

تأثیر شش هفته فعالیت کاهش یافته به شکل درد نوروپاتی بر بیان ژن پروتئین راننده یکشنبه عصب سیاتیک رت‌های نر ویستار

عبدالرضا کاظمی^۱، مسعود رحمتی^۲، علی ضیا سیستانی^۳

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان*
۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه لرستان
۳. کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۲۶

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر شش هفته فعالیت کاهش یافته به شکل درد نوروپاتی بر بیان ژن پروتئین راننده یکشنبه در عصب سیاتیک رت‌های نر ویستار می‌باشد. جهت انجام پژوهش، ۱۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (با میانگین وزنی 25 ± 30 گرم) به دو گروه کنترل سالم (تعداد=۵) و گروه فعالیت کاهش یافته (تعداد=۵) تقسیم شدند. طی شش هفته پس از آن، آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتی در گروه‌های پژوهشی به صورت مستمر انجام شد و در پایان شش هفته، تغییرات بیان ژن پروتئین راننده یکشنبه در عصب سیاتیک با تکنیک ریل تایم اندازه‌گیری گردید و با روش CT-2 و آزمون تی مستقل محاسبه شد. تحلیل واریانس یک طرفه نشان می‌دهد آستانه تحریک درد که با آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتی آلودینای مکانیکی و پردردی حرارتی سنجیده شده است، در گروه لیگاتوربندی نسبت به گروه کنترل به شکل معناداری کمتر می‌باشد ($P = 0.05$). همچنین، میزان بیان ژن پروتئین راننده یکشنبه در عصب سیاتیک در گروه لیگاتوربندی شده به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است ($P = 0.05$). یافته‌های پژوهش حاضر بیانگر این است که فعالیت کاهش یافته در اثر درد نوروپاتی با افزایش بیان پروتئین راننده یکشنبه همراه بوده است که احتمالاً این افزایش با آسیب‌ها و اختلالات مرتبط با تخریب عصب و انتقال آکسونی در فعالیت کاهش یافته به شکل درد نوروپاتی مرتبط می‌باشد.

واژگان کلیدی: درد نوروپاتی، فعالیت کاهش یافته، اختلال انتقال آکسونی، پروتئین راننده یکشنبه

مقدمه

انتقال آکسونی، فرایندی حیاتی در نورون می‌باشد؛ زیرا، نورون‌ها نیازمند ارتباط مؤثر با جسم سلولی و انتهای آکسونی خود بوده و انتقال آکسونی پروتئین، چربی و میتوکندری مورد نیاز برای آکسون و پایانه‌های عصبی را فراهم می‌کند و مواد پسماند و پروتئین‌های ناقص را برای جلوگیری از ایجاد آسیب و سمیت دفع می‌نماید (۱). صرف‌نظر از نقش آن در متابولیسم، انتقال آکسونی برای ارسال پیام‌های درون‌نورونی نیز حیاتی بوده و به نورون اجازه می‌دهد که به پیام‌های رشدی یا فشارهای استرسی به‌گونه‌ای مؤثر پاسخ دهد (۲). برای سهولت می‌توان انتقال آکسونی را به دو دسته تقسیم کرد: انتقال آکسونی سریع که مسئول انتقال وزیکول و میتوکندری‌ها است و انتقال آکسونی آهسته که پروتئین‌های سیتوپلاسمی (همانند آنزیم‌ها) و سایتواسکتلی^۱ (میکروتوبول‌ها و نوروفیلانتها) را انتقال می‌دهد (۳). این محموله‌ها در طول میکروتوبول‌ها به‌وسیله پروتئین‌های حرکتی حمل می‌شوند. علاوه‌براین، کاینزین^۲ به‌عنوان پروتئین حرکتی اصلی حامل محموله‌ها در-جهت روبه‌جلو^۳ شناخته می‌شود؛ درحالی‌که کمپلکس داینئین^۴، حامل اصلی در انتقال روبه‌عقب^۵ در طول میکروتوبول می‌باشد. هرچند، کاینزین و داینئین چندین دسته از محموله‌ها را حمل می‌کنند، اما سازماندهی و ویژگی گیرنده‌های آنها برای اتصال محموله به‌خوبی مشخص نیست. مطالعات نشان داده‌اند که یک گیرنده پروتئینی به نام "راننده یکشنبه" (SYD) با پروتئین کاینزین (۴) و نیز کمپلکس داینکتین^۶ (۵) در ارتباط است و در تنظیم عملکرد آنها نقش دارد. SYD مشابه JIP3^۸ (یا JSAP1^۹) پستانداران بوده که با JNK^{۱۰} تعامل دارد و به‌عنوان پروتئین‌کیناز فعال شده به‌وسیله فشار شناخته می‌شود (۶). مسیر سیگنالینگ JNK در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک درگیر است که به سلول اجازه می‌دهد پاسخ مناسبی را درمقابل فشار خارج سلولی اعمال کند (۷). علاوه‌براین، نقص و اختلال در انتقال آکسونی در بسیاری از بیماری‌های تخریب عصب همانند بیماری آلزایمر به‌خوبی گزارش شده است (۱). یکی از بیماری‌های تخریب عصبی، نوروپاتی است که برخی اوقات با درد همراه می‌باشد. درد نوروپاتی، دردی است که از آسیب یا

