Archive of SID

(مقاله پژوهشی)

تاثیر شش هفته تمرین هوازی برکاهش درد نوروپاتی محیطی و پیش گیری از بیان گیرنده *NOTCH1* و مسیر سیگنالی JAK/STAT درشاخه خلفی نخاع موشهای نر صحرایی دیابتی

سیروس حسینی عسکرآبادی[۱]، رحیم میرنصوری[۲*]، مسعود رحمتی[۳]

۱-دانشجوی دکترا فیزیولوژی ورزشی.
۲- استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی.
۳-دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی.

۱و۲و۳-گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

*نویسندهٔ مسؤول:
رحیم میرنصوری؛ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۶۶۸۷۳۸
Email: nirnasuri.r@lu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: درد نوروپاتی محیطی یکی از علل عمده و تا حد زیادی درمان نشده است که فعالیت بدنی یکی از عمده ترین راهکارها برای درمان آن در نظر گرفته شده است . هدف این مطالعه تاثیر یک دوره تمرین هوازی برکاهش درد نوروپاتی محیطی و جلوگیری از بیان Notch-1 receptor و مسیر سیگنالی JAK/STAT pathway و سیتوکینهای التهابی درشاخه خلفی نخاع موشهای نر صحرایی دیابتی بود.

روش بررسی: ۴۰ سر موش نر ویستار ۸ هفته‌ای (محدوده وزنی۱۰/۲±۲۲۰ گرم)به روش تصادفی به ۴ گروه شامل گروه نوروپاتی دیابتی تمرین (۱۰سر)، گروه نوروپاتی دیابتی کنترل (۱۰سر)، گروه سالم تمرین (۱۰سر)، گروه سالم کنترل (۱۰سر) تقسیم شدند. گروه‌های دیابتی دو هفته پس از القاء دیابت و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نوروپاتی با اجرای آزمون رفتاری درد، پروتکل تمرین هوازی را به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه انجام دادند.برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS v 19 و از تحلیل واریانس یک طرفه با سطح معنی‌داری ($P<0.05$) استفاده شد

یافته ها: پس از ۶ هفته تمرین هوازی، بیان IL6,TNF-a, NOTCH1 و STAT3 در گروه نوروپاتی دیابتی تمرین به طور معنی داری نسبت به گروه نوروپاتی دیابتی کنترل کمتر بود. میانگین وزن گروه دیابتی تمرین نسبت به گروه دیابتی کنترل بیشتر بود و همچنین تمرین کاهش معنی داری در سطوح گلوکز خون گروه تمرین به همراه داشت.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که فعالیت هوازی بر روی موشهای دیابتی بتواند بر کاهش حس درد و بیان ژنهایIL6,TNF-a, NOTCH1 و STAT3 تاثیر گذار باشد و این تمرینات روش مناسبی برای پیشگیری، کنترل ودرمان درد ناشی از دیابت باشند.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، درد نوروپاتی محیطی، STAT3 ، *NOTCH1*، دیابت.

دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۲/۴ **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۸/۲/۲۲** **اعلام قبولی: ۱۳۹۸/۳/۱**

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شیوع جهانی دیابت در حال افزایش است و این بیماری به عنوان یک بیماری اپیدمیک شناخته شده است. عوارض این بیماری می تواند بر کیفیت و طول زندگی افراد مبتلا به آن تاثیر گذاشته و مشکلات زیادی را برای آنها ایجاد کرده است (۱). نوروپاتی محیطی یکی از عوارض شایع دیابت است که می تواند باعث برخی مشکلات عملکردی، حسی و همچنین باعث پایین آمدن آستانه درد در این بیماران شود (۲). درد نوروپاتی محیطی یکی از سخت ترین انواع دردها به درمان است. با وجود از استفاده ضد دردهای متعدد اما این نوع درمان داروی فقط اثر بخشی جزعی وعوارض جانبی را بهمراه دارد و باعث تحمیل هزینه‌های درمانی زیادی بر جوامع شده است(۳). بر اساس یافته ها، تقریبا بیش از نیمی از بیماران دیابتی که درد نوروپاتیک را تجربه کردند در دوره درمان، تسکین درد را تجربه نمی‌کنند(۴). مطالعات نشان داده‌اند که عوارض دیابت قندی با هیپرگلیسمی متوسط تا شدید که با بیان برخی پروتئین‌هایی JAG-1 و DLL1 که در فرایند های التهابی ناشی از دیابت دخالت دارند و در بافتهای عصبی نشان دهنده یک شرایط التهاب عصبی می‌باشد همراه است(۵) گیرنده‌های متعددی به عنوان ماشهٔ شروع مسیرهای پیام رسانی منتهی به التهاب دخیل‌اند، که هر کدام از آنها نیز پروفایل ژنی خاص خود را دارا می‌باشند. یکی از گیرنده‌های پیام رسانی منتهی به التهاب *Notch1* است، که در تکامل و توسعه سیستم عصبی و همچنین در الاستیک سیناپسی در (CNS) بزرگسالان نقش مهمی دارد(۶). بیان و فعالیت NOTCH1 پس از آسیب عصبی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد که منجر به انتشار دامنه درون سلولی NOTCH1 و تحریک تولید IL-6 در این سلولها می‌شود(۷, ۸) فعال شدن پاسخ‌های ایمنی سیستم عصبی می‌تواند فعالیت سیناپسی را به صورت پایدار تغییر داده و موجب بیان مسیر JAK/STAT شود. مسیر JAK/STAT در حال حاضر به عنوان یک مسیر سیگنالی تکاملی است که سایتوکاین های گوناگون،اینترفرون‌ها و فاکتورهای رشد کنترل بیان ژنهای آن را در دست می‌گیرند (۹) شواهدی وجود دارد که نشان میدهند STAT3 به طور مستقیم در التهاب نقش دارد و IL-6 یکی از واسطه گرهای اصلی التهاب است که اثر خود را از طریق مسیر STAT3 القا می‌کند و باعث ایجاد فسفریلاسیون آن می‌شود. فسفریلاسیون STAT3 موجب بیان ژنهایی که تکثیر سلولی، تمایز و اپوپتوز را تنظیم می‌کنند می‌شود (۱۰) در سطح سلولی ملوکولی مسیر سیگنالی JAK/STAT یک مسیر حیاتی برای سایتوکینهای نوروپاتی مثل IL-6 است (۱۱). مطالعات اخیر نیز نشان می دهد که گیرنده Notch1 و مسیر سیگنالی JAK/STAT برای توسعه درد نوروپاتیک و التهاب بسیار مهم هستند. کلینک ایکسی و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی الودینای مکانیکی در موش‌های دارای نوروپاتی درد به واسطه فعال کردن گیرنده Notch1 پرداختند و به این نتیجه رسیدند که بیان گیرنده Notch1 با القاء وادامه الودینا همراه است(۱۲). با این حال، عملکرد گیرنده *NOTCH1* و مسیر سیگنالی *JAK/STAT* در نوروپاتی ناشی از دیابت هنوز به طور گسترده ای مورد بررسی قرار نگرفته است و تحقیقاتی که در این زمینه انجام شده بیشتر از عوامل داروی برای کنترل این مسیر و کاهش آسیبهای نرونی و عوارض ناشی از آن استفاده کرده‌اند. با توجه به اهمیت گیرنده Notch1 و مسیر سیگنالی JAK/STAT هدف تحقیق حاضر به بررسی تاثر شش هفته تمرین هوازی بر عوامل مرتبط با گیرنده Notch1 و مسیر سیگنالی JAK/STAT ، در بخش حسی نخاع رت های با نروپاتی درد دیابتی پرداخته می‌شود.

