فیزیولوژی ورزشی دوره ۱۱، شماره ۴۳، پاییز ۱۳۹۸. صص ۹۰-۷۵

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین‌های استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی هم‌حجم بر عامل نوروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال و عامل هسته‌ای کاپاB در بخش حسی نخاع موش‌های مبتلابه نوروپاتی دیابتی

حسن پارساشکوه[۱]، مرضیه ثاقب‌جو[۲]، صمد ناظمی[۳]، مهدی هدایتی[۴]

۱. دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه بیرجند (نویسنده مسئول)
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه بیرجند
۳. دانشیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار
۴. استاد بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون‌ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۴

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی هم حجم بر سطوح عامل نوروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال (GDNF)، عامل هسته‌ای کاپاB (NF-KB) و درد در بخش حسی نخاع موش‌های صحرایی دیابتی مبتلابه نوروپاتی بود. نمونهٔ پژوهش ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با دامنهٔ وزنی ۲۶۰-۲۳۰ گرم بود. تعداد ۱۰ سر موش در گروه کنترل سالم قرار گرفتند و ۳۰ سر نیز با تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین (۴۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم محلول در بافر سیترات، pH: ۴/۵) دیابتی شدند. پس از ایجاد نوروپاتی دیابتی، موش‌ها به‌طور تصادفی در سه گروه تمرین یک‌نوبتی، تمرین دونوبتی و کنترل دیابتی قرار گرفتند. هر دو پروتکل تمرینی شامل شش هفته تمرین هوازی بود که با شدت ۷۰-۶۰ درصد حداکثر اکسیژن‌مصرفی روی نوار گردان انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، از بخش حسی نخاع نمونه‌برداری شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌راهه، تعقیبی شفه، کروسکال- والیس و من- ویتنی انجام شد ($P < 0.05$). براساس نتایج، میانگین سطح GDNF نواحی حسی نخاع گروه تمرین یک‌نوبتی ($P = 0.146$) و دونوبتی ($P = 0.131$) اختلافی با گروه کنترل نوروپاتی نداشت. همچنین، بین میانگین سطح GDNF گروه تمرین یک‌نوبتی و تمرین دونوبتی تفاوت معنادار مشاهده نشد ($P = 0.990$). میانگین سطح NF-KB در گروه تمرین یک‌نوبتی ($P = 0.022$) و تمرین دونوبتی ($P = 0.039$) پایین‌تر از گروه کنترل نوروپاتی بود؛ ولی بین میانگین سطح NF-KB گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و دونوبتی تفاوت معناداری وجود نداشت ($P = 0.994$). نتایج آزمون‌های رفتاری درد نشان داد که شش هفته تمرین یک‌نوبتی و دونوبتی به کاهش معنادار درد نوروپاتی منجر شد ($P = 0.001$)؛ درحالی‌که بین گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و تمرین دونوبتی تفاوت معنادار نبود ($P = 0.990$). به‌نظر می‌رسد که تمرین‌های استقامتی یک‌نوبتی و دو نوبتی بر سطوح NF-KB و درد تأثیر مثبت دارند و باعث کاهش عوارض نوروپاتی دیابتی می‌شوند؛ درحالی‌که بر سطح GDNF تأثیر ندارند.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی یک‌نوبتی، تمرین استقامتی دونوبتی، نوروپاتی دیابتی، عامل نوروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال، عامل هسته‌ای کاپاB.

1. Email: Dr.parsaa@yahoo.com
2. Email: m_saghebjoo@birjand.ac.ir
3. Email: samadnazemi@gmail.com
4. Email: Hedayati47@gmail.com

مقدمه

نوروپاتی دیابت شامل تعدادی از سندرم‌های مختلف با دامنهٔ وسیع علائم کلینیکی است. مهم‌ترین گروه با اختلالات نورونی در دیابت، نوروپاتی جزئی تشخیص‌داده‌شده با نوار عصبی غیرطبیعی و آزمون حسی کمی، نوروپاتی کلینیک توسعه‌یافته با سندرم حسی- حرکتی قرینه و سندرم خودایمنی و سندرم‌های متمرکز هستند. در نوروپاتی دیابت، اختلال در همهٔ اجزای نورون‌های اعصاب پیکری محیطی و سیستم عصبی خودکار دیده می‌شود (۱).

نوروتروفین‌ها گروهی از پروتئین‌های ترشحی هستند که توسط ساختارهای موجود در سیستم عصبی تولید می‌شوند. یکی از مهم‌ترین نوروتروفین‌ها، عامل نوروتروفیک مشتق از سلول گلیال (GDNF)[1] است که نقش مستقیمی در کاهش عوارض بیماری نوروپاتی دارد. مونومر GDNF در جسم سیاه ساخته می‌شود، به داخل جسم مخطط رها می‌شود و نورون‌های دوپامینرژیک را دربرابر آسیب ناشی از توکسین‌ها محافظت می‌کند. در افراد مبتلابه انواع مختلف بیماری‌های عصبی مانند نوروپاتی دیابتی، سطوح این نوروتروفین پایین است (۳، ۲). در مدل‌های مطالعاتی که از تزریق نوروتروفین‌ها (۴) و استفاده از داروهای محرک تولید درون‌زاد نوروتروفین‌ها استفاده شده است، عوارض جانبی گزارش شده‌اند (۵). عامل هسته‌ای کاپاB (NF-KB)[2] مسئول تنظیم بیان تعداد زیادی ژن است که به کاهش عوارض دیابتی ازجمله درد منجر می‌شود (۲، ۱). فشار اکسایشی و عوامل پیش‌التهابی در سطوح متوسط، ازطریق فعال‌سازی NF-KB موجب افزایش بیان نوروتروفین‌ها (GDNF و BDNF)[3] در مغز می‌شوند. بیماری دیابت سبب فعال‌شدن انواع مسیرهای سیگنالینگ انتقال پیام داخل سلولی حساس به استرس ازقبیل NF-KB می‌شود (۶). سالی[4] در سال (۱۹۹۹) بیان کرد که بین فعال‌شدن گلیاها و افزایش تحریک‌پذیری نورون در ایجاد دردهای مداوم نوروپاتی ارتباط وجود دارد؛ بنابراین، اگر بتوان از فعال‌شدن سلول‌های گلیا در نخاع جلوگیری کرد و یا گلیاهای فعال‌شده را به حالت اولیه برگرداند، می‌توان بسیاری از عوارض ناشی از آسیب‌های عصبی را برطرف کرد یا ایجاد دردهای نوروپاتی را کاهش داد (۷).

مطالعات بسیاری تأثیر نوروتروفیک مثبت تمرین بدنی را بر نورون‌ها و بافت هدف آن‌ها و بهبود علائم نوروپاتی در مدل‌های حیوانی نشان داده‌اند (۸،۹). تنها شش ساعت تمرین استقامتی بر سطوح نوزایش و تکامل نورون‌ها تأثیر مثبت داشته است (۱۰). درهمین‌راستا، نادی و همکاران (۱۱) تأثیر تمرین استقامتی را بر بیماران دیابتی مطالعه کردند. تعداد ۹۰ آزمودنی مبتلابه دیابت نوع دوم، به‌مدت ۱۲ هفته تمرین‌های استقامتی را با شدت ۷۰–۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام دادند. نتایج نشان داد که تمرین استقامتی درد را در نورون‌های حسی به‌طور

1. Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor
2. Nuclear Factor-kB
3. Brain-Derived Neurotrophic Factor
4. Sally

معناداری کاهش داد. زولاژ[1] و همکاران (۱۲) نیز افزایش ۸۰ درصدی GDNF را متعاقب تمرین استقامتی تناوبی گزارش کرده‌اند.

