مجله دیابت و متابولیسم ایران. مهر-آبان ۱۳۹۴؛ دوره ۱۵ (شماره۱)۱۸-۹

مقاله پژوهشی

اثر تمرین استقامتی تداومی بر بیان ژن GSK-3β در بخش حسی نخاع رت‌های نر ویستار با نوروپاتی دیابت

فرانک صادقی‌پور وجدانی[۱]،رضا قراخانلو[*۱]،منصوره موحدین[۲]، مسعود رحمتی[۳]

چکیده

مقدمه: نوروپاتی دیابت از عوارض شایع بیماری دیابت است. از سوی دیگر گلیکوژن سنتازکیناز۳ بتا، کلید تنظیمی است که خروجی بسیاری از مسیرهای پیام‌رسانی را تعیین می‌کند و مهار آن در افزایش بقای نورونی مؤثر گزارش شده است. لذا پژوهش حاضر به بررسی اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن GSK-3β در بخش حسی نخاع رت‌های نر ویستار با نوروپاتی دیابت می‌پردازد.

روش‌ها: بدین منظور ۱۶ سر رت نر ویستار به‌طور تصادفی به ٤ گروه سالم کنترل، سالم تمرین، نوروپاتی کنترل و نوروپاتی تمرین تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق درون صفاقی محلول استرپتوزوسین (٤٥ میلی‌گرم/کیلوگرم) انجام شد. ۲ هفته بعد از تزریق استرپتوزوسین، با اثبات نوروپاتی دیابت توسط آزمون‌های آلودینای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی، برنامه تمرین استقامتی تداومی با شدت ۵۰-۵۵ ٪ Vo2max به‌مدت ٦ هفته اجرا شد. ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها تشریح و نورون‌های حسی L4-L6 بافت نخاع استخراج گردید. بررسی بیان ژن نیز با روش Real Time-PCR صورت گرفت.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه نوروپاتی کنترل، نوروپاتی تمرین کاهش بیان GSK-3β را تجربه می‌کند (P= ۰/۰۱٦)؛ از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های سالم کنترل و نوروپاتی کنترل دیده شد (P= ۰/۰۰۰۱) به‌طوری‌که بیان ژن در گروه نوروپاتی کنترل افزایش نشان داد؛ اما اختلاف گروه کنترل سالم و نوروپاتی تمرینی معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: یکی از عوامل احتمالی درگیر در گسترش آسیب نورون‌های حسی نوروپاتی دیابت، تنظیم افزایشی mRNAGSK-3β بوده و ورزش می‌تواند آن را تعدیل و به سطوح نرمال نزدیک نماید. بنابراین، پیشنهاد می شود GSK-3β به‌عنوان یک هدف درمانی و غیردارویی بدیع در بیماری دیابت مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: GSK-3β، نوروپاتی دیابت، بخش حسی نخاع، تمرین استقامتی تداومی

۱- گروه تربیت بدنی (فیزیولوژی ورزشی)، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- گروه آناتومی و علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

[*] **نشانی:** تهران، جلال آل احمد، پل نصر، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم انسانی، تلفن: ۰۲۱۸۲۸۸٤٦٤٦، کدپستی:١٤١١٧١٣١١٦، پست الکترونیک: ghara_re@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۷ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۴/۰۸/۱۴** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۲۷**

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

نوروپاتی دیابت، یکی از عوارض شایع بیماری دیابت است که با تغییرات ساختاری در اعصاب محیطی شامل آتروفی اکسون، میلین زدایی، کاهش تارهای عصبی و کند شدن بازسازی تارهای عصبی همراه می‌باشد [۲، ۱]. این عارضه، در اثر هایپرگلایسمی و ایسکمی نورونی رخ می‌دهد [۳] که ابتدا نورون‌های حسی و سپس حرکتی را درگیر می‌کند [٤]. مطالعات نشان می‌دهند اختلالات پروتئین کینازهای عصبی، از اصلی‌ترین مسیرهای بیوشیمیایی درگیر در توسعه نوروپاتی دیابت است [٥]. در میان کینازها، GSK-3β در فعالیت‌های سلولی بسیاری نظیر تنظیم فعالیت آنزیم گلیکوژن سنتتاز [٦]، پیام‌رسانی بقا و توسعه نورون [۷] و گسترش دندریت‌ها و شکل گیری سیناپس‌ها در نورون‌های تازه متولد شده [۸] مشارکت می‌کند. در صورت وجود نقص تنظیمی این کیناز در سلول‌های عصبی و مسیرهایی که به‌عنوان یک تنظیم کننده عمل می‌کند (نظیر مسیرهای پیام‌رسانی Wnt و Hedgehog که هر دو در فرم‌های مختلف سرطان و همچنین آلزایمر درگیر هستند)، شاهد توسعه بیماری‌هایی نظیر دیابت، آلزایمر، سرطان، التهاب [۱۰ ،۹] و تصلب جانبی آمیوتروفیک (ALS)[1] [۲] خواهیم بود. برخی مطالعات نیز نشان داده‌اند تمرین استقامتی موجب بهبود عملکرد و ساختار نورون‌های حسی در نروپاتی دیابت می‌گردد. مشخص شده است، فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین استقامتی موجب بهبود هایپرآلژزیا حرارتی و آلودینیا مکانیکی به‌عنوان شاخص عملکرد نورون‌های حسی گردیده است [۱۱]. از طرفی، تمرین شنا و دویدن روی نوار گردان موجب بهبود یافتن آلودینیا مکانیکی و هایپرآلژزیا حرارتی در رت‌های نر تمرین کرده دیابتی گردیده است [۱۲]. به‌علاوه نشان داده شده است ۳ هفته تمرین هوازی ملایم بر روی نوار گردان می‌تواند هایپرآلژزیا مکانیکی را بهبود بخشد [۱۳]. از سوی دیگر برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند تمرین ورزشی و همچنین انسولین، فعالیت GSK-۳ آلفا و بتا را ٤۰ تا ٦۰ درصد کاهش داده است [١٤]. موش‌های صحرایی گروه تمرینی این پژوهش، ۵، ۱۰، ۳۰ و ٦۰ دقیقه بلافاصله بعد از دویدن با سرعت ۲۵ متر در دقیقه با شیب ۱۰ درصد مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج حاکی از آن بود که تمرین ورزشی موجب غیرفعال شدن GSK-3 می‌شود. به‌علاوه مطالعات دیگر نشان داده‌اند که فعالیت بدنی و انقباض عضلانی می‌تواند GSK-3 را فسفوریله و غیرفعال کند. [۹، ۲].