روش بررسی

در پژوهش حاضر راهبرد تحقیق از نوع تجربی بوده که تعداد ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار در سن ۸ هفتگی (محدوده

www.SID.ir

Archive of SID

وزنی۱۰/۲±۲۲۰ گرم)از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در گروه های ۴ تایی در قفس های استاندارد پلی کربنات در شرایط دمایی ۲±۲۲ درجه سانتی گراد تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی روشنایی نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، آشنا سازی با نورگردان و دستکاری ، موشها به صورت تصادفی به ۴ گروه با تعداد مساوی تقسیم شدند. گروها شامل :گروه نوروپاتی دیابتی تمرین (۱۰سر)، گروه نوروپاتی دیابتی کنترل (۱۰سر)، گروه کنترل سالم تمرین (۱۰سر)، گروه سالم کنترل (۱۰سر). در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات توسط کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران اهواز مورد بررسی و تایید قرار گرفته است. با کد اخلاق: IR.SSRC.REC.1397.017

القاء دیابت:

درپایان پروتکل آشناسازی موشها و پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، القاء دیابت با تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با تزریق محلول استروپتوزوتوسینSTZ حل شده در بافر سیترات M ۰/۰۵ با pH:۴/۵ که هدف القای دیابت نوع یک بود انجام گرفت (۱۳). موش‌های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات ۰/۰۵M با pH:۴/۵ به صورت درون صفاقی دریافت کردند. پس از۴۸ ساعت تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری دستگاه گلوکومتر(*Glucotrend 2*، شرکت روشه آلمان) اندازه‌گیری و موش‌های صحرائی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰mg/dl باشد، به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته می‌شوند. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون در پایان برنامه تمرینی نیز قند خون موش‌ها اندازه گیری شد(۱۴). دو هفته پس از القاء دیابت، با اجرای آزمون های رفتاری درد و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نوروپاتی در گروه های دیابتی ، پروتکل تمرین هوازی به مدت ۶ هفته انجام گرفت. تمام جلسات تمرین در پایان سیکل خواب حیوانات و بین ساعت ۱۶ تا ۱۸ عصر برگزار شد. همچنین آزمایشات رفتاری نیز میان ساعت ۷ تا ۱۰ صبح به عمل آمد. به منظور بررسی اثرات طولانی مدت تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی ، مجدداً آزمون‌های رفتاری درد انجام گرفت.

آزمون‌های رفتاری :

دو هفته پس از القای دیابت و قبل از شروع پروتکل تمرین هوازی آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک به عنوان شاخص وقوع شرایط پاتولوژیکی نوروپاتی دیابت از تمامی گروه ها به عمل آمد به منظور بررسی تاثیر بلند مدت تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، مجدداً آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک اجرا شدند، برای اجتناب از عوامل مداخله‌گر نظیر استرس آزمایش‌های رفتاری بین ساعت ۷ تا ۱۰ صبح انجام شدند(۱۵-۱۶).

آزمون تیل فلیک: برای اندازه‌گیری تغییرات آستانه درد حرارتی(هایپرآلژزیای حرارتی) در این تحقیق از آزمون تیل فلیک استفاده شد. این آزمون بر اساس روش دی آمور و اسمیث انجام گرفت(۱۷).که نمونه به صورت افقی در محفظه مخصوص نگهداری حیوان قرار گرفت، به طوری که دُم آن آزاد بود. با استفاده از دستگاه تیل فلیک(مدل تی اف -۵۵۰۰ ساخت ایران) نور سوزان(در حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد) به یک سوم میانی دم حیوان تابیده شد. شدت نور دستگاه طوری تنظیم شد که زمان متوسط پاسخ‌دهی پایه بین ۳ تا ۴ ثانیه باشد و زمان ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطع تابش نور به ثلث میانی دم حیوان در نظر گرفته شد. مدت زمان تاخیر و یا فاصله زمانی شروع تابش حرارت تا حرکت دادن دم توسط حیوان، در سه مرحله و به فاصله ۵ دقیقه در گروه‌های مختلف بر حسب ثانیه اندازه‌گیری شد. و میانگین آنها به عنوان زمان تأخیر ثبت گردید.

آزمون فرمالین: در این تحقیق اجرای آزمون فرمالین به روش متداول دنیس و دوبوژن انجام گرفت(۱۸). بدین ترتیب که حیوان را در یک محفظه‌ای از جنس پلکسی گلاس (۳۰×۲۵×۲۵ سانتی‌متر) که روی سطح شیشه‌ای قرار داشت،

www.SID.ir

Archive of SID

گذاشته شد و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۲/۵ درصد (رقیق شده با محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم) به صورت زیرجلدی به سطح پشتی پنجهٔ پای عقب و راست موش تزریق و بلافاصله به محفظه مزبور برگردانده می‌شد. آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه زیر سطح شیشه‌ای قرار دارد تا بتوان پنجه پای حیوان را به طور دقیق مشاهده کرد. به دنبال تزریق فرمالین، رفتارهای دردناک از حیوان بروز می‌کند، که نمره شدت درد در حیوان بر اساس یک تقسیم‌بندی قراردادی به روش دنیس و دوبوژن و بر اساس نوع رفتار مشاهده شده در ۴ درجه تفکیکی به طریق زیر به حیوان داده می‌شد.