1. Cytoskeletal
2. Kinesin
3. Anterograde
4. Dynein complexes
5. Retrograde
6. Sunday driver
7. Dynactin
8. JNK-interacting protein
9. A novel jun N-terminal protein kinase (JNK)-binding protein
10. C-Jun N-terminal kinase

بیماری اعصاب حسی - پیکری^۱ حاصل شده و موجب اختلال در عملکرد سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌شود (۸). از سوی دیگر، علاوه بر اختلال در سیستم عصبی مرکزی، درد نوروپاتی موجب کاهش سطح فعالیت جسمانی و اجتماعی در افراد مبتلا می‌شود (۹). در مدل‌های آسیب اعصاب محیطی که باعث پردردی می‌شوند، کاهش فعالیت جسمانی یکی از پیامدهای کلینیکی شایع آن می‌باشد (۱۰). این کاهش فعالیت موجب عدم آمادگی جسمانی، افزایش فشارخون و کاهش عملکرد عضلانی - اسکلتی می‌شود (۱۱، ۱۲). در این شرایط، فعالیت کاهش یافته و آسیب اعصاب محیطی ممکن است با اختلالات اعصاب حرکتی ناشی از اختلال پروتئین‌های مرتبط با انتقال آکسونی همراه باشد. باین‌حال، کمتر مطالعه‌ای را می‌توان یافت که به بررسی اختلالات پروتئین‌های درگیر در انتقال آکسونی در بیماری درد نوروپاتی پرداخته باشد (۱۳). در این پژوهش سعی بر آن است که به بررسی تأثیر درد نوروپاتیک به شکل لیگاتوربندی نخاع (SNL) و فعالیت کاهش یافته حاصل از آن بر بیان ژن SYD در اعصاب سیاتیک رت‌های نر ویستار پرداخته شود.

روش پژوهش

جهت انجام پژوهش، ۱۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار هشت هفته‌ای (با میانگین وزنی 250 ± 30 گرم) خریداری گردیدند و در شرایط دمایی 22 ± 4 درجه سانتی‌گراد و تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت‌مدرس نگهداری شدند و با غذای مخصوص و آب تغذیه گردیدند. سپس، رت‌ها به دو گروه کنترل سالم (SNL⁺) (پنج نفر) و گروه فعالیت کاهش یافته (SNL) (پنج نفر) تقسیم گشتند و براساس وزن هم‌سان‌سازی شدند. شایان - ذکر است که هر روز به وضعیت بهداشتی حیوانات رسیدگی می‌شد و در سراسر دوره پژوهش، موش‌ها توسط دو نفر جابه‌جا و دست‌کاری می‌شدند. در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات توسط کمیته اخلاق دانشگاه مورد بررسی و تأیید قرار گرفت.

همچنین، جهت لیگاتوربندی، ابتدا رت‌ها با سدیم پنتوباریتول (۶۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به - صورت درون‌صفاقی) بیهوش شدند و سپس، عصب پنجم کمری نخاعی آن‌ها براساس روش کیم و چانگ^۳ (۱۲) به صورت محکم گره زده شد. به‌طور خلاصه، عضلات بین‌مهره‌ای در سطح مهره چهارم کمری و دوم خارجی جدا گشت و زائده عرضی مهره ششم کمری برداشته شد. در ادامه، عصب پنجم کمری سمت چپ نخاع مشخص شد و با ظرافت از اعصاب مجاور جدا گردید. سپس، این عصب به -

-
1. Somatosensory
 2. Spinal Nerve Ligation
 3. Kim & Chung

صورت محکم و با استفاده از نخ مخصوص^۱، دقیقاً در انتهای دیستال، جهت اطمینان از ایجاد اختلال در تمام فیبرها گره زده شد. همچنین، به منظور اجتناب از آسیب به عصب چهارم کمری، دقت بالایی مبذول گردید و تنها حیواناتی مورد آزمایش قرار گرفتند که درد نوروپاتی را در آزمون-های رفتاری از خود نشان دادند (۱۴).