براساس اطلاعات موجود در رابطه با نقش اساسی GSK-3β در نوروپاتی و تاثیرپذیری آن از فعالیت بدنی می‌توان انتظار داشت فعالیت بدنی تغییرات ایجاد شده در بیان این کیناز را تحت تأثیر قرار داده و نورون‌های حسی را دست‌خوش تغییر سازد. از این‌رو هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین استقامتی تداومی بر بیان ژن GSK-3β در بخش حسی نخاع رت‌های نر ویستار با نوروپاتی دیابت می‌باشد.

روش‌ها

در پژوهش حاضر ١٦ سر رت صحرایی بالغ نر ۱۰ هفته‌ای از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۱/۲±۲۷۱/۳ گرم از بخش پرورش حیوانات مرکز تحقیقات رازی تهیه گردید و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. کلیه رت‌ها در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای ۳±۲۲ درجه سانتی گراد، چرخه روشنایی– تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، رطوبت نسبی ٤۰ درصد و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش نگه‌داری گردیدند. در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات رعایت گردید. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید و رسیدن به وزن مطلوب ۸/٤±۳۲٦/۳ گرم جهت القا نوروپاتی دیابت [۱۲]، رت‌ها به‌طور تصادفی در چهار گروه چهارتایی قرار گرفتند: گروه اول (نوروپاتی کنترل)، گروه دوم (نوروپاتی تمرین)، گروه سوم (سالم کنترل) و گروه چهارم (سالم تمرین). دو هفته پس از القا دیابت، آزمایش‌های رفتاری درد نوروپاتیک به‌عنوان شاخص عملکرد نورون‌های حسی [۱۵] اجرا گردید و پس از اطمینان یافتن از حصول نوروپاتی حسی در رت‌ها [١٦]، پروتکل تمرین استقامتی تداومی به‌مدت شش هفته انجام شد [۱۷]. ابتدا در طول مرحله آشناسازی، به‌منظور

[1] Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

Archive of SID

www.SID.ir

خوگیری به شرایط آزمایشگاه، نوارگردان و دستکاری، حیوانات پنج روز در هفته به‌مدت ۱۵-۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. همچنین، به‌منظور سازگاری جهت آزمایش‌های رفتاری نیز حیوانات به‌مدت 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، به‌مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در محیط اصلی آزمایش قرار گرفتند [۱۸]. سرانجام، به‌منظور ثبت اولیه میزان رفتارهای درد، پس از اجرای اولیه آزمون‌ها، دیابت القا گردید. دو هفته پس از القا دیابت، با اجرای مجدد آزمون‌های رفتاری درد و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نوروپاتیک در گروه‌های دیابتی، پروتکل تمرین استقامتی تداومی به‌مدت شش هفته انجام گردید [۱۹]. تمام جلسات تمرینی در پایان چرخه خواب حیوانات و بین ساعت‌های ۱۶ تا ۱۸ عصر برگزار گردید. همچنین، به‌منظور اجتناب از عوامل مداخله‌گر نظیر آنتی‌نوسیسپشن القا شده توسط استرس، آزمایش‌های رفتاری نیز میان ساعت‌های ۷ تا ۱۰ صبح به‌عمل آمدند [۲۰].

القا دیابت

به‌منظور القا دیابت نوع اول، پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، محلول STZ (Sigma, St. Louis, MO؛ ۴۵ mg/Kg حل شده در بافر سیترات تازه ۰/۵ mol/L، pH:۴/۵) به‌صورت درون صفاقی تزریق گردید. به رت‌های غیردیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم رت‌ها، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده و نوار توسط دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت روشه آلمان) خوانده شد و رت‌هایی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰ mg/dL بود، به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند [۲۱]. لازم به ذکر است، با توجه به احتمال مرگ و میر و عدم دیابتی شدن ناشی از تزریق STZ ، تعداد ۱۲ رت جهت این کار در نظر گرفته شد که ۲ سر از آن‌ها پس از تزریق از بین رفتند و در نهایت از میان رت‌های باقی مانده، تعداد ۸ سر به‌عنوان گروه‌های تجربی در نظر گرفته شدند. با توجه به اینکه، میزان تزریق STZ و وزن حیوانات قبل از تزریق STZ، دو عامل مهمی هستند که پیدایش دیابت نوروپاتیک را به‌همراه دارند [۲۲]؛ لذا جهت کاهش حساسیت بیماری و اثرات جانبی به سطح قابل قبول [۲۳]، از کمترین میزان تزریق STZ و مطابق با وزن حیوانات [۸]، در مطالعه حاضر استفاده گردید. لازم به ذکر است که در پژوهش حاضر، پس از تزریق STZ، هیچ‌گونه از علائم ناشی از تزریق اشتباه، نظیر تورم شکم و مشکلات گوارشی در حیوانات مشاهده نگردید.