۱- حیوان روی پای تزریق شده می‌نشیند و یا راه می‌رود: نمره صفر

۲- حیوان پنجه پایی را که فرمالین با آن تزریق شده را به راحتی روی سطح تماس قرار نداده ولی وزن خود را بیشتر روی پای سالم خود قرار می‌دهد: نمره ۱

۳- حیوان پنجه پایی که فرمالین به آن تزریق شده را از سطح تماس جدا می‌کند: نمره ۲

۴- حیوان پنجه پایی که فرمالین به آن تزریق شده را می‌لیسد، گاز می‌گیرد و یا به شدت تکان می‌دهد: نمره ۳

ثبت پاسخ‌های رفتاری در اینتروال‌های ۱۵ ثانیه‌ای بلافاصله پس از تزریق فرمالین آغاز و تا دقیقه ۶۰ (زمان آزمون) به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقه‌ای محاسبه می‌شد. پاسخ در هر اینتروال ثبت و به عنوان شاخصی از میزان درد در آزمون فرمالین در نظر گرفته شد. با استفاده از این روش، اعداد صفر تا سه برای امتیاز درد در زمان‌های مختلف در هر اینتروال بدست آمد. به ترتیب، T0، T1، T2 و T3 تعداد ۱۵ ثانیه‌هایی است که حیوان در یک دوره ۵ دقیقه‌ای رفتار صفر، ۱،۲و ۳ را نشان می‌دهد. عدد ۲۰ نیز از تعداد پانزده ثانیه‌ها در هر ۵ دقیقه به دست آمده است(در هر دقیقه، ۴ عدد ثبت گردید که مجموعاً در ۵ دقیقه، ۲۰ عدد را شامل می‌شود). میانگین نمره درد مربوط به دقایق ۱۰-۰ و ۶۰-۱۵ پس از تزریق فرمالین، به ترتیب به عنوان درد حاد و مزمن در نظر گرفته شد. فاصله زمانی بین دقایق ۱۵-۱۰ دوره خاموش کوتاه مدت به حساب می آید، که پاسخ ناشی از درد در پنجه‌ی پای تزریق شده، مشاهده نشد.

پروتکل تمرین استقامتی:

پروتکل تمرین هوازی به مدت ۶ هفته انجام شد. در پژوهش حاضر پروتکل تمرین هوازی بر اساس مطالعه چی چانگ هوان (۱۶) اجرا شد ؛ بدین‌صورت که گروه‌های ورزشی نوروپاتی دیابتی تمرین و سالم تمرین در معرض تمرین نوار گردان، به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه قرار گرفتند. تمام جلسات تمرینی در پایان سیکل خواب حیوانات و بین ساعت ۱۶ تا ۱۸ عصر برگزار شد. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به تدریج افزایش یافته است و از ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۴ تا ۱۵ متر در دقیقه ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۴تا ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه ۳۰ دقیقه در هفته پنجم و ششم افزایش یافت. جهت رسیدن سازگاری‌های به‌دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی درهفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه‌داشته شد.

در پایان شش هفته برنامه تمرین هوازی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه ها به وسیله‌ی تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰mg/kg) بی‌هوش شدند. برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، تحت شرایط استریل و مطابق روش گلدرد و چوپین، (۱۹). سریعاً قطعه نخاعی حاوی بخش خلفی نخاع از سطح L4 تا L6، که سگمنت‌های نخاعی مربوطه، در موش‌های نر نژاد ویستار در ناحیه مهره های T13-L1 ستون فقرات قرا دارد، ابتدا ناحیه مورد نظر شناسایی و با برش در پائین‌ترین بخش ممکن از ستون فقرات جدا شد. سپس ستون فقرات با استفاده از کانال مرکزی به عنوان شاخص، به بخش قدامی و خلفی تفکیک شد و بخش خلفی

www.SID.ir

Archive of SID

نخاع را به عنوان نمونه، در نیتروژن ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های ملکولی در فریزر۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ریل تایم Real Time-PCR: حدود ۵۰ میلی گرم از بافت نخاع جهت استخراج RNA کل به نسبت ۱ به ۱۰ با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید.به منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول در دمای ۴ درجه سانتیگراد، به مدت۱۰دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با محلول کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در دمای ۴ درجه سانتیگراد، به مدت ۱۵دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت یک به نیم با محلول ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ده دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در دمای ۴ درجه سانتیگراد، به مدت ۱۰دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در محلول اتانول شستشو و در ۲۰ میلی لیتر آب RNase-free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد طبق شرکت(Eppendorf - Germany) و به نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تلخیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligo dt MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل انجام شد. . از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن‌های *IL6,TNF-a,* *NOTCH1* و STAT3 به صورت کمی استفاده شد، هر واکنش PCR با استفاده از دستگاه (PCR master mix Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند.ضمن اینکه از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Thereshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول $R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$ میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

روش تجزیه و تحلیل داده ها .

جهت تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون شپیرو ویلک اااستفاده شد. برای بررسی معنادار بودن اختلاف بین گروه ها از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شدو در صورت معناداری، جهت تعیین تفاوت بین میانگین های دو گروهی از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS-22 انجام و سطح معنی داری ($P<0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج آزمون ANOVA یک طرفه در جدول ۱ حاکی از آن است که قبل از برنامه تمرینی تفاوت معنی داری بین وزن حیوانات در گروه های مختلف وجود ندارد ($p = 0.96$)؛ اما در پایان برنامه تمرینی تفاوت معنی داری بین وزن حیوانات در گروه های مختلف وجود دارد ($p = 0.001$) . نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که اختلاف معنی داری بین وزن گروه کنترل سالم و کنترل نوروپاتی دیابتی و نوروپاتی تمرین وجود دارد($p = 0.001$) که نشان دهنده تاثیر دیابت بر کاهش وزن موشهای دیابتی است و همچنین بین گروه سالم تمرین و گروه دیابت نوروپاتی تمرین تفاوت معنی داری وجود دارد($p =0.001$) اما اختلاف معنی داری بین وزن کنترل نوروپاتی دیابتی و نوروپاتی تمرین وجود ندارد($p = 0.125$)

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج آزمون ANOVA یک طرفه در جدول ۱ نشان داد که قبل و بعد از تمرین تفاوت معنی داری بین میزان گلوکز در گروه های مختلف وجود دارد($p = 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که بین میزان قند خون گروه کنترل سالم و تمرین سالم قبل و بعد از تمرین با وجود تفاوت در میانگین قند خون گروها ولی این تفاوت معنی داری نبود ($p = 0.99$) و بعد از شش هفته تمرین هوازی بین میزان قند خون گروه کنترل نوروپاتی و گروه نوروپاتی تمرینی دیابتی تفاوت معنی داری وجود ندارد($p =0.114$). که این نتایج نشان می دهد باوجود تاثیرات تمرین هوازی بر روی کاهش قند خون در گروهای دیابتی ولی همچنان قند خون در گروه دیابت تمرین بالااست .نتایج نشان داد که دیابت باعث کاهش مشخص وزن، افزایش درسطوح گلوکز جریان خونی میشود و تمرین هوازی توانست باعث ایجاد تغییراتی در سطوح این فاکتورها شود.