علاوه بر این و به منظور سازگاری جهت آزمایش‌های رفتاری، حیوانات پیش از لیگاتوربندی نخاع به-مدت سه روز در معرض آزمایش‌های رفتاری (دو بار برای هر آزمایش) قرار گرفتند. بدین صورت که حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه رفتار درد، بدون اجرای واقعی آزمایش، به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در محیط اصلی آزمایش قرار گرفتند (۱۵). در ادامه و به منظور ثبت اولیه میزان رفتارهای درد، پس از اجرای اولیه آزمون‌ها، عملیات لیگاتوربندی انجام شد. شایان ذکر است که هر هفته و پس از لیگاتوربندی، با اجرای مجدد آزمون‌های رفتاری درد و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نوروپاتیک، حیواناتی که پاسخ درد نوروپاتیک را در گروه لیگاسیون نشان دادند به عنوان آزمودنی در پژوهش در نظر گرفته شدند. لازم به ذکر است که تا پایان پژوهش، آزمون‌های رفتاری برای تأیید وجود درد نوروپاتیک در آزمودنی‌ها هر هفته اجرا گردید.

همچنین، به منظور اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی، حیوان روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار گرفت. جهت عادت کردن حیوانات به محیط جدید نیز ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش، درون محفظه شفاف و روی صفحه مشبک قرار گرفتند. در ادامه و به منظور سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف فون فری^۲ در محدوده ۶۰ تا ۶۰ گرم (۲،۴،۶،۸،۱۵،۲۶،۶۰) ساخت شرکت استولینگ^۳ آمریکا جهت سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. شایان ذکر است که هر آزمایش با تار دارای کم‌ترین وزن شروع می‌شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده می‌گردید. همچنین، چنانچه دو بار متوالی پاسخ (بلندکردن پا توسط حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزنه به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه^۴ (PWT) ثبت می‌شد و آزمون خاتمه می‌یافت. در مقابل، اگر حیوان به هیچ‌یک از تارها از جمله تار شماره ۶۰ پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد. لازم به ذکر است که هر آزمایش سه بار و به تناوب حداقل سه دقیقه تکرار شد و میانگین آن-ها به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه منظور گردید (۱۶).

-
1. Thread silk
 2. Von ferry
 3. Stolting
 4. Paw withdrawal threshold

علاوه بر این، پردردی حرارتی با استفاده از روش هارگرویز^۱ و همکاران (۱۷) با کمی تغییر مورد سنجش قرار گرفت. بدین شکل که با استفاده از دستگاه تست تابشی گرمای کف پا^۲ (اگو باسیل^۳ ایتالیا) حیوانات در سه اتاقک از جنس پلکسی گلاس (طول ۲۲ سانتی متر × عرض ۲۲ سانتی متر × و ارتفاع ۱۳/۳ سانتی متر) و روی یک صفحه پلکسی گلاس تمیز قرار گرفتند. پس از ۳۰ دقیقه سازگاری حیوان با محیط جدید، از طریق جابه جایی منبع متحرک تابش نور حرارتی، بخش میانی کف پای حیوان از میان سطح پلکسی گلاس در معرض تشعشع ثابت حرارتی قرار گرفت. پس از تابش نور حرارتی توسط دستگاه به کف پای حیوان، تایمر فعال گشت و با کشیدن پا، تابش نور قطع شده و تایمر متوقف گردید و با ثبت زمان تأخیر در PWL، میزان تحمل حیوان نسبت به محرک آسیب رسان حرارتی مورد سنجش قرار گرفت. شایان ذکر است که هر پا به صورت متناوب و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه، برای سه بار آزمایش گردید و با ثبت زمان تأخیر در PWL، میزان تحمل حیوان نسبت ثابت شد. همچنین، جهت جلوگیری از آسیب بافت، نقطه نهایی آزمایش ۲۲ ثانیه در نظر گرفته شد. میانگین سه اندازه گیری اولیه نیز به عنوان تأخیر پایه در نظر گرفته شد (۱۸).

علاوه بر این، ۴۸ ساعت پس از پایان دوره شش هفته، رت ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بی هوش گشتند و سگمنت های نخاعی تشکیل دهنده عصب سیاتیک (L4-L6) (۲۴) که در رت، میان دنده های T10-T12 (۲۵-۲۰ میلی متر) قرار گرفته اند (۲۹)، با برش در پایین ترین بخش ممکن بلافاصله استخراج گردید. تمامی نمونه ها در نیتروژن -۸۰ درجه منجمد شدند و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری گردیدند.

همچنین، سنجش حدود ۵۰ میلی گرم بافت جهت استخراج RNA تام به نسبت یک به ۱۰ در لیزکننده کیا زول^۴ هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی نیز محصول حاصل در دمای چهار درجه سانتی گراد و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ گرم سانتی فوژ شد. سپس، به نسبت یک به ۰/۵ با کلروفورم مخلوط گشت و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. در ادامه، محصول در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ گرم سانتی فوژ گردید و بخش معدنی و آبی آن از هم جدا گشت. سپس، بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت یک به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها گشت و در ادامه، در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ گرم سانتی فوژ شد. سپس، پلت

-
1. Hargreaves
 2. Radiant Heat Plantar Test
 3. Ugo Bassil
 4. QIAzol Lysis Reagent