نحوه اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی[1]

به‌منظور اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی، حیوان بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار می‌گرفت. جهت عادت کردن حیوانات به محیط جدید، ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش، درون محفظه شفاف و بر روی صفحه مشبک قرار گرفتند. جهت سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف Von Fery در محدوده ۲ تا ۶۰ گرم (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶، ۶۰) ساخت شرکت USA، Stolting جهت سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع می‌شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به‌ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده گردید. چنانچه دو بار متوالی، پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزنه به‌عنوان آستانه پس کشیدن پنجه (PWT)[2] محسوب می‌شد و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی‌کرد. چنانچه حیوان به هیچ یک از تارها، از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد. همچنین، هر آزمایش سه بار و به تناوب حداقل سه دقیقه تکرار شد و میانگین آن‌ها به‌عنوان آستانه پس کشیدن پنجه منظور گردید [۲۴]. به‌طور کلی، سنجش آلودینای مکانیکی، قبل از تزریق STZ و ۱۴ روز پس از تزریق به‌عمل آمد. لازم به ذکر است که از این روش، به‌عنوان یک روش کارآمد

[1] Mechanical Allodynia
[2] Paw Withdrawal Threshold

Archive of SID
www.SID.ir

جهت سنجش رفتارهای درد نوروپاتیک [۲۵] و اثبات نوروپاتی حسی [۲۶] در مطالعات حیوانی استفاده شده است.

نحوه اندازه‌گیری هایپرآلژزیای حرارتی[1]

هایپرآلژزیای حرارتی با استفاده از روش Hargreaves و همکاران (۱۹۸۸) با کمی تغییر، مورد سنجش قرار گرفت [۲۷، ۲۸]. به‌طور خلاصه، با استفاده از دستگاه Radiant heat plantar test (Ugo Bassil, Italy) حیوانات در سه اتاقک از جنس پلکسی گلاس (طول ۲۲ cm × عرض ۲۲ cm × ارتفاع ۱۳.۳ cm) و بر روی یک صفحه پلکسی گلاس تمیز قرار گرفتند. پس از ۳۰ دقیقه سازگاری حیوان با محیط جدید، با جابه‌جایی 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 شده و با کشیدن پا، تابش نور قطع و تایمر متوقف گردید و با ثبت زمان تأخیر در پس کشیدن پنجه[2] (PWL) میزان تحمل حیوان نسبت به محرک آسیب‌رسان حرارتی مورد سنجش قرار گرفت. هر پا به‌طور متناوب و با فواصل پنج تا ده دقیقه، برای سه بار آزمایش شد و میانگین آن‌ها به‌عنوان آستانه درد حرارتی ثبت گردید. همچنین، جهت جلوگیری از آسیب بافت، Cut Off آزمایش ۲۲ ثانیه در نظر گرفته شد. به‌طور کلی، سنجش هایپرآلژزیای حرارتی قبل از تزریق STZ و ۱۴ روز پس از تزریق به‌عمل آمد. لازم به ذکر است که از این روش، به‌عنوان یک روش کارآمد جهت سنجش رفتارهای درد نوروپاتیک و اثبات نوروپاتی حسی [۲۸] در مطالعات حیوانی استفاده شده است.

پروتکل تمرینی

در پژوهش حاضر از سرعت تمرینی ۱۸-۱۰ متر در دقیقه معادل ۵۵-۵۰ درصد Vo2max و در عین حال کارآمد از لحاظ فیزیولوژیک [۲۹]، استفاده گردید؛ بدین صورت که گروه ورزشی در معرض تمرین نوارگردان با شدت متوسط برای پنج روز در هفته و به‌مدت شش هفته قرار گرفت. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به‌تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵-۱۴ متر در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵-۱۴ متر در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. جهت رسیدن سازگاری‌های به‌دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند [۳۰] (جدول۱).

جدول۱- برنامه تمرین

هفته	سرعت	مدت
اول	۱۰متر در دقیقه	۱۰ دقیقه
دوم	۱۰متر در دقیقه	۲۰ دقیقه
سوم	۱۴-۱۵متر در دقیقه	۲۰ دقیقه
چهارم	۱۴-۱۵متر در دقیقه	۳۰ دقیقه
پنجم	۱۷-۱۸متر در دقیقه	۳۰ دقیقه
ششم	۱۷-۱۸متر در دقیقه	۳۰ دقیقه

تعداد نمونه: ۱۶ سر رت صحرایی بالغ نر، آزمون آماری: تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معنی‌داری ۰/۰۰۵

استخراج نمونه

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش و سگمنت‌های نخاعی تشکیل دهنده عصب سیاتیک (L6-L4) [۳۰] که در رت، میان دنده‌های T10-T12 (۲۵-۲۰ mm) قرار گرفته‌اند [۳۱]، با برش در پایین‌ترین بخش ممکن بلافاصله استخراج گردید. سپس، بافت نخاع با استفاده از کانال مرکزی به‌عنوان شاخص، به بخش قدامی و خلفی تفکیک شد و بخش خلفی آن که حاوی نرون‌های حسی بود [۳۲]، در نیتروژن ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگه‌داری شدند.

[1] Thermal Hyperalgesia
[2] Paw Withdrawal Latency

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج RNA و سنتز cDNA

حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت نخاع به‌صورت جداگانه، جهت استخراج total RNA به نسبت یک به ده در QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به‌منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول حاصل در ۴ °C، ۱۰ min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس به نسبت یک به نیم با کلروفرم مخلوط و به‌مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول در ۴ °C، ۱۵ min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت یک به نیم با ایزوپروپانول مخلوط و به‌مدت ده دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ °C، ۱۰ min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰µL آب RNAS-Free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد (Eppendorff, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از ۱µg از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Mmulv transcriptase Reverse انجام گرفت.

