورد اندازه‌گیری قرار نگرفته است که می‌تواند به عنوان محدودیت پژوهش حاضر تلقی شود.

نتیجه‌گیری کلی: با توجه به نقش NGF در سلامت و کاهش اثرات ناشی از بیماری دیابت بر سیستم عصبی مرکزی مخصوصاً هیپوکامپ و پیری لذا ترکیب مصرف مکمل VD_3 همراه با انجام تمرینات ورزشی می‌تواند یک راهکار حفاظتی و درمانی در جهت کاهش آسیب‌ها در این بیماری باشد. اما وقتی آثار متغیرهای مستقل پژوهش با هم مقایسه شد، مشخص شد مصرف ویتامین D_3 به تنهایی در کاهش اثرات ناشی از این بیماری در سیستم عصبی مرکزی موثرتر بود. لذا اینگونه استنباط می‌شود جهت افزایش بهره‌برداری از آثار مثبت ورزش بر روی NGF، از انجام تمرینات هوازی فزاینده به دلیل افزایش شدت ورزش و احتمالاً افزایش سطوح عوامل استرس زا سلولی خودداری شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از کلیه افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند تشکر کنند.

منابع:

- 1- Havilah P, Pandit Vinodh B, Durga Prasad K. 2013. Adenosine Deaminase Activity in Type-2 Diabetes Mellitus – An Independent Marker of Glycemic Status and Stimulator of Lipid Peroxidation. Int. J. Chem, 02 (06), 1175-1178.

۱- retinoid acid x receptors

۲- vitamin d responsive elements

۳- co-activator factor

۴- co-repressive factor

۵- Tumor necrosis factors

۶- transforming growth factor

۷ - Malondialdehyde

۸ - Super Oxidative Dismutase

- 2- Knopman D, Boland LL, Mosley T, Howard G, Liao D, Szklo M, et al. 2001. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults. *Neurology*. 56: PP: 42-8.
- 3- Gispen WH, Biessels GJ. 2000. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci*. 23: PP: 542-9.
- 4- Sun MK, Alkon DL. 2006. Link between Alzheimer's disease and diabetes. *Drugs Today*. 42: PP: 481-489.
- 5- Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. 2003. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozocin-induced diabetes mellitus. *Life Science*. 73: 1907-16.
- 6- Pedersen BK, Pedersen M, Krabbe KS, Bruunsgaard H, Matthews VB, Febbraio MA. 2009. Role of exercise-induced bdnf production in the regulation of energy homeostasis. *Exp Physiol*. 94: 1153-1160.
- 7- Fang Yu, Kolanowski Ann. 2009. Facilitating Aerobic Exercise Training in older adults with Alzheimer s disease. *Geriatr Nurs*. Vol 30, 4, 250-259.
- 8- Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A. 2007. High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem*. 87: 597-609.
- 9- Momeni, z. Behnam rasoli, m. Feridoni, m. 2011. Comparison of the effects of type 1 and type 2 diabetes on hippocampal neuronal density in male Wistar rats. *Ir J Diabetes and Lipid*. Farvardin. Volume 10 (Number 4): 339-346. (In Persian).
- 10- Reagan LP. 2007. Insulin signaling effects on memory and mood. *Curr Opin Pharmacol*. 7: 633-7.
- 11- Jafari anarkooli i, Sankian m, Varasteh a.r, Haghiri h. 2010. Effects of insulin and ascorbic acid on inhibition of the apoptosis in hippocampus of stz-induced diabetic rats. *Anat Sci J*. 7: 133-143.
- 12- Xu B, Zang K, Ruff NL, Zhang YA, McConnell SK, Stryker MP. 2000. Cortical degeneration in the absence of neurotrophin signaling: dendritic retraction and neuronal loss after removal of the receptor TrkB. *Neuron*. 26: 233-45.
- 13- Hamidi Perchikolaei. S. O, Falah Mohamadi. Z, Hajizadeh Moghadam. A. 2016. The effect of treadmill running with consumption of vitamin D3 on NGF levels in Parkinsonian rat's striatum. *Sport Physiology*. Spring. 8 (29): 91-102. (In Persian).
- 14- Delcroix JD, Michael GJ, Priestley JV, Tomlinson DR, Fernyhough P. 1998. Effect of nerve growth factor treatment on p75NTR gene expression in lumbar dorsal root ganglia of streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes*. 47: 1779-85.
- 15- Chae C-H, Jung S-L, An S-H, Jung C-K, Nam S-N, Kim H-T. 2011. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating pphosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. *J Physiol Biochem*. 67: 235-41.
- 16- Aloe L, Rocco M, Bianchi P, Manni L. 2012. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. *Journal of Translational Medicine*; 10: 239.
- 17- De Salles Bf, Simão R, Fleck SJ, Dias I, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. 2010. Effects of resistance training on cytokines. *Int J Sports Med*. 31(7): 441-50.
- 18- Tang Z, Yuan L, Gu C, Liu Y, Zhu L. 2005. Effect of exercise on the expression of adiponectin mRNA and GLUT4 mRNA in type 2 diabetic rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 25(2): 191-193
- 19- Priscylla N, Pamela B, Fabiana G, Larissa B, Patricia, S. 2017. Physical exercise reverses spatial memory deficit and induces hippocampal astrocyte plasticity in diabetic rats. *Brain Res*. Volume 1655, 15 January, Pages 242-251.