نتـایج حاصـل از آزمون هایپرآلژزیای حرارتی تیل فیلیک در جدول ۲ حاکی از آن است که دو هفته پس از القای دیابت و بعد از شش هفته تمرین هوازی بین میزان درد در گروه های مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد ولی نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که بین گروه نوروپاتی کنترل و نوروپاتی تمرین قبل از تمرین تفاوت معنی داری وجود ندارد($p =0.99$). اما پس از شش هفته تمرین هوازی با وجود اینکه بین گروه کنترل سالم و تمرین سالم تفاوت وجود ندارد($p =0.99$) ولی بین گروه کنترل نوروپاتی و تمرین نوروپاتی تفاوت معنی داری وجود دارد($p = 0.001$) که این حاکی از تاثیر تمرین هوازی برمیزان درد در گروهای نوروپاتی است. میانگین مدت زمان تاخیر (Tail-Flick latancy) دو هفته پس از القای دیابت در گروه های نوروپاتی نسبت به گروه های سالم به طور معنی داری کمتر بود. همچنین پس از ۶ هفته تمرین هوازی میانگین مدت زمان تاخیر در پس کشیدن دم در آزمون تیل فیلیک در گروه نوروپاتی تمرین نسبت به گروه نوروپاتی کنترل به طور معنی داری بیشتر بود.

همچنین نتـایج حاصـله از آزمـون فرمـالین به صورت پیش آزمون و پس آزمون در گروههای مختلـف در جدول ۲ نـشان مـی دهـد که دو هفته پس از القای دیابت و بعد از شش هفته تمرین هوازی بین میزان حس درد در گروه های مختلف تفاوت معنی داری در دو فاز حاد و مزمن وجود دارد($p = 0.001$) ولی نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که بین گروه نوروپاتی کنترل و نوروپاتی تمرین($p =0.299$). و گروه سالم کنترل و سالم تمرین ($p =0. 99$). قبل از تمرین در مرحله حاد تفاوت معنی داری وجود ندارد. اما پس از شش هفته تمرین هوازی در مرحله حاد تنها بین گروه کنترل سالم و گروه نوروپاتی دیابت تمرین تفاوت وجود ندارد ($p =0.99$) ولی بین گروه کنترل نوروپاتی و تمرین نوروپاتی تفاوت معنی داری وجود دارد ($p = 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در مرحله مزمن آزمون فرمالین نشان داد که بین گروه نوروپاتی کنترل وگروه نوروپاتی تمرین ($p =0. 99$). و گروه سالم کنترل و گروه سالم تمرین ($p=0. 99$). قبل از تمرین تفاوت معنی داری وجود ندارد. و پس از شش هفته تمرین هوازی در مرحله مزمن بین گروه کنترل سالم و گروه نوروپاتی دیابت تمرین تفاوت وجود ندارد($p =0.99$) که این نشان از تاثیر تمرین بر میزان درد در گروه دیابتی تمرین می باشد .میانگین نمرات درد در گروهای مختلف پس از هفته دوم و پس از گذشـت شش هفته تمرین هوازی در دو فـاز حاد و مزمن به دنبال تجویز کف پایی فرمـالین مورد ارزیابی قرار گرفت ونشان داده شد که نمرات درد گروه نوروپاتی دیابت بیـشتر از موشـهای کنترل بود و تمرین به مدت شش هفته باعث کـاهش معنـی دار درنمـرات درد گروه تمرین سالم درمقایـسه بـا گـروه دیابتی تمرین در مراحل حاد و مزمن گردید

نتایج حاصل از بیان ژن Notch1 در نمودار ۱ در نرونهای بخش خلفی نخاع موشهای نر دیابتی نشان داد که

www.SID.ir

Archive of SID

بیان این ژن درگروه نوروپاتی دیابتی کنترل نسبت به سایر گروها به طور معنی داری بیشتر بوده و این نشان از تاثیر دیابت بر بیان ژن Notch1 می باشد. ولی گروهای دیگر تفاوت معناداری در سطوح بیان ژن Notch1 نسبت به گروه سالم کنترل را نشان ندادند و همچنین بین گروه نوروپاتی دیابتی تمرین نسبت به گروه سالم کنترل و سالم تمرین با وجود تفاوت اندک ولی این تفاوت معنی داری نبود. همچنین میزان بیان ژن Notch1 در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه سالم کنترل و سالم تمرین بیشتر بود ولی نسبت به گروه کنترل دیابت کمتر بود و همچنین میزان بیان ژن Notch1 در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل با کاهش همراه بود که این نشان از تاثیر تمرین هوازی بر کنترل بیان ژن Notch1 دارد .نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان دادند که بیان سیتوکینهای التهای IL6 وTNF-a در نرونهای بخش خلفی نخاع در گروه نوروپاتی دیابتی کنترل نسبت به سایر گروها به طور معنی داری بیشتر بوده و می توان به تاثیر دیابت بر سیستم ایمنی بدن و افزایش فاکتورهای التهابی اشاره کرد .اما سایر گروها در بیان ژنهایIL6 و TNF-a با وجود اختلاف اندک نسبت به گروه کنترل سالم ولی تفاوت معناداری مشاهده نشد. تفاوت میزان بیان ژنهای IL6 وTNF-a در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل با کاهش همراه بود و کمترین میزان سطوح فاکتور التهابی در گروه تمرین سالم بود هرچند که به لحاظ آماری با تغییرات معناداری همراه نبود و همچنین میزان بیان IL6 وTNF-a در گروه نوروپاتی تمرین دیابت نسبت به نوروپاتی کنترل دیابت به طور معنی داری کمتر بود و این نشان از تاثیر تمرین بر کنترل بیان IL6 وTNF-a دارد. نتایج نشان داد که بیان ژن STAT3در نرون‌های بخش خلفی نخاع در گروه کنترل نوروپاتی دیابتی نسبت به سایر گروها به طور معنی داری بیشتر بوده . این نتایج نشان می دهد که دیابت بر بیان ژن STAT3تاثیر داشته اما با وجود بیشتر بودن میزان بیان ژن STAT3در گروه دیابت نوروپاتی تمرین نسبت به گروهای سالم اما این تفاوت معنی دار نبود. همچنین تفاوت میزان بیان ژن STAT3در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل با کاهش همراه بود و این گروه کمترین میزان بیان ژن STAT3نسبت به سایر گروه ها را نشان داد هرچند که به لحاظ آماری با تغییرات معناداری همراه نبود و این حاکی از تاثیر تمرین هوازی بر کاهش بیان ژن STAT3 دارد.