Real time – PCR

جهت اندازه‌گیری سطوح بیان GSK-3β mRNA از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix syber green II انجام شد (Applied Biosystems, USA). مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰µL و هر واکنش به‌صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های GSK-3β و GAPDH در بانک ژنی NBCI و توسط شرکت ماکرو ژن (Macrogen Inc., Seoul, Korea) انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ گزارش شده است، ضمن اینکه از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه- ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ۱۰مدت یک دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های موردنظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Genes	Primer sequence	GenBank code
GSK3B	′-CAAAGCAGCTGGTCCGAGG -3′For: 5 ′- TCCACCAACTGATCCACACCAC-3′Rev: 5	
GAPDH	′-GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′For: 5 ′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT-3′Rev: 5	NM_017008

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (KS)، استفاده شد. همچنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تعیین معنی‌داری تفاوت بین متغیرها و تعامل آن‌ها از تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-20 انجام و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

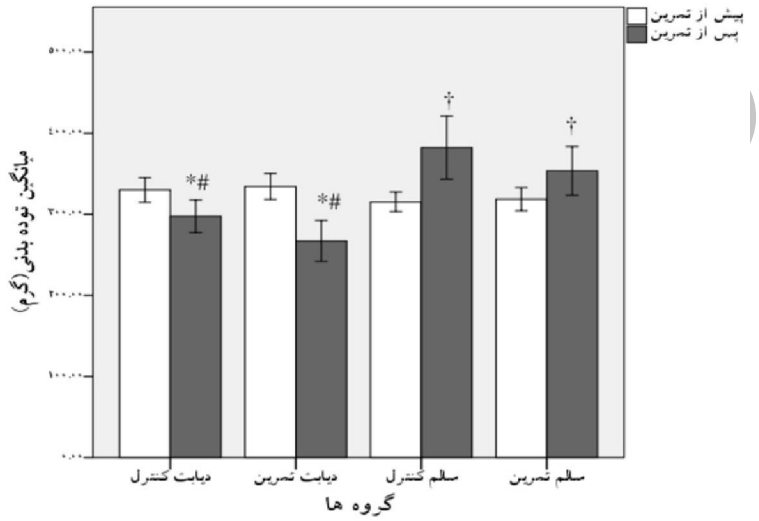
میانگین تغییرات وزن گروه‌های تمرین و کنترل نوروپاتی نسبت به گروه‌های تمرین و کنترل سالم به‌طور معنی‌داری کمتر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۰۰۱ و P=۰/۰۰۱)؛ همچنین میانگین وزن گروه نوروپاتی تمرین نسبت به گروه نوروپاتی کنترل به‌طور معناداری کمتر بود (P=۰/۰۴). اگرچه، میانگین وزن گروه سالم تمرین نسبت به گروه سالم کنترل کمتر بود، این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۰۱) (شکل ۱).

در آغاز برنامه تمرینی، غلظت گلوکز خون در گروه‌های نوروپاتی نسبت به گروه‌های سالم به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (P=۰/۰۰۰۱) و پس از ۶ هفته تمرین استقامتی تداومی نیز همچنان اختلاف معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۰۱)؛ همچنین در پایان برنامه تمرینی، غلظت گلوکز خون گروه

Archive of SID
www.SID.ir

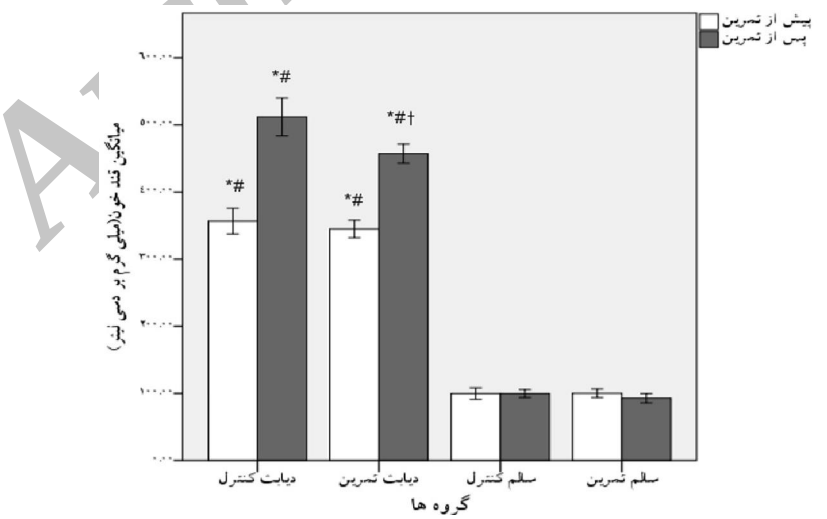
نوروپاتی تمرین به نسبت نوروپاتی کنترل به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۲).

تمام رت‌ها در گروه تمرینی توانستند شش هفته تمرین استقامتی تداومی را به‌طور مداوم انجام دهند. نتایج آنالیز واریانس دو طرفه (تمرین× دیابت) حاکی از اثر معنی‌دار تمرین و نوروپاتی بر بیان ژن GSK-3β بوده است (به‌ترتیب ۰/۰۱۶ و ۰/۰۰۰۱)؛ اما تفاوت معنی‌داری برای اثر متقابل تمرین و نروپاتی در بخش حسی نخاع مشاهده نشد (P=۰/۵۳۵). به‌علاوه نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن GSK-3β بین گروه سالم تمرین با گروه‌های نوروپاتی کنترل (P= ۰/۰۰۱) و نوروپاتی تمرین (P= ۰/۰۳۳) وجود دارد. از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های سالم کنترل و نوروپاتی کنترل دیده می‌شود (P= ۰/۰۰۷) (شکل۳). اما اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل سالم و گروه نوروپاتی تمرینی وجود نداشت.