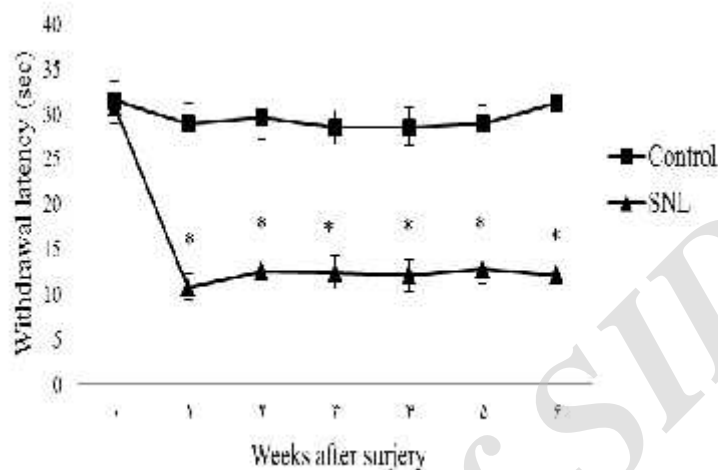
حاوی RNA در اتانول شستشو داده شد و در ۲۰ میکرولیتر آب بدون RNA^۱ حل گردید. همچنین، غلظت RNA موردسنجش قرار گرفت و نسبت جذبی ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا دو به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA نیز با استفاده از یک میکروگرم RNA و با استفاده از آغازگر هگزامر تصادفی^۲ و آنزیم مالو ترانسکریپتاز معکوس^۳ انجام گرفت. علاوه بر این، اندازه گیری سطوح بیان mRNA SYD با استفاده از روش کمی ریل تایم و با استفاده از پری میکس سایبرگرین-۴^۴ انجام شد. شایان ذکر است که مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت تکراری^۵ صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها نیز براساس اطلاعات ژن های SYD و GAPDH در بانک ژنی مرکز ملی اطلاعات زیست فناوری (NCBI^۶) و توسط شرکت ماکروژن کشور کره^۷ انجام شد. علاوه بر این، برنامه دمایی مورد استفاده در ریل تایم: ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ به مدت یک دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن های مورد نظر نیز با روش CT^{-۲} محاسبه شد.

علاوه بر این، جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف استفاده شد. جهت تعیین معناداری تفاوت بیان ژن در دو گروه نیز آزمون تی مستقل به کار رفت. همچنین، تعیین معناداری آزمون های رفتاری در دو گروه در هفته های مختلف توسط تحلیل واریانس یک-طرفه و آزمون تعقیبی توکی^۸ انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده ها نیز با استفاده از اس.پی.اس.اس^۹ نسخه ۱۶ انجام شد و سطح معناداری (0.05 =) در نظر گرفته شد.

نتایج

یافته ها نشان می دهند که در طول شش هفته، گروه لیگاتوربندی در پس کشیدن پا (پردردی حرارتی) به صورت معناداری نسبت به گروه کنترل زودتر واکنش نشان داده است (P=0.001) (شکل شماره یک).

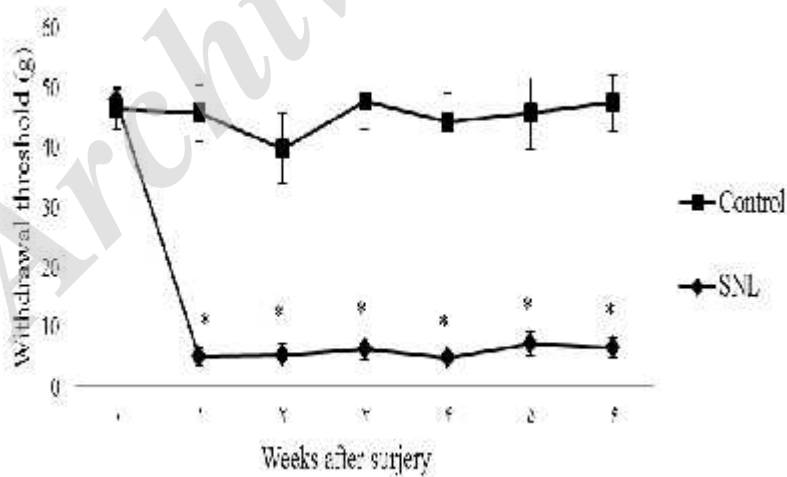
1. RNAS-Free
2. Random Hexamer Primer
3. Mmulv Reverse Transcriptase
4. Primix Syber Green II
5. Duplicate
6. National Center for Biotechnology Information
7. Macrogen Inc Seoul, Korea
8. Tukey
9. Statistical Analysis Software Package (SPSS)



شکل ۱- تغییرات درد نوروپاتیک (هایپرآلژیای حرارتی)

* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل

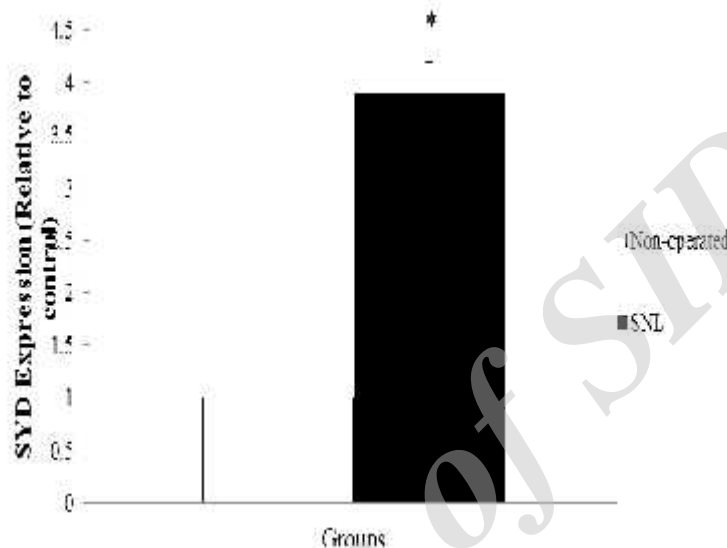
همچنین، در طول شش هفته، گروه لیگاتوربندی در آستانه تحریک درد پا (آلودینیای مکانیکی)، به صورت معناداری نسبت به گروه کنترل زودتر واکنش نشان داده است ($P=0.001$) (شکل شماره دو).



شکل ۲- تغییرات درد نوروپاتیک (آلودینیای مکانیکی)

* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل

آزمون تی مستقل نیز بیانگر این است که بیان ژن SYD در گروه لیگاتوربندی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافته است ($P=0.000$) (شکل شماره سه).



شکل ۳- تغییرات بیان ژن SYD

*اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که شش هفته فعالیت کاهش یافته به شکل لیگاتوربندی موجب افزایش بیان ژن SYD در عصب سیاتیک رت‌های دچار SNL شد. اختلال در انتقال آکسونی به- عنوان عاملی در بیماری‌های تخریب عصبی نظیر بیماری آلزایمر امری مشهود است (۲). یکی از بیماری‌های تخریب عصبی، نوروپاتی دردناک می‌باشد که با اختلالات عملکردی در سیستم عصبی مرکزی و محیطی همراه بوده (۸) و علاوه بر آن، موجب کاهش سطح فعالیت جسمانی و اجتماعی در افراد مبتلا می‌شود (۹)؛ از این رو، این بیماران در خطر فقر حرکتی و عوارض ناشی از آن مانند چاقی می‌باشند که خود آن‌ها نیز می‌توانند سبب وخیم‌تر کردن بیماری و کاهش بیشتر فعالیت بدنی شوند (۱۹). یکی از پروتئین‌های مرتبط با انتقال آکسونی، SYD می‌باشد که با JNK که به‌عنوان پروتئین‌کیناز فعال شده به‌وسیله فشار شناخته می‌شود تعامل داشته (۶) و مسیرهای پیام‌رسانی آن را به شکل قدرتمندی فعال می‌کند (۲۰). به‌طور کلی، SYD هر دو انتقال روبه‌جلو و روبه‌عقب JNK - که به ترتیب از طریق تعامل با کاینزین و داینئین/ داینکتین انجام می‌شود را وساطت می‌کند و در تنظیم ساختار و عملکرد سلول‌های عصبی، تعدیل انتقال آکسونی و زیکول‌های سیناپسی، تنظیم

انتقال آکسونی عوامل نوروتروفیک و گیرنده‌های آن‌ها (۲۳،۲۴)، نورونز، بقا و تفکیک عصبی (۲۵) نقش دارد.

مطالعات نشان داده‌اند که با افزایش فعالیت بدنی دلخواه، نه تنها ویژگی‌های الکتروفیزیولوژی نورون‌های حرکتی دستخوش تغییر می‌شود، بلکه سنتز پروتئین و انتقال آکسونی پروتئین‌ها در آن‌ها افزایش یافته و پویایی انتقال در پیوندگاه عصبی عضلانی نیز بهبود می‌یابد (۲۶). تغییرات در ویژگی‌های الکتروفیزیولوژی شامل: هایپرپولاریزاسیون پتانسیل استراحتی غشا و ولتاژ آستانه، افزایش سرعت توسعه پتانسیل عمل و افزایش دامنه‌های پولاریزاسیون بعد از پتانسیل عمل می‌باشد (۲۷،۲۸). برخلاف فقدان مدارک در مورد سازگاری‌های مورفولوژیکی مهم در نورون حرکتی در پی افزایش فعالیت، چندین شاخص متابولیکی نورون‌های حرکتی در پی افزایش فعالیت تغییر می‌کند. نورون‌های حرکتی موش‌هایی که تحت تمرین ترمیم قرار گرفته بودند شامل هسته‌هایی می‌شد که محیط آن‌ها افزایش یافته و توسط ذرات بازوفیلی احاطه شده بودند که نشان‌دهنده افزایش در سنتز پروتئین است (۲۹،۳۰). به نظر می‌رسد که نورون‌های حرکتی تمرین کرده، دارای توانایی برای انتقال مقادیر بیشتر پروتئین در آکسون‌های خود در هر دو جهت روبه‌عقب و عمودی^۱ هستند (۳۱-۳۴). به احتمال زیاد، این انتقال برای رهایش مواد به محیط و یا انتقال معکوس آن مهم می‌باشد. این موضوع برای سازگاری واحد حرکتی به‌عنوان یک کل مهم است؛ برای مثال، پروتئین مرتبط با سیناپتوزوم^۲ (SNAP25)، پروتئینی مهم برای ارتباط وزیکول سیناپسی به غشای پیش-سیناپسی، به‌طور انتخابی با مقادیر بیشتری در آکسون‌های نورون حرکتی تمرین کرده انتقال پیدا می‌کند (۳۴).