جدول ۱: نتایج حاصل از آنوا یکطرفه برای مقایسه وزن بدن ، گلوکز خون قبل و بعد ازشش هفته تمرین

فاکتورهای اندازه گیری		گروها(n=10) دیابت کنترل	دیابت تمرین	سالم تمرین	سالم کنترل	ANOVA- One way
وزن(گرم)	قبل تمرین	239.5±10.3	237.5±10.0	238 ±7.1	238±8.5	F= 0.090, P=0.965
	بعد تمرین	192±10.3	210±29.0	295 ±9.4	306.6±8.3	F= 122.48, P=0.001*
گلوکز (میلی گرم / دسی لیتر)	قبل تمرین	409±51.7	405.5±41.3	118.8±5.3	118.6±6.7	F= 248.71 , P=0.001*
	بعد تمرین	407±61.8	366.6±38.7	116.6±5.1	121±7.7	F= 179.04 , P=0.001*

اعداد به صورت میانگین± انحراف استاندارد میزان وزن ، گلوکز خون قبل و بعد ازشش هفته تمرین .علامت * نشان دهنده تفاوت آماری بین گروهای مختلف (P<0/05) ،

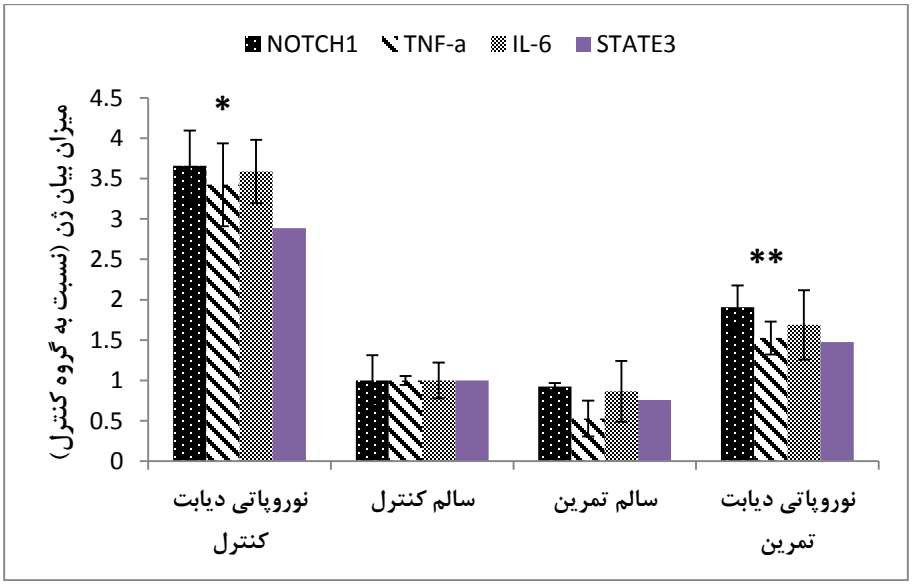
جدول۲: میزان درد درآزمون فرمالین در دو فاز حاد و مزمن وآزمون تیل فلیک در رت ها قبل و بعد از شش هفته تمرین هوازی

www.SID.ir

Archive of SID

تستهای رفتاری		گروهها			
		دیابت کنترل(n=7)	دیابت تمرین(n=7)	سالم تمرین(n=7)	سالم کنترل(n=7)
تیل فلیک(s)	قبل تمرین	1.80± 0.19*	1.79± 0.28	2.97± 0.14	3.23± 0.25
	بعد تمرین	1.71± 0.17	2.36± 0.16**	3.21± 0.11	3.12± 0.11
فرمالین(میزان درد)	مرحله حاد	2.64±0.15*	1.80±0.18**	1.59±0.33	1.54±0.16
	مرحله مزمن	2.77±0.14*	1.70±0.18**	1.43±0.19	1.68±0.16

اعداد به صورت میانگین± انحراف استاندارد میزان حساسیت به دردقبل و بعد از شش هفته در آزمون تیل فلیک و در دو فاز حاد و مزمن قبل و بعد از تمرین در آزمون فرمالین بیان شده اند.علامت * نشان دهنده تفاوت آماری در مقایسه با گروه کنترل سالم (P<0/05) ،



نمودار ۱: میزان بیان ژن های *NOTCH1, IL6,TNF-a* و STAT3 بعد از شش هفته تمرین هوازی

میزان بیان ژن های *NOTCH1, IL6,TNF-a* و STAT3 در بخش خلفی نخاع گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل * اختلاف معنی دار با گروه سالم کنترل (P<0.05). ** اختلاف معنی دار با گروه نوروپاتی دیابتی (P<0.05).