شکل ۱- تغییرات توده بدن در گروه‌های مختلف

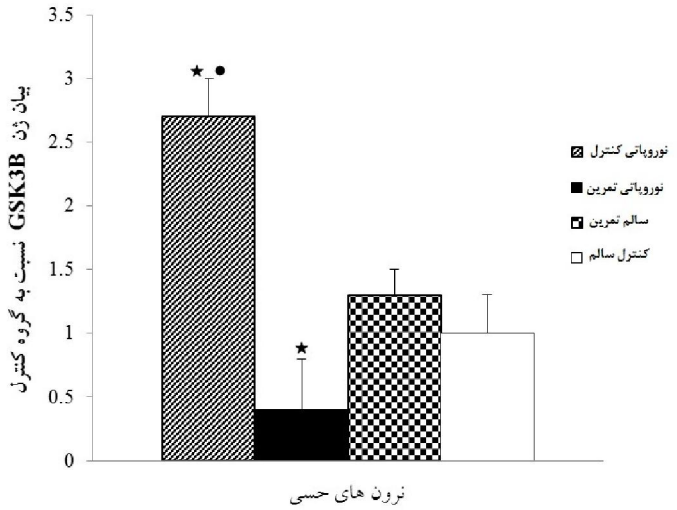
* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم کنترل (P≤۰/۰۱)، # اختلاف معنی‌دار با گروه سالم تمرین (P≤۰/۰۱)، † اختلاف معنی‌دار با گروه نوروپاتی کنترل (P≤۰/۰۱). تعدادنمونه: ۱۶ سر رت صحرایی بالغ نر آزمون آماری: تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معنی‌داری ۰/۰۰۵



شکل۲- تغییرات گلوکز پلاسما در گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم کنترل (P≤۰/۰۱)، # اختلاف معنی‌دار با گروه سالم تمرین (P≤۰/۰۱)، † اختلاف معنی‌دار با گروه دیابت کنترل(P≤۰/۰۱). تعداد نمونه: ۱۶ سر رت صحرایی بالغ نر آزمون آماری: تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معنی‌داری ۰/۰۰۵

Archive
www.SID.ir



شکل۳- میزان بیان ژن GSK-3β در بخش حسی نخاع بعد از دوره تمرینی در گروه‌های پژوهش

× اختلاف معنی‌دار با گروه گروه سالم تمرین (P≤۰/۰۱)، ● اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم (P≤۰/۰۱).

تعداد نمونه: ۱۶ سر رت صحرایی بالغ نر آزمون آماری: تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معنی‌داری ۰/۰۰۵

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر اثر ٦ هفته تمرین استقامتی تداومی بر بیان ژن GSK-3β در نخاع رت‌های با نوروپاتی دیابت مورد بررسی قرار گرفت؛ مشخص شد بیان این ژن در نتیجه تمرین استقامتی تداومی در گروه دیابت تمرینی در مقایسه با گروه دیابت بی‌تمرین کاهش یافته و این کاهش معنی‌دار بوده است. این کاهش احتمالاً به‌دلیل سازگاری ایجاد شده به تمرین استقامتی تداومی بوده است. تاکنون مطالعات بسیار کمی به بررسی اثر ورزش بر GSK-3β پرداخته‌اند. نتایج پژوهش‌های انجام شده، رابطه معنی‌داری بین تغییرات در بیان GSK-3β در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی و تمرین نشان داده است. برخی مطالعات کاهش این کیناز را با اجرای تمرین ورزشی در عضله دوقلو رت‌ها نشان داده‌اند و پیشنهاد کردند که این کاهش احتمالاً به‌دلیل افزایش فعالیت مسیرهای پیام‌رسانی Akt/mTOR بوده که یکی از مسیرهای فسفوریلاسیون و غیرفعال کننده GSK-3β می‌باشد [۱]. به‌علاوه تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که میزان بیان ژن GSK-3β در گروه دیابت بی‌تمرین به نسبت گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشت. این افزایش احتمالاً به‌دلیل آسیب عصبی ایجاد شده در اثر نوروپاتی دیابت بوده است. GSK-3β در پیام‌رسانی، بقا و توسعه نورون [۲] و گسترش دندریت‌ها و شکل‌گیری سیناپس‌ها در نورون‌های تازه متولد شده [۳] مشارکت می‌کند؛ بنابراین، این کیناز از اهمیت زیادی در سلول‌های عصبی برخوردار است و در صورت وجود نقص تنظیمی در مسیرهایی که GSK-3 به‌عنوان یک تنظیم کننده عمل می‌کند، شاهد توسعه بیماری‌های تخریب عصبی[1] نظیر دیابت و آلزایمر [۳۳] خواهیم بود. همچنین مطالعات انجام شده در مورد ارتباط GSK-3β با بیماری آلزایمر نشان می‌دهد که GSK-3 در تولید پلاک‌های بتا آمیلوئید دخالت دارد؛ که با دستکاری فعالیت GSK-3 می‌توان به یک راهبرد درمانی قابل قبول در مبارزه با آلزایمر دست یافت [۲۹، ۲٤]. همچنین مشخص شده است که مهار GSK-3 می‌تواند یک راهبرد درمانی بیماری ALS بوده و علائم بیماری و مرگ بیمار را به تعویق اندازد [۷]. اگرچه میزان بیان ژن GSK-3β در گروه دیابت تمرینی کمتر از کنترل سالم بود اما اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه دیده نشد. در واقع می‌توان گفت که تمرین باعث تعدیل بیان این ژن در گروهی که نوروپاتی دیابت داشتند شده و میزان بیان این ژن را تا حدود طبیعی آن کاهش داده است.