تعیین مکانیسم‌های درگیر فعال در ایجاد اختلال می‌تواند در ارائهٔ درمان بهینه نقش برجسته‌ای داشته باشد. شناسایی عوامل بیماری‌زای دخیل در نوروپاتی دیابت، مکانیسم‌ها و درمان در مدل‌های حیوانی، می‌تواند در مطالعات انسانی کاربرد داشته باشد (۶). مطالعات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی، روشی مؤثر برای افزایش بازسازی آکسونی است و همچنین، درمانی مؤثر برای بهبود عملکرد اعصاب حسی به‌شمار می‌آید (۱۴، ۱۳، ۱۱، ۱۰). تغییرات ایجادشده دراثر تمرین ورزشی در نورون‌ها، درواقع ناشی از تغییرات ایجادشده در متابولیسم انرژی، فعالیت لیزوزومی، بیوسنتز RNA[2]، افزایش انتقال استیل‌کولین و افزایش میزان جوانه‌زنی به‌دنبال برش عصبی است (۱۵)؛ ازاین‌رو، به‌نظر می‌رسد که نورون‌ها به کاهش و افزایش فعالیت، به‌لحاظ بیوشیمیایی سازگار می‌شوند که چنین تغییرات بیوشیمیایی می‌توانند به حفظ بقای نورون‌ها کمک کنند. استفاده از تمرین بدنی به‌عنوان راهکاری برای کاهش درد، شیوهٔ درمانی نسبتاً جدیدی است که درحال‌توسعه است. به‌نظر می‌رسد که نتایج این پژوهش می‌تواند برای افرادی که در شرایط پیش‌دیابت و یا دیابتی قرار دارند، مفید واقع شود و با مهار درد و تأخیر شروع آن، زندگی بهتری را برای آن‌ها به‌ارمغان آورد. تمرین‌های ورزشی کوتاه‌مدت و بسیار شدید، اساساً غیرهوازی هستند و موجب آسیب عضلانی می‌شوند؛ درحالی‌که فعالیت ورزشی استقامتی تناوبی (دونوبتی) و ورزش طولانی‌مدت با شدت متوسط (یک‌نوبتی) سبب تغییر مثبت در تعادل اکسیداتیو سلول‌ها و بافت‌ها، با کاهش سطح آسیب اکسیداتیو و افزایش مقاومت دربرابر فشار اکسیداتیو می‌شود. درحقیقت، تمرین ورزشی منظم باعث سازگاری دربرابر اثرهای مضر فشار اکسیداتیو و درنتیجه، جلوگیری از آسیب سلولی می‌شود؛ درحالی‌که تولید گونه‌های نیتروژن و اکسیژن فعال به نوع فعالیت ورزشی، شدت و دورهٔ فعالیت ورزشی بستگی دارند؛ زیرا، انواع متفاوت تمرین‌های ورزشی (یک‌نوبتی و دونوبتی) نیازهای متفاوتی را ازلحاظ انرژی مصرفی، سطوح اکسیژن مصرفی و فشارهای مکانیکی بر بدن اعمال می‌کنند (۱۶، ۵). ازطرفی، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که هر دو تمرین یک‌نوبتی و دونوبتی نوروتروفین مشتق از مغز (BDNF) و نوروتروفین‌های مشتق از سلول‌های گلیال (GDNF) را در موش‌ها افزایش داده‌اند (۱۷، ۳)؛ درحالی‌که در پژوهش دیگری نتایج متفاوتی گزارش شده است؛ در واقع تمرین دونوبتی تأثیر چندانی بر نوروتروفین‌ها نداشته است (۱۸). ادبیات پژوهش نشان می‌دهد، انجام تمرین‌های یک‌نوبتی برای بیماران مبتلا به نوروپاتی دشوار است و این‌گونه افراد قادر به انجام فعالیت‌های طولانی نیستند؛ بنابراین، تمرین دونوبتی می‌تواند به‌عنوان جایگزین مؤثر تمرین هوازی سنتی به‌کار گرفته شود که تغییرات مشابه یا حتی بیشتری در دامنه‌ای از تغییرات فیزیولوژیک، عملکردی و نشانگرهای مربوط به سلامتی

1. Zoladz
2. Ribonucleic Acid

ایجاد می‌کند و درصورت مثبت‌بودن این فرضیه، تمرین‌های دونوبتی می‌توانند جایگزین تمرین‌های یک‌نوبتی شوند و بیماران مبتلابه نوروپاتی از فواید مفید این تمرین‌ها برخوردار شوند. مطالعات بنیادی نشان داده‌اند که تمرین‌های ورزشی روشی امیدبخش برای افزایش بازسازی آکسونی هستند. همچنین ورزش، درمانی مؤثر برای ارتقای عملکرد اعصاب حسی به‌شمار می‌آید (۱۹). این پژوهش با توجه به نقش نوروتروفین‌ها در گیرنده‌های حسی و مکانیسم درد، تلاش دارد تا نشان دهد، تمرین استقامتی به چه میزان بر متغیرهای NF-KB و GDNF در بیماری نوروپاتی دیابتی تأثیر دارد؟ و آیا بین دو روش تمرینی استقامتی یک‌نوبتی و دو نوبتی تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای وجود دارد؟

روش پژوهش

پژوهش حاضر ازنوع تجربی با طرح پیش‌آزمون- پس‌آزمون با گروه کنترل بود. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ ۱۰ هفته‌ای با دامنهٔ وزنی ۲۳۰-۲۶۰ گرم از مؤسسهٔ سرم‌سازی رازی مشهد تهیه شد. قبل از شروع فرایند پژوهش، مجوز کار با حیوانات از کمیتهٔ اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار (کد IR. MEDSAB.REC.1394.58) دریافت شد. تمامی موش‌های صحرایی در شرایط کنترل‌شدهٔ یکسان محیطی با میانگین دمای ۱ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، شرایط استاندارد روشنایی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی) و با آب و غذای کافی نگهداری شدند. پس از دو هفته آشناسازی حیوانات با شرایط آزمایشگاه و پژوهش (قرارگیری در محیط آزمایشگاه، قرارگیری روی نوار گردان و دست‌آموزشدن)، ۳۰ سر موش صحرایی به روش تصادفی جدا شدند و با تزریق استرپتوزوتوسین (STZ)[1] (۴۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم محلول در بافر سیترات، pH = ۴/۵) دیابتی شدند (۱۶). ۴۸ ساعت پس از القای دیابت، نمونهٔ خونی از ورید دم حیوان گرفته و قندخون با استفاده از گلوکومتر (Accu-Check) اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که قندخون آن‌ها بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود، دیابتی درنظر گرفته شدند (۲۰). ۱۰ روز بعد از تزریق STZ، قندخون دوباره اندازه‌گیری شد تا این اطمینان حاصل شود که موش‌های صحرایی به‌لحاظ قندخون برگشت نکرده باشند.