به‌طور کلی، یافته‌ها بر این موضوع دلالت می‌کنند که تغییرات اندکی در نتیجه افزایش و نیز کاهش فعالیت در این زمینه رخ می‌دهد (۲۶). با این حال، سازگاری‌هایی که در اثر افزایش فعالیت حاصل می‌شوند، با سازگاری‌های که در شرایط کاهش فعالیت مزمن به دست می‌آیند در تضاد هستند (۲۶). مطالعه حاضر نشان داد که افزایش بیان SYD با کاهش آستانه آلودینیای مکانیکی و پردردی حرارتی در نتیجه کاهش فعالیت بدنی همراه است. علاوه بر این، مشخص شد که افزایش بیان ژن پروتئین SYD از طریق کاهش میزان فعالیت عصبی رخ می‌دهد. در تأیید این فرضیه گزارش شده است که فعالیت افزایش یافته به شکل تمرینات استقامتی به‌عنوان یک راهبرد گیردارویی توانسته است تغییر بیان ژن پروتئین‌های درگیر انتقال آکسونی در حالت نورپاتی دیابت را تعدیل نماید و میزان آن را به مقادیر طبیعی نزدیک کند (۳۵،۳۶). همچنین، نشان داده شده است که بیان ژن

1. Orthograde and Retrograde
2. Synaptosome Associated Protein 25kDa

پروتئین SYD در پی تمرینات استقامتی در عضلهٔ نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به نوروپاتی دیابت کاهش پیدا کرده است (۳۷). در پژوهش حاضر با کاهش فعالیت بدنی به شکل SNL، بیان ژن SYD افزایش یافت که احتمالاً این افزایش، سازوکاری جبرانی در شرایط نوروپاتی دیابتی بوده است. این در حالی است که افزایش فعالیت بدنی با کاهش بیان این ژن در سیاتیک رت‌های سالم همراه می‌باشد (۳۶). عنوان شده است که همین نوع از تمرین باعث افزایش بیان این ژن در شرایط دیابت می‌گردد (۳۶). این موضوع بیانگر این است که بیان ژن SYD تا حد زیادی تحت تأثیر شرایط اعمال شده بر سلول عصبی است. در مجموع، هرچند نتایج مطالعات بیانگر تغییرات بیان ژن پروتئین‌های متعدد توسط کاهش و افزایش فعالیت بدنی است، اما چگونگی تغییرات بیان پروتئین‌های درگیر در انتقال آکسونی مشخص نبوده و نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد؛ از این رو، با توجه به شواهد موجود پیشنهاد می‌شود فعالیت بدنی و نیز پروتئین SYD به عنوان یک هدف درمانی بدیع در بیماری دیابت مورد توجه واقع شود.

پیام مقاله: میزان فعالیت بدنی در تعدیل انتقال آکسونی از طریق تغییر بیان ژن پروتئین رانندهٔ یکشنبه حائز اهمیت می‌باشد. هرچند، کاهش فعالیت بدنی در شرایط نوروپاتی دیابت در یک سازوکار جبرانی بیان ژن SYD را به شکل قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد، احتمالاً ورزش می‌تواند در تعدیل بیان این پروتئین و سایر پروتئین‌های درگیر در انتقال آکسونی مؤثر باشد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر حاصل طرح پژوهشی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان و مرکز علوم و اعصاب دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان و پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از دانشگاه ولی عصر (عج) و دانشگاه علوم پزشکی کرمان به دلیل حمایت مالی و نیز از آزمایشگاه گروه علوم تشریح دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به دلیل استفاده از امکانات آزمایشگاهی آن ابراز می‌داریم.