[1] Neurodegenerative disease

Archive of SID
www.SID.ir

در ارتباط با شناسایی سازوکارهای درگیر در بهبود عملکرد نورون‌های حسی در اثر تمرین ورزشی نیز مطالعات بسیاری انجام شده است. برای مثال، Chen و همکاران (۲۰۱۲) اثرات تمرین ورزشی بر بهبود عملکرد نورون‌های حسی را به کاهش بیان IL-1β و TNF-α و افزایش سطوح Hsp72 در عصب سیاتیک نسبت داده‌اند [۱۲]. Sharma و همکاران (۲۰۱۰) این موضوع را به افزایش وابسته به ورزش بیان mRNA و سطوح پروتئین NT-3 در عضله اسکلتی نسبت داده‌اند [۱۳]. این مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین ورزشی می‌تواند از طریق کاهش سایتوکاین‌های التهابی و پیش التهابی، افزایش محتوی اپیوئیدهای درون‌زا و عوامل نوروتروفیک، به بهبود وضعیت نورون‌های حسی بی‌انجامد. این در حالی است که نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین ورزشی با شدت متوسط موجب کاهش معنی‌دار غلظت گلوکز خون در گروه تمرین دیابتی شده است. مطالعات نشان می‌دهند که ورزش می‌تواند جهت کاهش سطوح گلوکز پلاسما در طول ورزش و پس از آن مفید واقع شود. به‌علاوه، نشان داده شده ورزش می‌تواند حساسیت انسولینی را نیز افزایش دهد [۱۲]. لذا در پژوهش حاضر، این احتمال می‌رود که ورزش از طریق اثراتی که بر کاهش غلظت گلوکز خون داشته است موجب توقف و یا تضعیف فرآیند آسیب در نورون‌های حسی رت‌های دیابتی تمرین کرده گردیده است. اگرچه این امر در تحقیق حاضر مستقیماً مورد بررسی قرار نگرفت ولی این نتیجه همسو با تحقیقاتی است که هایپرگلایسمی القا شده توسط STZ را در توسعه اختلالات حسی نوروپاتی دیابت سهیم دانسته‌اند و نشان داده‌اند که درمان انسولین می‌تواند به بهبود عملکرد نورون‌های حسی بیانجامد [۳۰، ۳۱].

به‌علاوه، مطالعات نشان می‌دهند که فشار اکسایشی، مهار آنزیم پیروات دهیدروژناز، نقصان در عملکرد و تعداد میتوکندری، کاهش سطوح ATP سلولی [۳٤] و افزایش سایتوکاین‌های التهابی نظیر TNF-α می‌توانند به‌عنوان عوامل بالادست به تنظیم افزایشی پروتئین کینازهای فعال شده توسط استرس بیانجامند؛ در حالی که تمام این اختلالات در نورون‌های حسی رت‌های دیابتی شده توسط STZ نیز مشاهده شده است [۵]. از سوی دیگر، مطالعات ثابت کرده‌اند که ورزش می‌تواند موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانی [۳۵]، افزایش بیوژنز میتوکندری و سطوح ATP سلولی در مغز [۳٦] و کاهش سایتوکاین‌های التهابی [۱۲] را به‌همراه داشته باشد. لذا این احتمال می‌رود که در پژوهش حاضر، تمرین استقامتی تداومی از طریق بهبود سطوح انرژی سلولی و کاهش سایتوکاین‌های التهابی، تنظیم کاهشی mRNA GSK-3β و بهبود عملکرد و ساختار نورون‌های حسی به همراه داشته است؛ اگر چه این موارد به‌طور مستقیم در پژوهش حاضر ارزیابی نشده‌اند و جهت اثبات این موضوع، نیاز به انجام مطالعات بیشتر است.

سازوکار غیر فعال کردن GSK-3 به‌وسیله تحریک انسولین احتمالاً مسیرهای فسفاتیدیل اینوزیتول۳ کیناز (PI3-K)، فسفاتیدیل اینوزیتول فسفاتاز ۳و٤و۵ وابسته به پروتئین کیناز ۱ و Akt (یا پروتئین کیناز B) را درگیر می‌کند. PI3-K به‌عنوان تنظیم کننده بالادست Akt می‌باشد. شواهد قوی وجود دارد که Akt با فسفوریلاسیون بخش سرین، موجب غیرفعال شدن GSK-3 می‌شود [۳۷].

تغییرات ایجاد شده در اثر تمرین ورزشی در نورون‌های حرکتی بازتابی از تغییرات ایجاد شده در متابولیسم انرژی، فعالیت لیزوزومی، بیوسنتز RNA [۳۸]، افزایش انتقال آکسوپلاسمی استیل کولین [۱۸]، و افزایش نرخ جوانه زنی عصبی به‌دنبال برش عصبی است [۱۵]. فعالیت ورزشی منظم موجب بهبود عملکردهای مغزی نظیر ادراک می‌گردد [۱٦] و شکل پذیری مغز [۱۵]، سیستم ضد اکسایشی، تنظیم افزایشی نروتروفین‌ها را ارتقا می‌بخشد و از آپوپتوزیز سلول‌های عصبی جلوگیری می‌کند [۳۹، ۲۵]. ورزش همچنین می‌تواند بیوسنتز RNA [۱۹]، افزایش انتقال آکسوپلاسمی استیل کولین [۲۳]، و افزایش نرخ جوانه زنی عصبی به‌دنبال برش عصبی را به‌همراه داشته باشد [۲٤]. ورزش مزمن قادر است تغییراتی را در نورون‌های حرکتی ایجاد نماید که عبارت‌اند از: افزایش نرخ نوزایش آکسون، افزایش انتقال آکسوپلاسیمی [۳۵، ۱۳]، و بهبود عملکرد سیناپسی [۱٤]. گزارش شده فعالیت ورزشی حاد و مزمن، تغییراتی در متابولیسم نورون‌های حرکتی ایجاد می‌کنند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که

Archive of SID

www.SID.ir

نورون‌های حرکتی به فعالیت کاهش یا افزایش یافته از لحاظ بیوشیمیایی سازگار می‌شوند. چنین تغییرات بیوشیمیایی ممکن است به حفظ بقای نورون‌های حرکتی کمک کنند [۴۰]. به‌علاوه نتایج پژوهش‌هایی که به بررسی اثر ورزش بر GSK-3β پرداخته‌اند، رابطه معنی‌داری بین تغییرات در بیان GSK-3β در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی و تمرین نشان داده است. برخی مطالعات کاهش این کیناز را با اجرای تمرین ورزشی در عضله دوقلوی رت‌ها نشان داده‌اند [۱].