در مرحلهٔ قبل از دیابتی‌شدن، آزمون‌های رفتاری درد روی نمونه‌ها انجام شد و چهار هفته پس از القای دیابت، با اجرای مجدد آزمون‌های رفتاری درد و پس از اطمینان‌یافتن از وقوع درد نوروپاتی در تمامی موش‌های صحرایی دیابتی‌شده، پروتکل‌های تمرینی یک‌نوبتی و دونوبتی به‌مدت شش هفته انجام شدند. تمام جلسه‌های تمرینی بین ساعت‌های ۱۸-۱۴ برگزار گردید. آزمون‌های رفتاری نیز بین ساعت‌های هشت تا ۱۰ صبح انجام گرفت. پس از وقوع دیابت و ایجاد نوروپاتی (ایجاد درد در اندام‌های انتهایی مانند پاها و دم و تشخیص آن توسط آزمون‌های رفتاری درد)، موش‌ها به روش تصادفی در سه گروه مساوی (تعداد = ۱۰) تمرین یک‌نوبتی، تمرین

1. Sterptozotocin

دونوبتی و کنترل نوروپاتی قرار گرفتند. به مقدار مساوی با گروه‌های قبلی، بافر سیترات بدون STZ برای واردکردن استرس یکسان ناشی از تزریق به همهٔ حیوانات، به ۱۰ سر موش تزریق شد و آن‌ها در گروه کنترل سالم (گروه چهارم) قرار گرفتند. گروه کنترل سالم برای مقایسه با گروه کنترل نوروپاتی، برای مشخص‌شدن وقوع نوروپاتی وارد پژوهش شد.

پروتکل تمرینی استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی با شدت ۷۰-۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۱۹، ۱۰)، به مدت شش هفته (سه روز در هفته) و با رعایت اصل اضافه‌بار اجرا گردید (جدول شمارهٔ یک). شیب نوار گردان در تمام جلسات تمرینی، صفر درجه درنظر گرفته شد. در ابتدای جلسات تمرینی هر دو گروه، برنامه گرم‌کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و به‌مدت هفت دقیقه بود و سپس به‌ازای هر دقیقه، دو متر به سرعت نوارگردان افزوده شد تا به سرعت موردنظر برسند. در انتهای هر جلسهٔ تمرینی و به منظور سرد کردن، سرعت نوار گردان به‌صورت معکوس کاهش یافت تا به سرعت اولیه رسید (۱). جزئیات برنامهٔ تمرین در جدول شمارهٔ یک آمده است.

جدول ۱- پروتکل تمرین استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی هم حجم

تمرین		هفته					
		اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
یک‌نوبتی	سرعت (متر در دقیقه)	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۱
	مدت (دقیقه)	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵
دونوبتی	سرعت (متر در دقیقه)	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۱
	مدت (دقیقه)	۱۰	۱۲/۵	۱۵	۱۷/۵	۱۳/۳	۱۵
تکرار (تعداد)		۲	۲	۲	۲	۳	۳
استراحت بین ست‌ها (دقیقه)		۲/۵	۳/۱	۳/۷	۴/۳	۳/۳	۳/۷

سنجش آزمون‌های رفتاری درد که برای تأیید ایجاد نوروپاتی انجام می‌شود، شامل اندازه‌گیری آلودینیای[1] مکانیکی و حرارتی است. برای اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی از آزمون رفتاری فون‌فری[2] و برای اندازه‌گیری آلودینیای حرارتی از آزمون هات‌پلیت[3] استفاده شد. در آزمون فون‌فری، حیوان درون محفظهٔ پلاستیکی (۴۰ × ۳۰ × ۳۰ سانتی‌متر) و روی یک صفحهٔ مشبک فلزی (۰/۵ × ۰/۵ سانتی‌متر) قرار می‌گیرد. بعد از سپری شدن ۳۰-۲۰ دقیقه و آشنا شدن حیوان با محیط جدید، تارهای فون‌فری با درجه‌های مختلف دو، چهار، شش، هشت، ۱۵، ۲۶ و ۶۰ گرم، به روش بالا-پایین[4] به کف پای حیوان اعمال گردید؛ بدین‌ترتیب‌که ابتدا از تار هشت گرم که در وسط سری تارها قرار دارد، شروع شد. تار به‌اندازه‌ای‌که کمی خم بود، به کف پای حیوان اعمال

1. Allodynia
2. Von Frey Test
3. Hot Plate Test
4. Up-Down Method

شد. پنج ثانیه به حیوان فرصت داده شد تا پای خود را از تار دور کند. اگر پاسخ منفی بود، از تاری با نیروی بیشتر و اگر مثبت بود، از تاری با نیروی کمتر استفاده می‌شد. مقدار حداقل محرکی که می‌توانست پاسخ مثبت را در پای آزمودنی ایجاد کند، به‌عنوان آستانهٔ عقب‌کشیدن پنجه (PWT)[1] در آن سری تحریک درنظر گرفته شد. این عمل سه مرتبه و با فاصلهٔ زمانی پنج دقیقه انجام شد. فاصلهٔ بین تحریک‌ها ۱۰ ثانیه بود. پایین‌ترین شدت محرک، دو پاسخ مثبت از مجموع سه تحریک به‌عنوان آستانهٔ عقب‌کشیدن پای حیوان، آستانهٔ پاسخ درنظر گرفته شد. در گروه‌های دیابتی‌شده، درصورتی‌که تارهای تحریک‌کننده حداقل به‌اندازهٔ فاصلهٔ یک تار ضعیف‌تر شده باشند، نشان‌دهندهٔ وقوع نوروپاتی است (۲۲، ۲۱).

در آزمون هات‌پلیت، حیوان در داخل محفظه‌ای قرار می‌گرفت، در حالی که صفحهٔ پایینی آن در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم می‌شد. آستانه تحمل، شامل مدت زمانی بود که موش صحرایی می‌توانست صفحهٔ داغ را تحمل نماید و با جدا کردن پا از روی صفحه، زمان ثبت می‌شد. آستانهٔ تحمل کمتر در موش‌های دیابتی نسبت به موش‌های سالم، نشانه وقوع نوروپاتی بود (۲۲، ۲۱).

متعاقب ۴۸ ساعت از آخرین جلسهٔ تمرینی (درحالی‌که موش‌ها ۱۲ ساعت از غذا محروم بودند)، ابتدا از ناحیهٔ دم موش‌ها خون‌گیری شد و با استفاده از گلوکومتر، قندخون اندازه‌گیری شد. موش‌ها توسط تزریق درون‌صفاقی کتامین و زایلازین (۵۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و بخش‌های نخاعی تشکیل‌دهندهٔ عصب سیاتیک (L6-L4) (۳۵-۳۰ میلی متر) با برش در پایین‌ترین بخش ممکن، بلافاصله خارج شدند. سپس، بافت نخاع با استفاده از کانال مرکزی به‌عنوان شاخص، به بخش خلفی و قدامی تفکیک شد و بخش خلفی آن که حاوی نورون‌های حسی بود، در تانک نیتروژن مایع به‌صورت ناگهانی منجمد شد و سپس برای انجام سنجش های بیوشیمیایی، در فریزر منفی ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۳).

برای سنجش سطوح GDNF از کیت تحقیقاتی شرکت زل‌بایو کشور آلمان[2] و برای سنجش سطوح NF-KB نیز از کیت شرکت زل‌بایو کشور آلمان[3] استفاده شد.