منابع

1. Millecamps S, Julien J P. Axonal transport deficits and neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013; 14(3): 161-76.
2. Perlson E, Maday S, Fu M M, Moughamian A J, Holzbaur E L. Retrograde axonal transport: Pathways to cell death? *Trends in Neurosciences*. 2010; 33(7): 335-44.
3. Lasek R J, Garner J A, Brady S T. Axonal transport of the cytoplasmic matrix. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 99(1): 212-21.
4. Bowman A B, Kamal A, Ritchings B W, Philp A V, McGrail M, Gindhart J G, et al. Kinesin-dependent axonal transport is mediated by the sunday driver (SYD) protein. *Cell*. 2000; 103(4): 583-94.
5. Cavalli V, Kujala P, Klumperman J, Goldstein L S. Sunday driver links axonal transport to damage signaling. *The Journal of Cell Biology*. 2005; 168(5): 775-87.
6. Kelkar N, Gupta S, Dickens M, Davis R J. Interaction of a mitogen-activated protein kinase signaling module with the neuronal protein JIP3. *Molecular and Cellular Biology*. 2000; 20(3): 1030-43.
7. Davis R J. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell*. 2000 13;103(2): 239-52.
8. Treede R D, Jensen T S, Campbell J, Cruccu G, Dostrovsky J, Griffin J, et al. Neuropathic pain redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*. 2008; 70(18): 1630-5.
9. Zaza C, Baine N. Cancer pain and psychosocial factors: A critical review of the literature. *Journal of Pain and Symptom Management*. 2002; 24(5): 526-42.
10. Gong W, Johaneck L M, Sluka K A. Spinal cord stimulation reduces mechanical hyperalgesia and restores physical activity levels in animals with noninflammatory muscle pain in a frequency-dependent manner. *Anesthesia and Analgesia*. 2014; 119(1): 186-95.
11. Evans W J. Skeletal muscle loss: Cachexia, sarcopenia, and inactivity. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2010; 91(4): 1123-7.
12. Daemen M, Kurvers H, Bullens P, Slaaf D, Freling G, Kitslaar P, et al. Motor denervation induces altered muscle fibre type densities and atrophy in a rat model of neuropathic pain. *Neuroscience Letters*. 1998; 247(2): 204-8.
13. Jakobsen J, Brimijoin S, Sidenius P. Axonal transport in neuropathy. *Muscle & Nerve*. 1983; 6(2): 164-6.
14. Ho Kim S, Mo Chung J. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*. 1992; 50(3): 355-63.
15. Sharma N K, Ryals J M, Gajewski B J, Wright D E. Aerobic exercise alters analgesia and neurotrophin-3 synthesis in an animal model of chronic widespread pain. *Physical Therapy*. 2010; 90(5): 714-25.
16. Calcutt N A, Jorge M C, Yaksh T L, Chaplan S R. Tactile allodynia and formalin hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats: Effects of insulin, aldose reductase inhibition and lidocaine. *Pain*. 1996; 68(2): 293-9.
17. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*. 1988; 32(1): 77-88.

18. Stagg N J, Mata H P, Ibrahim M M, Henriksen E J, Porreca F, Vanderah T W, et al. Regular exercise reverses sensory hypersensitivity in a rat neuropathic pain model: Role of endogenous opioids. *Anesthesiology*. 2011; 114(4): 940-8.
19. van den Berg-Emons R J, Schasfoort F C, de Vos L A, Bussmann J B, Stam H J. Impact of chronic pain on everyday physical activity. *European Journal of Pain*. 2007; 11(5): 587-93.
20. Koushika S P. "JIP" ing along the axon: The complex roles of JIPs in axonal transport. *Bioessays*. 2008; 30(1): 10-4.
21. Yang D D, Kuan C Y, Whitmarsh A J, Rinón M, Zheng T S, Davis R J, et al. Absence of excitotoxicity-induced apoptosis in the hippocampus of mice lacking the Jnk3 gene. *Nature*. 1997; 389(6653): 865-70.
22. Kenney A M, Kocsis J D. Peripheral axotomy induces long-term c-Jun amino-terminal kinase-1 activation and activator protein-1 binding activity by c-Jun and junD in adult rat dorsal root ganglia in vivo. *The Journal of Neuroscience*. 1998; 18(4): 1318-28.
23. Abe N, Almenar-Queralt A, Lillo C, Shen Z, Lozach J, Briggs S P, et al. Sunday driver interacts with two distinct classes of axonal organelles. *Journal of Biological Chemistry*. 2009; 284(50): 34628-39.
24. Huang S H, Duan S, Sun T, Wang J, Zhao L, Geng Z, et al. JIP3 mediates TrkB axonal anterograde transport and enhances BDNF signaling by directly bridging TrkB with kinesin-1. *The Journal of Neuroscience*. 2011; 31(29): 10602-14.
25. Takino T, Nakada M, Miyamori H, Watanabe Y, Sato T, Gantulga D, et al. JSAP1/JIP3 cooperates with focal adhesion kinase to regulate c-Jun N-terminal kinase and cell migration. *Journal of Biological Chemistry*. 2005; 280(45): 37772-81.
26. Gardiner P, Dai Y, Heckman C J. Effects of exercise training on α -motoneurons. *J Appl Physiol*. 2006; 101(4): 1228-36.
27. Beaumont E, Gardiner P. Effects of daily spontaneous running on the electrophysiological properties of hindlimb motoneurons in rats. *J Physiol*. 2002; 540 (Pt1): 129-38.
28. Beaumont E, Gardiner P F. Endurance training alters the biophysical properties of hindlimb motoneurons in rats. *Muscle Nerve*. 2003; 27(2): 228-36.
29. Edstrom J E. Effects of increased motor activity on the dimensions and the staining properties of the neuron soma. *J Comp Neurol*. 1957; 107(2): 295-304.
30. Gerchman L B, Edgerton V R, Carrow R E. Effects of physical training on the histochemistry and morphology of ventral motor neurons. *Exp Neurol*. 1975;49(3): 790-801.
31. Dahlstrom A, Heiwall P O, Booj S, Dahllof A G. The influence of supraspinal impulse activity on the intra-axonal transport of acetylcholine, choline acetyltransferase and acetylcholinesterase in rat motor neurons. *Acta Physiol Scand*. 1978; 103(3): 308-19.
32. Jasmin B, Lavoie P A, Gardiner P F. Fast axonal transport of acetylcholinesterase in rat sciatic motoneurons is enhanced following prolonged daily running, but not following swimming. *Neurosci Lett*. 1987; 78(2): 156-60.