- 20- Cotman C. W, Berchtold N. C, Christie L. A. 2007. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci.* 30(9), 464-472.
- 21- Eyles D. W, Burne T. H, McGrath J. 2012. Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. *Front Neuroendocrinol.* Vol 34, 1. 47-64.
- 22- Kalueff A, Minasyan A, Tuohimaa P. 2005. Anticonvulsant effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D in chemically induced seizures in mice. *Brain Res Bull.* 67(1), 156-160.
- 23- Cornet C. Baudet L, Neveu A. 1998. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 regulates the expression of VDR and NGF gene in Schwann cell in vitro. *J Neurosci Res.* vol. 53, no. 6, pp. 742-746.
- 24- Riaz S, Malcangio M, Miller M, Tomlinson D R. 1999. A vitamin D3 derivative (CB1093) induces nerve growth factor and prevents neurotrophic deficits in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia.* 42(11): 1308-13.
- 25- Pittas A, Dawson B, Li T, Willett W, Manson J, Hu F. 2006. Vitamin D and Calcium Intake in Relation to Type 2 Diabetes in Women. *Diabetes Care,* Vol 29, 3, 650-656.
- 26- Chae, C.H., Jung, S.L., An, S.H., Park, B.Y., Wang, S.W., Cho, I.H., Cho, J.Y., Kim, H.T. 2009. Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/ extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. *Neuroscience;* 164, 1665–1673.
- 27- Moradi A, Mohammadi S, Hamidi Alamdari D. 2015. Effect of adipose tissue-derived stem cells on the control of the blood glucose level in diabetic rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci.* 23(8): 717-26. (In Persian).
- 28- Chang-Hun, Chae. Hyun-Tae, Kin. 2009. Forced moderate-intensity treadmill exercise suppresses apoptosis by increasing the level of NGF and stimulating phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. *Neurochem Int.* Vol 55, 4, 208-213.
- 29- Chae C-H, Lee H, Jung S, Kim T, Kim J, and Kim N. RETRACTED. 2012. Swimming exercise increases the level of nerve growth factor and stimulates neurogenesis in adult rat hippocampus. *Neuroscience.* 212: p. 30-37.
- 30- Fernandes D, Eyles D. 2009. Feron, Vitamin D, a neuro-immunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. *Psychoneuroendocrinology.* 34: p. S265-S277.
- 31- Yeylaghi Ashrafi M, Dabidi Roshan V. 2016. Aerobic and Anaerobic Exercise of the Acute and Chronic and the Selected Markers of Oxidative Stress: A Systematic Review in Human and Animal Studies. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences.* Volume 22, Number 7. 1126-1138. (in Persian).
- 32- Calcutt NA, Jorge MC, Yaksh TL, Chaplan SR. 1996. Tactile allodynia and formalin hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin, aldose reductase inhibition and lidocaine. *Pain;* 68: 293-299.