پس از خروج نمونه‌های بافت از فریزر، در بافر لیز شامل ۱۳۷^{mM} Nacl، ۲۰^{mM}تریس، Igepal CA-630 1% (Sigma Aldrich)، گلیسرول ۱۰ درصد، ۲^{mM}سدیم ارتووانادات، سدیم دودسیل سولفات یک درصد، ۵۰^{mM} سدیم فلوراید، ۲^{mM} EDTA و مهارکنندهٔ پروتئاز cocktail در PH = 4.7 قرار داده شدند. سپس بافت هموژنات در دور۱۰۰۰۰ rpm برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت[4] (محلول‌رویی) برای آنالیز جمع‌آوری شد. در مرحلهٔ بعد، برای اندازه‌گیری سطوح متغیرهای بیوشیمیایی از روش الایزای ساندویچی استفاده شد.

---

1. Paw Withdrawal Threshold
2. (ZellBio, Germany) ضریب تغییرات: 6.2 حساسیت: 0.02- ng/ml به روش الایزا
3. (ZellBio, Germany) ضریب تغییرات: 5.9 حساسیت: 0/02- ng/ml به روش الایزا
4. Supernatant

طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو- ویلک[1] و تجانس واریانس متغیرها در گروه‌ها با آزمون لون[2] بررسی شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی شفه برای مقایسهٔ میانگین‌های سطوح NF-KB و GDNF در بین‌گروه‌ها استفاده شد. با توجه به طبیعی نبودن توزیع داده‌های مربوط به درد، از آزمون‌های آماری ناپارامتری کروسکال–والیس[3] و من- ویتنی[4] برای تحلیل نتایج آن استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری اس.پی.اس.اس[5] نسخهٔ ۱۶ در سطح معناداری $P < 0.05$ انجام شد.

نتایج

مقادیر وزن بدن و گلوکز خون در مراحل پیش و پس از دیابتی‌شدن و در انتهای برنامه تمرین، در جدول شمارهٔ دو ارائه شده است.

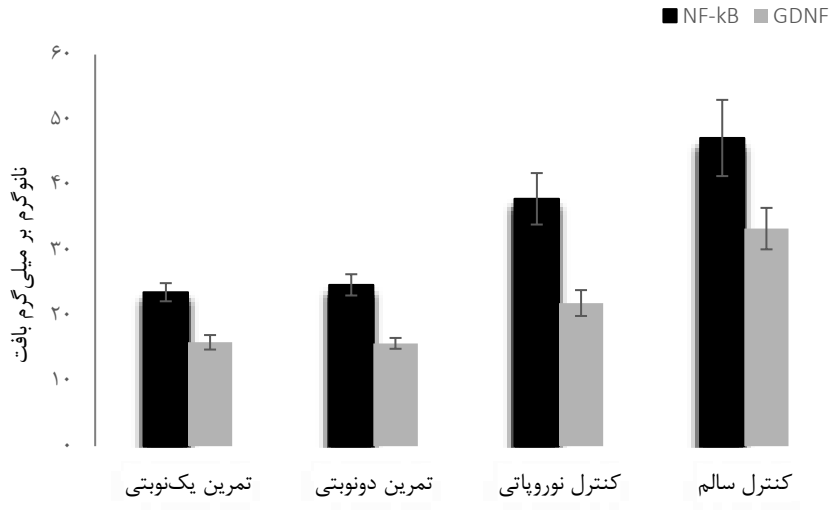
جدول ۲- مقادیر وزن و گلوکز خون موش‌ها در مراحل زمانی مختلف پژوهش (میانگین ± انحراف استاندارد)

متغیر	مرحلهٔ زمانی	تمرین یک‌نوبتی	تمرین دونوبتی	کنترل نوروپاتی	کنترل سالم
وزن (گرم)	پیش از دیابتی‌شدن	۲۳۸/۷ ± ۱۵/۲	۲۴۱/۹ ± ۱۴/۹	۲۴۰/۷ ± ۱۲/۱	۲۴۵/۶ ± ۱۵/۲
	بعد از دیابتی‌شدن	۲۲۰/۹ ± ۱۳/۳	۲۲۱/۹ ± ۱۳/۳	۲۲۱/۷ ± ۱۱/۴	۲۷۱/۶ ± ۱۰/۱
	بعد از تمرین	۱۷۵/۳ ± ۱۲/۴	۱۷۳/۸ ± ۱۲/۸	۱۸۰/۳ ± ۱۰/۶	۳۰۵/۶ ± ۱۱/۱
گلوکز خون (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر)	پیش از دیابتی‌شدن	۸۵/۸ ± ۱۴/۴	۸۳/۴ ± ۱۴/۴	۸۶/۸ ± ۸/۲	۸۵/۱ ± ۱۴/۴
	بعد از دیابتی‌شدن	۳۷۵/۷ ± ۱۹/۵	۳۷۶/۶ ± ۲۱/۷	۳۸۰/۸ ± ۲۰/۲	۸۷/۳ ± ۱۴/۲
	بعد از تمرین	۳۳۸/۲ ± ۱۳/۴	۳۴۰/۷ ± ۱۲/۲	۳۹۶/۵ ± ۲۳/۲	۸۶/۶ ± ۱۳/۴

همچنین، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه نشان داد که بین میانگین سطح GDNF نواحی حسی نخاع موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین یک‌نوبتی، تمرین دونوبتی، کنترل نوروپاتی و کنترل سالم تفاوت معنادار وجود داشت ($F_{(3,25)} = 19.49, P = 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی شفه نشان داد که میانگین سطح GDNF عامل نوروتروفیک مشتق‌شده از سلول‌های گلیال نواحی

1. Shapiro-Wilk Test
2. Levene's Test
3. Kruskal-Wallis Test
4. Mann-Whitney U Test
5. SPSS

حسی نخاع گروه‌های تمرین یک‌نوبتی (P = 0.146) و دونوبتی (P = 0.131) اختلافی با گروه کنترل نوروپاتی نداشت. همچنین، بین میانگین سطح GDNF گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و دونوبتی تفاوت معنادار مشاهده نشد (P = 0.990) (شکل شمارهٔ یک).



شکل ۱- سطوح GDNF و NF-KB در گروه‌های پژوهش (میانگین± انحراف استاندارد)

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه نشان داد که بین میانگین سطح NF-KB نواحی حسی نخاع موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین یک‌نوبتی، تمرین دونوبتی، کنترل نوروپاتی و کنترل سالم تفاوت معنادار وجود داشت ($F_{(3,25)} = 14.60, P = 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی شفه نشان داد که میانگین سطح NF-KB در گروه‌های تمرین یک‌نوبتی (P = 0.022) و تمرین دونوبتی (P = 0.039) پایین‌تر از گروه کنترل نوروپاتی بود؛ ولی بین میانگین سطح NF-KB گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و دونوبتی تفاوت معنادار وجود نداشت (P = 0.994) (شکل شمارهٔ یک).