33. Jasmin B, Lavoie P, Gardiner P. Fast axonal transport of labeled proteins in motoneurons of exercise-trained rats. *Am J Physiol Cell Physiol*. 1988; 255(6 pt 1): 731-6.
34. Kang C M, Lavoie P A, Gardiner P F. Chronic exercise increases SNAP-25 abundance in fast-transported proteins of rat motoneurons. *Neuroreport*. 1995; 6(3): 549-53.
35. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla S J, Khazani A, Mazaheri Z. Effects of endurance training on mRNA levels of the KIF1B motor protein in sensory areas of the spinal cord of rats with diabetic neuropathy. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology*. 2013; 16(2): 25-38.
36. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla S J, Khazani A, Fouladvand M, et al. Treadmill training modifies KIF5B motor protein in the STZ-induced diabetic rat spinal cord and sciatic nerve. *Arch Iran Med*. 2015; 18(2): 94-101. (In Persian).
37. Karami Paskohani A, Rahmati M, Kazemi A R. Modulation of sunday driver gene expression in soleus muscle of rats with diabetic neuropathy following endurance training. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2015; 14(3): 169-78. (In Persian).

شیوه استناد دهی

کاظمی عبدالرضا، رحمتی مسعود، ضیا سیستانی علی. تأثیر شش هفته فعالیت کاهش یافته به شکل درد نوروپاتیک بر بیان ژن پروتئین راننده یکشنبه عصب سیاتیک رت های نر ویستار. *فیزیولوژی ورزشی*. پاییز ۱۳۹۵؛ ۸(۳۱): ۳۴-۱۲۱.

Kazemi. A, Rahmati. M, Ziasistani. A. Effects of 6 Weeks Decreased Activity in the Form of Neuropathic Pain on Sunday Driver Gene Expression in the Rat Sciatic Nerve Fibers. *Sport Physiology*. Fall 2016; 8 (31): 121-34. (Persian)

Effects of 6 Weeks Decreased Activity in the Form of Neuropathic Pain on Sunday Driver Gene Expression in the Rat Sciatic Nerve Fibers

A. Kazemi¹, M. Rahmati², A. Ziasistani³

1. Assistant Professor at Vali-E-Asr University of Rafsanjan and Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences*

2. Assistant Professor at Lorestan University

3. M.Sc. Islamic Azad University, Kerman and Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences

Received Date: 2015/06/16

Accepted Date: 2015/11/11

Abstract

The aim of the present study was investigation of the effects of 6 weeks decreased activity in the form of neuropathic pain on Sunday Driver gene expression in the rat sciatic nerve fibers. Ten adult male Wistar rats in the weight range of 250 ± 30 gr randomly was divided into two groups including healthy control (C), ligation sciatic nerve ligation (SNL). Over the six weeks, neuropathic pain behavior tests were conducted continually in groups. In the end, change of SYD gene expression in sciatic nerve was measured with Real time technique and calculated using the 2^{-CT} method and t-test. One-way ANOVA that shown neuropathic pain behavior tests showed that pain threshold of thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in the SNL group was significantly lower than the control group ($P < 0.05$). In addition, SYD gene expression in sciatic nerve ligation group compared to controls increased significantly ($P < 0.05$). The findings of this study suggest that the development of neuropathic pain and decreased physical activity is associated with increased SYD gene expression. This increase is probably related to the nerve damage and impairment of axonal transport in SNL.

Keywords: Neuropathic Pain, Decreased Physical Activity, Axonal Transport Deficits, Sunday Driver

*Corresponding Author

Email: a.kazemi@vru.ac.ir