بحث

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات هوازی از کاهش وزن بیش از حد موشهای دیابتی جلوگیری کرده است و باوجود اینکه در گروه کنترل نوروپاتی کاهش وزن بیشتر بود اما تمرین ورزشی مانع از کاهش بیش از حد وزن گروه نوروپاتی تمرین شده است که با نتایج کوزا، بالاجی،و کاگلو همخوانی داشت که نشان دادند تمرینات ورزشی مانع از کاهش وزن گروهای دیابتی می شود . ولی با نتایج تحقیقات ایرباج و مونزیلو مغایرت دارد که شدت، مدت و نوع تمرین می تواند دلیل بر آن باشد. یکی از نتایج قابل توجه فعالیتهای ورزشی که آثار مفید فعالیت ورزشی برای بیماران دیابتی را مورد توجه قرار می دهد بهبود در سطوح گلوکز خون ناشتا است که در تحقیق حاضر تمرین باعث کاهش میزان قند خون در موش‌های دیابتی القاء شده با STZ شد بعد از شش هفته تمرین هوازی تفاوت معنی داری بین سطوح گلوکز در کنترل سالم ، تمرین سالم و گروه تمرین نوروپاتی دیابتی وجود نداشت با این حال، بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون گلوکز در گروه تمرین نوروپاتی دیابتی اختلاف معنی داری وجود داشت که این نشان از تاثیر تمرین در کاهش قند خون دارد این نتایج همسو با نتایج تکماکیدیس وهمکاران ولویزا وهمکاران بود که کاهش معنی دار گلوکز خون ناشتا وبهبود به حساسیت انسولین را بعد از تمرینات ورزشی مشاهده کردند (۲۰،۲۱) اما مغایر با نتایج پژوهش کوزا و همکاران و سیلو و همکاران که بعد از هشت هفته فعالیت ورزشی هیچگونه کاهش معنادار در گلوکز خون مشاهده نکردند که می‌تواند این اختلاف به دلیل شدت ،مدت و نوع فعالیت بدنی در آزمودنی‌ها باشد .نتایج حاصل نشان داد که دیابت باعث کاهش مشخص وزن، افزایش درسطوح گلوکز جریان خونی می شود و تمرین هوازی توانست باعث ایجاد تغییراتی در سطوح این فاکتورها شود. در پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات تمرین هوازی بر پاسخ های رفتاری درد نوروپاتیک از مدل درد نروپاتیک ایجاد شده با STZ استفاده شده است نتایج پژوهش نشان داد که تمرین هوازی باعث بالا رفتن آستانه درد به شکل معنی‌داری در موش‌های نوروپاتی تمرین نسبت به گروه کنترل شده است که این امر با حساسیت سیستم عصبی به محرک‌های دردزا که با افزایش مدت زمان تاخیر در آزمون تیل فلیک و آزمون فرمالین در آزمونهای رفتاری درد نوروپاتیک، اندازه‌گیری شد. نتایج پژوهش نشان داد که فعالیت هوازی می تواند موجب بهبود پاسخ های درد نروپاتیک هایپرالژزیای حرارتی و الودینای مکانیکی گردد این نتایج همسو با بسیاری از مطالعاتی است که به بررسی تاثیر تمرین ورزشی بر پاسخ های درد نوروپاتیک پرداخته‌اند. کارن ای کوپال و همکاران، ۲۰۰۷ در تحقیق خود نشان دادند تمرین، درد القاء شده توسط فرمالین را در موشهای دیابتی کاهش می دهد و این عامل را در نتیجه کنترل التهاب ناشی از تمرین دانسته اند(۲۲) هی جی یان و همکاران، ۲۰۱۵ تاثیر تمرین هوازی بر کاهش درد نوروپاتیک مرتبط با دیابت را نشان دادند، و به این نتیجه رسیدند که تمرین هوازی درد ناشی از هایپرآلژزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی را در موش های دیابتی القاء شده با STZ را بهبود می بخشد(۲۳). در تناقض با نتایج این پژوهش برخی مطالعات نیز نتوانستند تاثیر تمرینات ورزشی را بر بهبود درد نوروپاتیک نشان دهند برای مثال اسلوکا و راسون ۲۰۱۰ نشان دادند فعالیت ورزشی به افزایش زمان تاخیر در عقب کشیدن پا در هایپر الژزیای حرارتی می انجامد که این تناقض می تواند ناشی از نوع تمرین این محقق باشد که از تمرین وامانده ساز استفاده کرده است (۲۴). نتایج حاصل از مطالعه حاضر این موضوع را مورد تایید قرار داد و نشان داد که میزان بیان Notch1 و سایتوکین های التهابی TNF-α و IL6 , و به دنبال آن بیان مسیر JAK/STAT که منجر به افزایش سطوح پروتیینSTAT3 در نورون های حسی بخش خلفی نخاع در موش های با نوروپاتی دیابت به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل سالم بود. مطالعات زیادی نشان می دهند که افزایش بیان مسیر سیگنالیNotch-1 در آزاد شدن سیتوکین‌های التهابی به طور مستقیم درالقاء درد

www.SID.ir

Archive of SID

نوروپاتیک می‌تواند نقش کلیدی داشته باشد (۸،۲۵،۲۶، ۲۷،۲۸). که نتایج این تحقیق‌ها با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر این موضوع را مورد تایید قرار داد و نشان داد که افزایش بیان و فعالیت گیرنده Notch-1در نورون‌های حسی بخش خلفی نخاع در موش‌های با نوروپاتی دیابت باعث افزایش ترشح TNF-α و IL6 شده و میزان این فاکتورها در موش‌های با نوروپاتی دیابت نسبت به گروه کنترل سالم بیشتر بود و تمرین هوازی با عث کاهش معنی داری در میزان بیان TNF-α و IL6 در گروه نوروپاتی تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابت کنترل شد که این یافته با نتایج مطالعات(۲۹،۳۰،۳۱،۳۲،۳۳).که کاهش معنی داری در TNF-α و IL6 راپس از پروتکل های مختلف تمرین نشان می دهند همخوانی داشت . در سال ۲۰۱۶ لی وهمکاران فعالیت مسیر سیگنالی JAK/STAT و آزمونهای رفتاری درد را مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که بیان و فعالیت این مسیر سیگنالی منجر به درد نوروژاتی محیطی می شود و کاهش میزان درد نوروپاتی محیطی با تعدیل این مسیر سیگنالی به احتمال زیاد با کاهش TNFα وIL6 همراه است(۳۴). از انجا که گیرنده Notch-1 در اعصاب نخاعی نقش مهمی در توسعه درد نوروپاتی و افزایش صدمات اعصاب محیطی دارد نتایج مطالعه چن ۲۰۱۷ تاکید میکند که ممانعت از بیان گیرنده Notch-1 و به دنبال آن کاهش بیان سیتوکینهای التهابی و مسیر سیگنالی JAK/STAT یک نقش محوری در کاهش درد نوروپاتی محیطی دارد(۳۵). که نتایج تحقیقات ذکر شده کاملا با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. با توجه به نتایج به نظر می رسد که تمرین هوازی بتواند به عنوان یک عامل درمانی موثر برای بهبود عملکرد فیبرهای حسی در نوروپاتی دیابت از طرق کاهش سطح التهاب به واسطه پیشگیری از افزایش بیان ژن های Notch-1، STAT3و سایتوکاین های التهابی TNFα وIL6 عمل کند