بر اساس نتایج آزمون‌های درد، میانگین درد در گروه کنترل نوروپاتی به طور معناداری بالاتر از کنترل سالم بود (P = 0.001) که نشان دهنده وقوع نوروپاتی دیابتی است. همچنین میانگین درد نوروپاتی در گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و دونوبتی به طور معناداری کمتر از گروه کنترل نوروپاتی بود (P = 0.001). همچنین، نتایج مقایسه‌های جفتی با تعدیل سطح آلفا نشان داد که بین میانگین درد نوروپاتی مبتنی‌بر آزمون فون‌فری موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و تمرین دونوبتی تفاوت معنادار وجود نداشت (P = 0.990). در مقایسه میانگین آزمون هات‌پلیت در گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و دونوبتی تفاوت معنادار وجود داشت (P = 0.001). در گروه تمرین یک‌نوبتی، زمان افزایش بیشتری یافت که نشانهٔ کاهش درد است (جدول شمارهٔ سه).

جدول ۳- آزمون‌های درد فون‌فری و هات‌پلیت (میانگین ± انحراف استاندارد)

آزمون	گروه	پیش از دیابتی‌شدن	پس از دیابتی‌شدن	بعد از تمرین
فون‌فری (گرم)	تمرین یک‌نوبتی	۶۰ ± ۰/۰۰	۱۵ ±۰/۰۰	۲۶ ± ۰/۰۰
	تمرین دونوبتی	۶۰ ± ۰/۰۰	۱۵ ± ۰/۰۰	۲۶ ± ۰/۰۰
	کنترل نوروپاتی	۶۰ ± ۰/۰۰	۱۵ ± ۰/۰۰	۸ ± ۰/۰۰
	کنترل سالم	۶۰ ± ۰/۰۰	۶۰ ± ۰/۰۰	۶۰ ± ۰/۰۰
		P = 0.990	P = 0.001*	P = 0.001#
هات‌پلیت (ثانیه)	تمرین یک‌نوبتی	۱۲/۱ ± ۰/۹۵	۸/۶۸ ± ۰/۶۲	۹/۵۱ ± ۰/۵۵
	تمرین دونوبتی	۱۲/۴ ± ۱/۵	۷/۹۳ ± ۰/۵۲	۸/۶۱ ± ۰/۵۵
	کنترل نوروپاتی	۱۳/۱ ± ۱/۳۹	۸/۸۲ ± ۰/۷۸	۸/۱۸ ± ۰/۵۴
	کنترل سالم	۱۳/۲ ± ۰/۷۲	۱۳/۳ ± ۰/۹۹	۱۳/۲ ± ۰/۸۴
		P = 0.248	P = 0.001*	P = 0.001#b

*: تفاوت معنادار گروه کنترل سالم با سه گروه دیگر، #: تفاوت معنادار گروه کنترل نوروپاتی با گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و تمرین دونوبتی، b: تفاوت معنادار گروه تمرین یک‌نوبتی با گروه تمرین دونوبتی

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش نشان داد که تمرین‌های استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی بر سطح GDNF تأثیر نداشت؛ ولی بـر سطح NF-KB نواحی حسی نخاع موش‌های صحرایی مبتلا به موروپاتی دیابتی تأثیر مثبت معنادار داشته‌اند؛ درحالی‌که بین میانگین سطوح این متغیرها در گروه‌های تمرین یک‌نوبتی و دو نوبتی تفاوت معنادار مشاهده نشد.

نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش‌های بسیاری هم‌راستا است. نادی و همکاران (۱۱)، پریرا[1] و همکاران (۲۴) و گیورکس[2] و همکاران (۲۵) افزایش سطوح GDNF و NF-KB را متعاقب تمرین استقامتی گزارش کرده‌اند. اسپیلمن[3] و همکاران (۱۰) نیز تأثیر معنادار دو ماه تمرین هوازی را بر GDNF و NF-KB نواحی حسی و احساس درد نشان داده‌اند.

معلوم شده است که چندین مکانیسم نقشی اساسی در کاهش نورون ناشی از دیابت دارند: ۱- اختلالات متابولیک به‌وجودآمده از هایپرگلایسمی مزمن شامل افزایش دخالت مسیر سوربیتول[4] و افزایش پسماندهای ناشی از گلیکوزیله‌شدن؛ ۲- تغییر در عملکرد عروقی که به کاهش حمایت تغذیه‌ای فیبر نورون‌های اعصاب محیطی منجر می‌شود؛ ۳- کاهش میزان دردسترس‌بودن عوامل تغذیه‌ای/ رشد؛ ۴- فرایندهای خودایمنی که به اختلال در عملکرد

1. Pereira
2. Gyorkos
3. Spielman
4. Surbitol

نورون‌ها منجر می‌شوند و ۵- فشار اکسیداتیو که موجب کاهش تعداد و کیفیت عملکرد نورون‌ها می‌شود (۲۶). نتایج پژوهش‌های چندین‌ساله نشان می‌دهد که هایپرگلایسمی یکی از مهم‌ترین عوامل ازدست‌دادن و افت نورون‌ها است. به هرحال، ممکن است هریک از این مکانیسم‌ها بتوانند عملکرد نورون‌ها را در هر بیماری تخریب کنند (۲۶).

در پژوهش حاضر، شدت تمرین معادل ۷۰-۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. پریرا[2] و همکاران (۲۴) پیشنهاد کرده‌اند که با توجه به ادبیات پژوهش، در پژوهش‌هایی با آزمودنی‌های نوروپاتی دیابتی، شدت‌های پایین‌تر از ۶۰ درصد بازدهی چندانی در ایجاد فواید ورزش استقامتی ندارند و ازطرفی، شدت تمرینی بالاتر از ۷۰ درصد اکسیژن مصرفی باعث به‌وجودآمدن تداخل با مکانیسم‌های تولید GDNF و NF-KB ناشی از تمرین استقامتی می‌شود.

در پژوهش حاضر، هر دو نوع تمرین استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی، سطوح NF-KB را کاهش داد؛ ولی در سطوح GDNF تغییری ایجاد نشد. بررسی پیشینهٔ پژوهش نشان می‌دهد، باوجود گزارش‌های فراوان افزایش (۲۸، ۲۷)، مطالعات بسیاری کاهش عوامل نورتروفیک را بعد از تمرین استقامتی نشان داده‌اند (۲۹،۱). این نتایج ناهمسو می‌توانند با شدت تمرین در ارتباط باشند، زیرا BDNF و GDNF نخاع کمری، متعاقب تمرین با شدت کم تا متوسط افزایش یافته است (۳۰). به‌هرحال، در یک مطالعه که با پروتکل تمرینی دویدن با شدت متوسط و شدید انجام شد، GDNF و NF-KB سرکوب گردید؛ بااین‌حال، باوجود افزایش سطوح لاکتات[1] و کورتیکوسترون[2]، پروتئین این نوروتروفین‌ها کاهش نیافته بود (۳۱). افزایش در شدت پروتکل تمرینی نوار گردان با کاهش BDNF و GDNF در موش‌های صحرایی همراه بوده است (۱۸). اثرات مشابهی در شدت بالای تمرین‌های یک‌نوبتی و دونوبتی گزارش شده است (۳۲)؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که شدت‌های بالای تمرین‌ها ممکن است در مقایسه با شدت‌های پایین، پاسخ‌های متفاوتی بر تولید نوروتروفین‌ها داشته باشند که به‌عنوان یک بازخورد تنظیمی منفی همانند موارد مشاهده‌شده در شرایط فعالیت عصبی مداوم و استرس، عمل می‌کنند.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که درد نوروپاتی متعاقب تمرین استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی کاهش یافت. نوروتروفین‌ها نه‌تنها واسطه‌های شناخته‌شده‌ای برای ترمیم و نوزایش اکسون هستند، بلکه درد را نیز تسکین می‌دهند؛ به‌ویژه BDNF، GDNF و ضدگیرنده‌های تیروزین کیناز که نقش مهمی در درمان دردهای نوروپاتیک دارند (۳۳). اخیراً، گزارش شده است که تمرین شنا سطوح BDNF، GDNF و NF-KB را همراه با کاهش درد در عصب سیاتیک کاهش داده است (۶). در بررسی دیگری، دویدن با نوار گردان با شدت متوسط علاوه‌بر افزایش نوروتورفین‌ها، در تنظیم مثبت GDNF نقش داشته است. افزایش BDNF و عامل رشد نورونی[3]