به‌طور خلاصه با توجه به نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان گفت که بیان ژن GSK-3β در بخش حسی تحت تأثیر نوروپاتی دیابت قرار گرفته و میزان بیان آن افزایش یافته است. همچنین تمرین استقامتی تداومی توانسته است تأثیر مثبتی را در تعدیل بیان این ژن داشته باشد؛ چرا که میزان بیان GSK-3β در گروه نوروپاتی تمرین نسبت به دیگر گروه‌ها کاهش معنی‌دار داشته است.

لذا می‌توان عنوان کرد که در نوروپاتی دیابت افزایش بیان GSK-3β آسیب و تخریب عصب حسی نخاع را تسریع می‌کند؛ از سوی دیگر تمرین استقامتی تداومی می‌تواند میزان بیان این ژن را در بخش حسی نخاع کاهش داده و از تخریب پیشرونده عصبی جلوگیری کند. احتمالاً می‌توان تمرین استقامتی تداومی را به‌عنوان یک راهبرد مؤثر درمانی نوروپاتی دیابت، به‌وسیله کاهش بیان ژن GSK-3β تلقی کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از آزمایشگاه گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ابراز می‌دارند. این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

مآخذ

1. Aschenbach WG, Ho RC, Sakamoto K, Fujii N, Li Y, Kim Y-B, et al. Regulation of dishevelled and β-catenin in rat skeletal muscle: an alternative exercise-induced GSK-3β signaling pathway. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2006; 291(1):E152-E8.
2. Cai Q, Sheng Z-H. Moving or stopping mitochondria: Miro as a traffic cop by sensing calcium. *Neuron* 2009; 61(4):493-6.
3. Aschenbach WG, Suzuki Y, Breeden K, Prats C, Hirshman MF, Dufresne SD, et al. The muscle-specific protein phosphatase PP1G/RGL (GM) is essential for activation of glycogen synthase by exercise. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 276(43):39959-67.
4. Wattiez A, Barrière D, Dupuis A, Courteix C. Rodent Models of Painful Diabetic Neuropathy: What Can We Learn from Them. *J Diabetes Metab S*. 2012; 5.
5. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacology & therapeutics* 2008; 120(1):1-34.
6. Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes & development* 1997; 11(24):3286-305.
7. Calcutt NA, Freshwater JD, O'Brien JS. Protection of sensory function and antihyperalgesic properties of a prosaposin-derived peptide in diabetic rats. *Anesthesiology* 2000; 93(5):1271-8.
8. Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Pain Research: Springer* 2004; p. 55-65.
9. Centeno C, Repici M, Chatton J, Riederer B, Bonny C, Nicod P, et al. Role of the JNK pathway in NMDA-mediated excitotoxicity of cortical neurons. *Cell Death & Differentiation* 2006; 14(2):240-53.
10. Wan W, Xia S, Kalionis B, Liu L, Li Y. The Role of Wnt Signaling in the Development of Alzheimer's Disease: A Potential Therapeutic Target? *BioMed research international* 2014; 2014.
11. Rahmati M, Khazani A, Gharakhanlou R, Movaheddin M, Manaheji H. Chronic effects of moderate intensity endurance training on neuropathic pain symptoms in diabetic rats. *Physiology and Pharmacology* 2013; 16(4):435-45.
12. Chen Y-W, Li Y-T, Chen YC, Li Z-Y, Hung C-H. Exercise training attenuates neuropathic pain and cytokine expression after chronic constriction injury of rat sciatic nerve. *Anesthesia & Analgesia* 2012; 114(6):1330-7.
13. Sharma NK, Ryals JM, Gajewski BJ, Wright DE. Aerobic exercise alters analgesia and neurotrophin-3 synthesis in an animal model of chronic widespread pain. *Physical therapy* 2010; 90(5):714-25.
14. Frame S, COHEN P. GSK3 takes centre stage