با این حال عدم اندازه گیری سطوح هورمون های استرسی و لیگاندهای فرا دستی گیرنده NOTCH1 به طور مستقیم ، همچنین اندازه گیری بیان ژن به جای سطوح پروتئین در پژوهش حاضر به عنوان محدودیت، از بحث دقیق در این زمینه جلوگیری می کند. بنابراین پیشنهاد می شود در پژوهش‌های آتی، به جای اندازگیری بیان ژن، سطوح پروتئین ها را برای دستیابی به شرایط قطعی تر مورد بررسی قرار دهندو تمرین استقامتی به شکل هوازی با شدت متوسط به عنوان یک مداخله درمانی غیر دارویی برای بیماران دیابتی به منظور کاهش درد نوروپاتیک به کار گرفته شود.با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیقات ذکر شده و مطالعه حاضر، افزایش فاکتورهای التهای در سیستم عصبی پیرامونی می تواند یکی از دلایل احتمالی اختلال در عملکرد ساختار فیبرهای حسی دانست و مهار این شراط پاتوفیزیولوژیکی به وسیله تمرین هوازی، به عنوان یک روش پیشنهادی برای بهبود درد نوروپاتی دیابت مورد نظر قرار داد.

نتیجه گیری

به طور کلی با توجه به نتایج حاصل ازاین پژوهش ما نشان دادیم که تمرین هوازی درد ناشی از نوروپاتی دیابت را بهبود می‌بخشد و از طریق تنظیم و کاهش بیان پروتینهای Notch1 در اعصاب محیطی نخاع و کاهش میزان سیتوکینهای التهابی که منجر به بلاک مسیر سیگنالی *JAK*/STAT و به دنبال آن کاهش بیانSTAT3 می شود که در کاهش حس درد تاثیر گذار است و باعث تقویت اثر درمانی تمرینات هوازی در نوروپاتی دیابتی می شود . بنابراین مطالعه ما یک کشف مهم در مهار گیرنده Notch1 و مسیر سیگنالی *JAK*/STAT بدون استفاده از دارو و تجویز تمرینات منظم ورزشی هوازی با شدت ملایم تا متوسط برای افراد دیابتی می تواند روش مناسبی برای کنترل ودرمان درد ناشی از آن باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

قدردانی

از کلیه کسانی که امکان اجرای مطلوب تحقیق حاضر را مهیا نمودن، صمیمانه تقدیر و تشکر میکنم و این مقاله برگرفته از رساله دکتری می باشد

منابع

1-Kumar NP, Annamalai AR, Thakur RS. Antinociceptive property of Emblica officinalis Gaertn (Amla) in high fat diet-fed/low dose streptozotocin induced diabetic neuropathy in rats. Indian J Exp Biol. 2009; 47: 737-42

2-Rojas DR, Kuner R, Agarwal N. Metabolomic signature of type 1 diabetes-induced sensory loss and nerve damage in diabetic neuropathy. arXiv preprint arXiv:1803.06740. 2018 Mar 18.

3-Rutten K, Gould SA, Bryden L, Doods H, Christoph T, Pekcec A. Standard analgesics reverse burrowing deficits in a rat CCI model of neuropathic pain, but not in models of type 1 and type 2 diabetes-induced neuropathic pain. Behavioural brain research. 2018 Sep 17;350:129-38.

4-World Health Organization. Global report on diabetes: World Health Organization; 2016.

5-Paladd Asavarut, Hailin Zhao, Jianteng Gu, Daqing Ma.(2013). The role of HMGB1 in inflammation-mediated organ injury. Acta Anaesthesiologica Taiwanica 51 , 28-33

6-Rusanescu G, Mao J. Notch3 is necessary for neuronal differentiation and maturation in the adult spinal cord. J Cell Mol Med. 2014;18(10):2103–16.

7-Arumugam TV, Cheng YL, Choi Y, Choi YH, Yang S, Yun YK, et al. Evidence that gamma-secretase-mediated Notch signaling induces neuronal cell death via the nuclear factor-kappaB-Bcl-2-interacting mediator of cell death pathway in ischemic stroke. Mol Pharmacol. 2011;80(1):23–31

8-Yang C, Gao J, Wu B, Yan N, Li H, Ren Y, Kan Y, Liang J, Jiao Y, Yu Y. Minocycline attenuates the development of diabetic neuropathy by inhibiting spinal cord Notch signaling in rat. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2017 Oct 1;94:380-5.

9-Darnell Jr, J.E., I.M. Kerr, and G.R. Stark, *Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins.* ScienceAAAS-weekly paper edition-including guide to scientific information, 1994. 264(5164): p. 1415-1420

10-Li, Y., et al., *Disease-related expression of the IL6/STAT3/SOCS3 signalling pathway in ulcerative colitis and ulcerative colitis-related carcinogenesis.* Gut, 2010.

11-Zhou, Y.Q., Liu, Z., Liu, Z.H., Chen, S.P., Li, M., Shahveranov, A., Ye, D.W., Tian, Y.K., 5402016b. Interleukin-6: an emerging regulator of pathological pain. J. Neuroinflammation

12-K. Xie, F. Qiao, Y. Sun, G. Wang, L. Hou, Notch signaling activation is critical to the development of neuropathic pain, BMC Anesthesiol. 15 (2015) 41.

13-Yan, J.-e., et al., *Streptozotocin-induced diabetic hyperalgesia in rats is associated with upregulation of Toll-like receptor 4 expression.* Neuroscience letters, 2012. 526(1): p. 54-58

14-Wei, M., et al., *The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes.* Heart Lung & Circulation, 2003. 12(1): p. 44-50.

15-Malmberg, A.B. and A.W. Bannon, *Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents.* Current protocols in neuroscience, 1999. 6(1): p. 8.9. 1-8.9. 15.

16-Chae, C.-H., et al., *Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats.* Journal of physiology and biochemistry, 2011. 67(2): p. 235-241

17-D'Amour, F.E. and D.L. Smith, *A method for determining loss of pain sensation.* J Pharmacol Exp Ther, 1941. 72(1): p. 74-9

18-Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain. 1977;4:161-74.

19-Gelderd JB, Chopin SF. The vertebral level of origin of spinal nerves in the rat. The Anatomical Record. 1977;188(1):45-7.

20-Tokmakidis SP, Christos EZ, Konstantinos AV, Kotsa K, Touvra AM. The effects of a combined strength andaerobic exercise program on glucose control and insulin action in women with type 2 diabetes. Eur J Appl Physio2004;92(4-5):437-442.