1. Lactate
2. Corticosterone
3. Nerve Growth Factor

(NGF) معمولاً با درد نوروپاتیک و التهاب همراه هستند. سلول‌های میکروگلیا با آزادسازی BDNF که تحریک‌پذیری نورون‌های درد را افزایش می‌دهد، موجب آلودینیای مکانیکی می‌شوند. هایپرآلژزیای[1] مکانیکی که توسط گرفتگی تأخیری عضله[2] (DOMS) بعد از فقدان سازگاری با تمرین سنگین به‌وجود می‌آید نیز با افزایش سطوح NGF و GDNF همراه است (۳۴).

در سال‌های اخیر، توجه زیادی به عواملی شده است که می‌توانند بازسازی عصبی را در نوروپاتی دیابت بالا ببرند و نورون‌ها را از مرگ سلولی حفظ کنند. با توجه به نقش فعالیت بدنی و ورزش در کنترل دیابت، کاهش عوارض ناشی از دیابت و تأثیر مثبت بر تنظیم افزایشی نوروتروفین‌ها بدون دخالت دارویی که عوارضی بسیاری دارد، فعالیت بدنی و ورزش می‌تواند از شدت این عارضه بکاهد و روشی نوین، منحصربه‌فرد و بدون عوارض جانبی برای این‌گونه بیماران داشته باشد. به‌نظر می‌رسد که مونومر GDNF موجب بیان پروتئین‌های ضدآپوپتوزی و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود و نورون‌های دوپامینرژیک[3] را دربرابر آسیب ناشی از توکسین‌ها محافظت می‌کند و NF-KB ازطریق تنظیم بیان تعداد زیادی ژن، به کاهش عوارض دیابت منجر می‌شود (۱۳).

مطالعات نشان داده‌اند که تمرین منظم ورزشی، مقدار پروتئین انتقال‌دهندهٔ گلوکز[4] (GLUT4) را در سلول افزایش می‌دهد. به‌علاوه، ورزش باعث انتقال GLUT4 به غشای سلولی می‌شود و ظرفیت انتقال گلوکز و چربی به درون سلول را افزایش می‌دهد (۳۵). گیرنده‌های تیزوزین کیناز در غشای سلول قرار دارند. انسولین ازطریق اتصال به گیرنده‌هایی که فسفریلاسیون را تحریک می‌کنند و مولکول‌های پیام‌رسان همانند گیرنده‌های انسولین نوع یک و نوع دو را تولید می‌کنند، تیروزین کیناز[5] (trK) را تحریک می‌کند. کاهش انسولین یا افزایش مقاومت به آن، تعداد این گیرنده‌ها را کاهش می‌دهد که به کاهش فعالیت GLUT4 منجر می‌گردد (۳۵، ۱۱)؛ بنابراین، با افزایش فعالیت ورزشی و کنترل مقدار قندخون، مشکلات مربوط به نوروپاتی حسی- حرکتی التیام خواهند یافت. تمرین استقامتی با تحریک نوروتروفین‌ها و عوامل تروفیکی به تولید و استحکام نورون‌ها، مهار آپوپتوزیت‌ها و کاهش التهاب کمک می‌کند (۳۶). به باور وینبرگ[6] و همکاران (۳۷)، ازآنجایی‌که فعالیت بدنی و ورزش عملکرد و میزان عوامل رشد و نوروتروفیک را (به‌دلیل اهمیت آن‌ها در یادگیری و حافظه) تشدید می‌کنند، جای تعجب نیست که حتی انجام یک وهله تمرین ورزشی شاخص‌های سیستم عصبی را بهبود بخشیده باشد. علاوه‌براین، مطالعات همه‌گیرشناسی نشان داده‌اند که سبک زندگی فعال پیشرفت نورورپاتی دیابت را حدود دوبرابر کاهش می‌دهد (۳۸). گیرنده‌های trK C در نورون‌های حرکتی درگیر هستند؛ درحالی‌که trK B

1. Hyperalgesia
2. Delayed Onset Muscle Soreness
3. Dopaminergic
4. Glucose Transporter Type4
5. Tyrosine Kinase
6. Weinberg

گیرنده‌های حسی در موش‌ها هستند. در نمونه‌هایی که این گیرنده را ندارند، احساس درد ازبین می‌رود. در مطالعه‌ای، پژوهشگران نقش trK C را در شرایط آزمایشگاهی مطالعه کردند. آن‌ها ژن‌های مربوط را در سلول‌های جنینی سرکوب کردند. موش‌هایی فاقد trK C اختلالات شدید حسی و نوروپاتی داشتند و بیشتر آن‌ها یک ماه بعد از تولد مردند. نتایج پژوهش مذکور، کاهش گستردهٔ نورون‌های مربوط به احساسات و ریشهٔ خلفی گانگالیا و به‌علاوه، کاهش سلول‌های کولینرژیک[1] قسمت‌های قدامی مغز و قشر مغز را نشان داد (۳۹).

نقش حمایت از ایمنی GDNF در کاهش پاسخ‌های ایمنی مضر در موش‌ها تأیید شده است (۳۴). GDNF احیای نورون‌های دوپامنیرژیک را تسریع می‌کند و از تخریب نورون‌های عضلات اسکلتی جلوگیری می‌کند (۴۰). مشاهده شده است که تحریک مهارکنندهٔ NF-KB همانند تحریک مهارکنندهٔ GDNF بر سایتوکاین‌های پیش‌التهابی تولیدشده توسط اینترلوکین‌ها تأثیر دارد. GDNF و NF-KB، فعال‌سازی P65 توسط IL-17 را مهار می‌کنند. این نتایج از نظریه سرکوب پاسخ‌های التهابی تحریک‌شده با IL-17 توسط GDNF که از مسیر سیگنالینگ NF-KB انجام می‌شود، حمایت می‌کنند (۴۱). ذکر این نکته ضروری است که نمونه‌های حیوانی مبتلابه دیابت، اختلالات حسی، آلودینیای (درد) مکانیکی و حرارتی را نشان می‌دهند؛ اما در نمونه‌های انسانی این علائم وجود ندارند. این تفاوت‌ها ممکن است مبین نتایج غیرهمسان روش‌های درمانی باشند که باوجود موفقیت در مدل‌های حیوانی، هنوز در مطالعات انسانی موفقیت‌آمیز نبوده‌اند (۳۹).

نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر نشان داد که شش هفته تمرین استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی هم‌حجم، تنها مقادیر NF-KB بخش حسی نخاع را به‌طور معناداری کاهش دادند؛ ولی بر سطوح GDNF تأثیری نداشتند. همچنین، تفاوتی بین تمرین‌های یک‌نوبتی و دونوبتی هم‌حجم در کاهش درد و مقادیر NF-KB مشاهده نشد؛ درحالی‌که کاهش چشمگیری در درد نوروپاتی دیابت دراثر تمرین در موش‌ها مشاهده شد. چنین به‌نظر می‌رسد که تمرین‌های استقامتی یک‌نوبتی و تمرین‌های استقامتی دونوبتی هم‌حجم در کاهش عوارض بیماری نوروپاتی تأثیراتی مشابه دارند و می‌توان این‌گونه تفسیر کرد که در کاهش عوارض بیماری نوروپاتی دیابت، شدت و مدت تمرین استقامتی مهم‌تر از نوع تمرین هستند. پیشنهاد می‌شود که مطالعاتی در زمینهٔ مراکز عصبی دخیل در انتقال درد در ساقهٔ مغزی و تالاموس انجام شوند. همچنین، مطالعات مشابه دیگری در سطح سیستم عصبی روی نوروتروفین‌های دیگر و پروتئین‌های ضدآپوپتوزی با استفاده از آزمودنی‌های انسانی و حیوانی انجام شوند تا درصورت کسب نتایج مثبت در کاهش عوارض ناشی از نوروپاتی دیابت، علاوه‌بر درنظرداشتن تفاوت‌های مربوط به مطالعات حیوانی با مدل‌های انسانی و رعایت شدت مناسب تمرین، در افراد دیابتی و کسانی که مستعد دیابت هستند، استفاده شود.

پیام مقاله: با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر، شش هفته تمرین استقامتی سطوح نوروتروفین‌ها را در سطوح نخاعی موش‌ها کاهش دادند و از شدت درد کاستند. به‌نظر می‌رسد که تمرین‌های

1. Cholinergic

استقامتی یک‌نوبتی و تمرین‌های استقامتی دونوبتی هم‌حجم، به یک اندازه در کاهش عوارض بیماری نوروپاتی تأثیر داشته باشند.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات آقای دکتر محمدزاده و همکاری صمیمانه دانشگاه علوم پزشکی سبزوار در اجرای این پژوهش صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. Siamilis S, Jakus J, Nyakas C, Costa A, Mihalik B, Falus A, et al. The effect of exercise and oxidant–antioxidant intervention on the levels of neurotrophins and free radicals in spinal cord of rats. Spinal Cord. 2009;47(6):453-57.
2. Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. Nat. Rev. Neurol. 2009;5(6):311-22.
3. Borzykh A, Kuzmin I, Mart'ianov A, Borovik A, Sharova A, Tarasova O, et al. Changes of rat respiratory and locomotory muscles during aerobic exercise training in continuous and interval regimens. Biophysics. 2012;57(5):684-9.
4. Xue B, Jiao J, Zhang L, Li K R, Gong Y T, Xie J X, et al. Triptolide upregulates NGF synthesis in rat astrocyte cultures. Neurochem Res. 2007;32(7):1113-9.
5. Russo-Neustadt A A, Alejandre H, Garcia C, Ivy A S, Chen M J. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression following treatment with reboxetine, citalopram, and physical exercise. Neuropsychopharmacology. 2004;29(12):2189-99.
6. Cayo A, Aline D, Ricardo K, Flaviane C, Maria Ida R, Andr, Queirozb T A, et al. Exercise therapy normalizes BDNF upregulation and glial hyperactivity in a mouse model of neuropathic pain. Pain. 2015;156:504-13.
7. Sally E. Stringer, Margot Mayer-Proschel, Anjali Kalyanii, Mahendra Raoi, and John T. Gallagher. Heparin Is a Unique Marker of Progenitors in the Glial Cell Lineage. J. Biol. Chem. 1999, 274:25455-60.
8. Deschenes MR, Tenny K A, Wilson M H. Increased and decreased activity elicits specific morphological adaptations of the neuromuscular junction. Neuroscience. 2006;137(4):1277-83.
9. Chae CH, Lee H, Jung S, Kim T, Kim J, Kim N. Swimming exercise increases the level of nerve growth factor and stimulates neurogenesis in adult rat hippocampus. Neuroscience. 2012;212:30-7.
10. Spielman LJ, Little JP, Klegeris A. Physical activity and exercise attenuate neuroinflammation in neurological diseases. Brain Res Bull. 2016;125:19-29.
11. Nadi M, Mohammad S, Esfarjani F ,Saleki M. The comparison between effects of 12 weeks combined training and vitamin d supplement on improvement of sensory-motor neuropathy in type 2 diabetic women. Biomed Res. 2017;6:55-62.
12. Zoladz J, Majerczak J, Zeligowska E, Mencel J, Jaskolski A, Jaskolska A, et al. Moderate-intensity interval training increases serum brain-derived neurotrophic factor level and decreases inflammation in Parkinson's disease patients. J Physiol Pharmacol. 2014;65(3):441-8.
13. Cooper M A, Kluding P M, Wright D E. Emerging relationships between exercise, sensory nerves, and neuropathic pain. Front. Neurosci. 2016;10-9.

14. Lee-Kubli C A, Mixcoatl-Zecuatl T, Jolivalt C G, Calcutt N A. Animal models of diabetes-induced neuropathic pain. Behav Neurosci: Springer; 2014. p. 147-70.
15. Kowalski J, Okopien B, Madej A, Makowiecka K, Zielinski M, Kalina Z, et al. Levels of sICAM-1, sVCAM-1 and MCP-1 in patients with hyperlipoproteinemia IIa and-IIb. Int J Clin Pharmacol Ther. 2001;39(2):48-52.
16. Rajasekar R, Rajasekaran N, Duraisamy G and Kanakasabapathi D. Effect of Alpinia calcarata on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. 2014;33(1):1-13.
17. Shabkhiz F, Ravasi AA, Hassan ZM, Taghikhani M, Razav T. The effect of aerobic continuous and interval training and detraining on some indexes of the cellular immune system in female wistar rats. J. Sports Sci. 2008;1:17-26.
18. López-Álvarez VM, Mòdol L, Navarro X, Cobianchi S. Early increasing-intensity treadmill exercise reduces neuropathic pain by preventing nociceptor collateral sprouting and disruption of chloride cotransporters homeostasis after peripheral nerve injury. Pain. 2015;156:1812-25.
19. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, et al. Diabetic neuropathies a statement by the American Diabetes Association. Diabetes care. 2005;28(4):956-62.
20. Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. J Appl Physiol. 2005;98(3):804-9.
21. Bigdeli Y, Heidarianpour A. Effect of regular exercise and vitamin C on pain threshold in diabetic rats. Arak Medical University Journal. 2012;14(4):10-7.
22. Prodanov D, Feirabend HK. Morphometric analysis of the fiber populations of the rat sciatic nerve, its spinal roots, and its major branches. J Comp Neurol. 2007;503(1):85-100.
23. Saavedra A, Baltazar G, Duarte EP. Driving GDNF expression: The green and the red traffic lights. Prog Neurobiol. 2008;86(3):186-215.
24. Pereira B, Lucas G, da Rocha A, Pauli J, Ropelle E, Cintra D. Eccentric exercise leads to glial activation but not apoptosis in mice spinal cords. Int J Sports Med. 2015;36:378-85.
25. Gyorkos A, McCullough M, Spitsbergen J. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression and NMJ plasticity in skeletal muscle following endurance exercise. Neurosci Biobehav Rev. 2014;257:111-8.
26. Pierson CR, Zhang W, Murakawa Y, Sima AA. Insulin deficiency rather than hyperglycemia accounts for impaired neurotrophic responses and nerve fiber regeneration in type 1 diabetic neuropathy. J Neuropathol Exp Neurol. 2003;62(3):260-71.
27. Ying Z, Roy RR, Edgerton R, Gomez-Pinilla F. Voluntary exercise increases neurotrophin-3 and its receptor TrkC in the spinal cord. Brain Res Bull. 2003;987: 93-9.
28. Ferraiuolo L, De Bono JP, Heath PR, Holden H, Kasher P, Channon KM, et al. Transcriptional response of the neuromuscular system to exercise training and potential implications for ALS. J Neurochem. 2009;109:1714-24.
29. Engesser-Cesar C, Anderson AJ, Cotman CJ. Wheel running and fluoxetine antidepressant treatment have differential effects in the hippocampus and the spinal cord. Neurosci Biobehav Rev. 2007;144:1033-44.