Archive of SID
www.SID.ir

more than 20 years after its discovery. *Biochem J*. 2001; 359:1-16.
15. Collino M, Aragno M, Castiglia S, Tomasinelli C, Thiemermann C, Boccuzzi G, et al. Insulin Reduces Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in the Hippocampus of Diabetic Rats A Role for Glycogen Synthase Kinase-3β. *Diabetes* 2009; 58(1):235-42.
16. Detera-Wadleigb SD. Lithium-related genetics of bipolar disorder. *Annals of medicine* 2001; 33(4):272-85.
17. Dill J, Wang H, Zhou F, Li S. Inactivation of glycogen synthase kinase 3 promotes axonal growth and recovery in the CNS. *The Journal of Neuroscience* 2008; 28(36):8914-28.
18. Davis RJ. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Inflammatory Processes: Springer* 2000; p. 13-21.
19. Doble BW, Woodgett JR. GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *Journal of cell science* 2003; 116(7):1175-86.
20. Eldar-Finkelman H. Glycogen synthase kinase 3: an emerging therapeutic target. *Trends in molecular medicine* 2002; 8(3):126-32.
21. Embi N, Rylatt DB, Cohen P. Glycogen Synthase Kinase-3 from Rabbit Skeletal Muscle. *European Journal of biochemistry* 1980; 107(2):519-27.
22. Cross DA, Culbert AA, Chalmers KA, Facci L, Skaper SD, Reith AD. Selective small-molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 activity protect primary neurones from death. *Journal of neurochemistry* 2001; 77(1):94-102.
23. Frame S, Cohen P, Biondi RM. A common phosphate binding site explains the unique substrate specificity of GSK3 and its inactivation by phosphorylation. *Molecular cell* 2001; 7(6):1321-7.
24. Grimes CA, Jope RS. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3β in cellular signaling. *Progress in neurobiology* 2001; 65(4):391-426.
25. Hall AC, Brennan A, Goold RG, Cleverley K, Lucas FR, Gordon-Weeks PR, et al. Valproate regulates GSK-3-mediated axonal remodeling and synapsin I clustering in developing neurons. *Molecular and Cellular Neuroscience* 2002; 20(2):257-70.
26. Prodanov D, Feirabend HK. Morphometric analysis of the fiber populations of the rat sciatic nerve, its spinal roots, and its major branches. *Journal of Comparative Neurology* 2007; 503(1):85-100.
27. 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.
28. Hongisto V, Vainio JC, Thompson R, Courtney MJ, Coffey ET. The Wnt pool of glycogen synthase kinase 3β is critical for trophic-deprivation-induced neuronal death. *Molecular and cellular biology* 2008; 28(5):1515-27.
29. Kuhad A, Chopra K. Attenuation of diabetic nephropathy by tocotrienol: involvement of NFkB signaling pathway. *Life sciences* 2009; 84(9):296-301.
30. Liu S, Bréjot T, Cressant A, Bacci J, Saïd G, Tadié M, et al. Reinnervation of hind limb extremity after lumbar dorsal root ganglion injury. *Experimental neurology* 2005; 196(2):401-12.
31. Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Progress in neurobiology* 1999; 57(1):1-164.
32. Pan J, Li H, Ma J-F, Tan Y-Y, Xiao Q, Ding J-Q, et al. Curcumin inhibition of JNKs prevents dopaminergic neuronal loss in a mouse model of Parkinson's disease through suppressing mitochondria dysfunction. *Transl Neurodegener* 2012; 1(1):16.
33. Alkon DL, Sun M-K, Nelson TJ. PKC signaling deficits: a mechanistic hypothesis for the origins of Alzheimer's disease. *Trends in pharmacological sciences* 2007; 28(2):51-60.
34. Zochodne D, Ramji N, Toth C. Neuronal targeting in diabetes mellitus: a story of sensory neurons and motor neurons. *The Neuroscientist* 2008; 14(4):311-8.
35. Rossi DM, Valenti VE, Navega MT. Exercise training attenuates acute hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetic female rats. *Clinics* 2011; 66(9):1615-9.
36. Carra S, Crippa V, Rusmini P, Boncoraglio A, Minoia M, Giorgetti E, et al. Alteration of protein folding and degradation in motor neuron diseases: Implications and protective functions of small heat shock proteins. *Progress in neurobiology* 2012; 97(2):83-100.
37. Chen G, Huang LD, Jiang YM, Manji HK. The Mood-Stabilizing Agent Valproate Inhibits the Activity of Glycogen Synthase Kinase-3. *Journal of neurochemistry* 2000; 72(3):1327-30.
38. Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. *Neuroscience*. 1999; 89(4):1229-39.
39. Bijur GN, Jope RS. Glycogen synthase kinase-3 [beta] is highly activated in nuclei and mitochondria. *Neuroreport* 2003; 14(18):2415-9.
40. Sluka KA, Rasmussen LA. Fatiguing exercise enhances hyperalgesia to muscle inflammation. *Pain* 2010; 148(2):188-97.

Archive of SID

www.SID.ir

THE EFFECT OF CONTINUES ENDURANCE TRAINING ON THE GENE EXPRESSION OF GSK-3B IN THE SENSORY AREAS OF THE SPINAL CORD OF MALE WISTAR RATS WITH DIABETIC NEUROPATHY

Faranak Sadeghipour[1], Reza Gharakhanlou[1*], Mansoureh Movahedin[2], Masoud Rahmati[3]

1. Department of Physical education and sport sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of Anatomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Department of Physical education and sport sciences, Lorestan University, Lorestan, Iran

ABSTRACT

Background: Glycogen synthase kinase 3 beta is a key regulator of many signaling pathways. It is reported that Inhibition of this kinase results neuronal survival. Accordingly in this study we investigated the effect of endurance training on the gene expression of GSK-3β in the sensory areas of the spinal cord of male Wistar rats with diabetic neuropathy.
Methods: we randomly assigned 16 male Wistar rats into four groups: healthy control, healthy trained, neuropathy control, neuropathy trained. Intraperitoneal injection of a STZ (streptozotocin) solution (45 mg/kg) was used to induce diabetes. At two weeks after STZ injections, the mechanical allodynia and thermal hyperalgesia tests demonstrated the presence of diabetic neuropathy. A moderate endurance training protocol was performed for a six- week period. At 24 hours after the final training session, the rats were sacrificed and the L4-L6 sensory neurons of the spinal cord tissue were removed. GSK-3β mRNA expression was performed using real time-PCR.
Results: Statistical analysis shows that neuropathy trained experiences a decrease in gene expression in comparison to neuropathy control (P=0.02). On the other there was significant difference between healthy control and neuropathy control (P=0.02). However, there was no significant difference between healthy control and neuropathy trained.
Conclusion: we claim that endurance training will effectively decrease the expression of GSK-3β in the sensory areas of spinal cord of male Wistar rats with diabetic neuropathy. Endurance training as a non- pharmacotherapy strategy can modulate and return GSK-3β to approximate normal levels.

Keywords: GSK-3β, diabetic neuropathy, sensory areas of spinal cord, endurance training

Archive of SID

* Tehran, Jalal Al-Ahmad Highway, Nasr bridge, Tarbiat Modares university, school of human sciences, tel: 02182884646, Email: ghara_re@modares.ac.ir

www.SID.ir