21-Gray S, Baker G, Wright A, Fitzsimons C, Mutrie N, Nimmo M. The effect of a 12 week walking intervention on markers of insulin resistance and systemic inflammation. Preventive Med 2009;48(1):39-44

22-Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. European journal of clinical investigation. 2017 Aug;47(8):600-11.

www.SID.ir

Archive of SID

23-Shamsi MM, Hassan ZM, Quinn LS, Gharakhanlou R, Baghersad L, Mahdavi M. Time course of IL-15 expression after acute resistance exercise in trained rats: effect of diabetes and skeletal muscle phenotype. Endocrine. 2015 Jun 1;49(2):396-403.

24-Sluka KA and Rasmussen LA. 2010. Fatiguing exercise enhances hyperalgesia to muscle Inflammation. Pain. 148(2): 188

25-Jalnapurkar S, Moirangthem RD, Singh S, Limaye L, Kale V. Microvesicles Secreted by Nitric Oxide-Primed Mesenchymal Stromal Cells Boost the Engraftment Potential of Hematopoietic Stem Cells. Stem Cells. 2019 Jan;37(1):128-38.

26-Xu Z, Xiong D, Zhang J, Zhang J, Chen X, Chen Z, Zhan R. Bone marrow stromal cells enhance the survival of chronic lymphocytic leukemia cells by regulating HES-1 gene expression and H3K27me3 demethylation. Oncology letters. 2018 Feb 1;15(2):1937-42..

27-Lian, H., Hui, Y., Xiaoping, T., Wei, T., Jiyi, X. and Xiaolan, Y., 2019. Baicalein suppresses the proliferation of human cervical cancer cells via Notch 1/Hes signaling pathway.

28-Nourbakhsh M, Minoo P. Annexin A10 and HES-1 Immunohistochemistry in Right-sided Traditional Serrated Adenomas Suggests an Origin From Sessile Serrated Adenoma. Applied immunohistochemistry & molecular morphology: AIMM. 2019 Jan 15

29-D'Souza B, Meloty-Kapella L, Weinmaster G. Canonical and non-canonical Notch ligands. InCurrent topics in developmental biology 2010 Jan 1 (Vol. 92, pp. 73-129). Academic Press.

30-Piercy V, Banner SE, Bhattacharyya A, Parsons AA, Sanger GJ, Smith SA, Bingham S. Thermal, but not mechanical, nociceptive behavior is altered in the Zucker Diabetic Fatty rat and is independent of glycemic status. Journal of diabetes and its complications. 1999; 13(3):163-9.

31-Vissers KC, Geenen F, Biermans R, Meert TF. Pharmacological correlation between the formalin test and the neuropathic pain behavior in different species with chronic constriction injury. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2006; 84(3):479-86.

32-Romero-Zurita A, Carbonell-Baeza A, Aparicio VA, Ruiz JR, Tercedor P, Delgado-Fernández M. Effectiveness of a tai-chi training and detraining on functional capacity symptomatology and psychological outcomes in women with fibromyalgia. Evidence-based complementary and alternative medicine. 2012.

33-Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, Fallucca S, Alessi E, Letizia C, Jimenez A, Fallucca F. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2010; 20(8):608-17.

34-Li, D., Yan, Y., Yu, L., Duan, Y., 2016. Procaine Attenuates Pain Behaviors of Neuropathic Pain Model Rats Possibly via Inhibiting JAK2/STAT3. Biomol. Ther. (Seoul) 24, 489-494.

35-Chen, T., Li, H., Yin, Y., Zhang, Y., Liu, Z., Liu, H., 2017. Interactions of Notch1 and TLR4 signaling pathways in DRG neurons of in vivo and in vitro models of diabetic neuropathy. Sci. Rep. 7, 14923.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of 6 Weeks Aerobic Training on Peripheral Neuropathic Pain and its Effect on Expression of Notch-1 Receptor and JAK/STAT Signaling Pathway in Posterior Spinal Cord of Diabetic Male Rats

Siros Hosseini Askarabadi[1], Rahim Mirnasouri[1*], Masoud Rahmati[1]

1- PhD Student in Sport Physiology.
2-Assistant Professor of Sport Physiology.
3-Associate Professor of Sport Physiology.

1,2,3-Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran.

**Corresponding author:*
Rahim Mirnasouri; Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran.
Tel:+989166638738
Email: nirnasuri.r@lu.ac.ir

Abstract

Background and Objective: The peripheral neuropathic pain is one of the major and largely untreated pain for which physical activity is considered as the main stream treatment. The purpose of this experimental study was to evaluate the effect of 6 weeks aerobic training on peripheral neuropathic pain and on the expression of the NOTCH1 receptor and to assess the role of *JAK/STAT* pathway in the spinal cord of diabetic male rats.

Subjects and Methods: Forty male Wistar rats (age: 8 weeks old; weight 220±10.2g) were randomly divided into 4 groups: diabetic neuropathy training (DNT), diabetic neuropathy control (DNC), healthy training (HT) and healthy control (HC).The diabetic groups two weeks after induction of diabetes, behavioral pain tests were administered and endurance training protocol was performed for 6 weeks at 5 sessions per week. To evaluate the expression of *NOTCH1, IL6, TNF-a and* STAT3 were measured using Real Time PCR technique. For analysis of the data, one-way ANOVA statistical test was used and significant level was considered at $P < 0.05$.

Results: After 6 weeks of aerobic training, the expression of *NOTCH1, IL6, TNF-aand* STAT3 genes in diabetic neuropathy training group was significantly lower than the diabetic neuropathy control group. The mean weight of the diabetic neuropathic training group was more than the diabetic neuropathy control group. In addition, exercise significantly decreased blood glucose level in the diabetic neuropathy group.

Conclusion: The results show that aerobic exercise can effect pain sensation in rats with diabetic neuropathy. In addition, aerobic exercise, seems to induce this action by reducing the level of expression of *NOTCH1, IL6, TNF-a* and STAT3.

Keywords: Aerobic exercise, Peripheral neuropathic pain, NOTCH1, STAT3, Diabetes.

►*Please cite this paper as:*
Hosseini Askarabadi S. Effect of 6 Weeks Aerobic Training on Peripheral Neuropathic Pain and its Effect on Expression of Notch-1 Receptor and JAK/STAT Signaling Pathway in Posterior Spinal Cord of Diabetic Male Rats. Jundishapur Sci Med J 2019; 18(1):95-107.

Received: Mar 10, 2019 **Revised: June 1, 2019** **Accepted: June 8, 2019**

www.SID.ir