30. Molteni R, Zheng JQ, Ying Z, Gomez-Pinilla F, Twiss JL. Voluntary exercise increases axonal regeneration from sensory neurons. Proc Natl Acad Sci. 2004;101:8473-8.
31. Soya H, Nakamura T, Deocaris CC, Kimpara AI, Fujikawa T, Chang HM. BDNF 20 current neuropharmacology, induction with mild exercise in the rat hippocampus. Biochem Biophys Res Commun. 2007;358(4):961-7.
32. Aguiar AS, Tuon T, Pinho CA, Silva LA, Andreazza AC, Kapczinski F, et al Intense exercise induces mitochondrial dysfunction in mice brain. Nerochem Res. 2008;33(1):51-8.
33. Pezet S, McMahon SB. Neurotrophins: Mediators and modulators of pain. Annu Rev Neurosci. 2006;29:507-38.
34. Murase S, Terazawa E, Hirate K, Yamanaka H, Kanda H, Noguchi K, et al. Upregulated glial cell line-derived neurotrophic factor through cyclooxygenase-2 activation in the muscle is required for mechanical hyperalgesia after exercise in rats. J Physiol Lond. 2013;591(12):3035-48.
35. Mostarda C, Rogow A, Silva I, De La Fuente R, Jorge L, Rodrigues B. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. Auton Neurosci. 2009;145(1):11-6.
36. Monteiro-Junior R, Cevada T, Oliveira B, Lattari E, Portugal E, Carvalho P, et al. We need to move more: Neurobiological hypotheses of physical exercise as a treatment for Parkinson's disease. Med Hypotheses. 2015;85(5):537-41.
37. Weinberg L, Hasni A, Shinohara M, Duarte A. A single bout of resistance exercise can enhance episodic memory performance. Acta Psychol. 2014;13: 153-9.
38. Zou Y, Tan J, Li N, Yang J, Yu B, Yu J, et al. Do physical exercise and reading reduce the risk of Parkinson's disease? A cross-sectional study on factors associated with Parkinson's disease in elderly Chinese veterans. Neuropsychiatr Dis Treat. 215;11:695-700.
39. Pittenger G, Vinik A. Nerve growth factor and diabetic neuropathy. Exp. Diabetes Res. 2003;4(4):271-85.
40. Sakamoto T, Watabe K, Ohashi T. Adenoviral vector-mediated GDNF gene transfer prevents death of adult facial motoneurons. NeuroReport. 2000;11: 1857-60.
41. Bian F, Qi H, Ma P, Zhang L, Yoon KC, Pflugfelder SC, et al. An immunoprotective privilege of corneal epithelial stem cells against Th17 inflammatory stress by producing glial cell-derived neurotrophic factor. Stem Cells . 2010;28(12):2172-81.

ارجاع‌دهی

پارساشکوه حسن، ثاقب‌جو مرضیه، ناظمی صمد، هدایتی مهدی. تأثیر تمرین‌های استقامتی یک‌نوبتی و دونوبتی هم‌حجم بر عامل نوروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال و عامل هسته‌ای کاپاB در بخش حسی نخاع موش‌های مبتلابه نوروپاتی دیابتی. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۳): ۹۰ـ۷۵. شناسهٔ دیجیتال: 10.22089/spj.2018.4708.1632

Parsa Shokooh H, Saghebjoo M, Nazemi S, Hedayati M. The Effect of One-Time and Two-Times Endurance Training with the Same Volume on Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor and Nuclear Factor-KB in Sensory Roots of Spinal Cord in Diabetic Neuropathic Rats. Sport Physiology. Fall 2019; 11(43): 75-90. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2018.4708.1632

The Effect of One-Time and Two-Times Endurance Training with the Same Volume on Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor and Nuclear Factor-KB in Sensory Roots of Spinal Cord in Diabetic Neuropathic Rats

H. Parsa Shokooh[1], M. Saghebjoo[2], S. Nazemi[3], M. Hedayati[4]

1. Ph.D. in Exercise Physiology, University of Birjand (Corresponding Author)
2. Associate Professor of Exercise Physiology, University of Birjand
3. Associate Professor of Physiology, Sabzevar University of Medical Sciences
4. Professor of Biochemistry, Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

Received: 2017/08/29 **Accepted: 2018/02/13**

Abstract

The Physical activity and exercise training are among the factors that reduce the complications of diabetes including diabetic neuropathy pain. The purpose of this study was to investigate the effect of six weeks endurance training with the same volume on the glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF), nuclear factor-$_K$B (NF-$_K$B), and pain in sensoty roots of spinal cord in rats with diabetic neuropathy. The study sample was 40 Wistar rats (10-week-old and weighing 230-260 g). Ten rats were assigned in healthy control group and 30 other rats were diabetic by interperitoneally injection of Sterptozotocin (45 mg/kg, dissolved in citrate buffer, pH=4.5). After creating diabetic neuropathy, rats were randomly assigned to three groups: diabetic one-time training, diabetic two-times training, and diabetic control. Both training protocols were a six weeks aerobic training with 60- 70% VO2max on the treadmill. 48 h after the last training session, the sensory part of spinal cord sampled. Data were analyzed with one-way analysis of variance, Scheffe, Kruskal- Wallis, and Mann- Witney U tests ($P<0.05$). Results showed; GDNF levels did not have a significant difference between one-time ($P = 0.146$) and two-times ($P = 0.131$) training with the neuropathic control group. Also, there was no significant difference in the mean GDNF level between one-time and two-times training groups ($P = 0.990$). The mean NF-$_K$B level in the one-time training ($P = 0.022$) and two-times training ($P = 0.039$) groups was significantly lower than the neuropathy control group, but there was no significant difference between the mean NF-$_K$B level in one-time training and two-times training groups ($P = 0.994$). The results of pain behavioral tests showed that six weeks of one-time and two-times training significantly reduced neuropathic pain ($P = 0.001$), while there was no significant difference between the one-time and two-times training groups ($P = 0.990$). It seems, both one-time and two-times endurance training have a positive effect on NF-$_K$B levels and pain, and reduce the complications of diabetic neuropathy, while not affecting GDNF levels.

Keywords: One-time Endurance Training, Two-times Endurance Training, Diabetic Neuropathy, Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor, Nuclear Factor- KB.

1. Email: Dr.parsaa@yahoo.com
2. Email: m_saghebjoo@birjand.ac.ir
3. Email: samadnazemi@gmail.com
4. Email: Hedayati47@gmail.com