دریافت:۹۴/۰۵/۲۸ پذیرش:۹۴/۰۸/۱۲ ص ص:۶۶-۴۹

تاثیر تمرین استقامتی بر بیان mRNA نروتروفین-۳ در عضله سولئوس موش‌های صحرایی دارای نروپاتی دیابت

دکتر سارا برمکی[۱]، دکتر علی اصغر رواسی[۲]، دکتر رضا قراخانلو[۳]، دکتر محمدرضا کردی[۴]، دکتر رسول اسلامی[۵]، دکتر علی خازنی[۶]

چکیده

سابقه و هدف: نروپاتی دیابت می تواند منجر به اتروفی عضلانی و ضعف در عضلات تحتانی ناشی از تخریب عصبی شود کاهش حمایت تروفیکی یکی از دلایل بروز و پیشرفت نروپاتی دیابت است. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تاثیر تمرین استقامتی بر بیان mRNA نروتروفین-۳ (NT-3) در عضله سولئوس موش‌های صحرایی دارای نروپاتی دیابت بود.

مواد و روش ها: ۲۴ سر موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار به طور تصادفی در چهار گروه شش تایی: دیابت تمرین نکرده، دیابت تمرین کرده، سالم تمرین نکرده و سالم تمرین کرده قرار گرفتند. جهت القا دیابت، از روش تزریق درون صفاقی محلول STZ (۴۵ mg/Kg) استفاده گردید. ۲هفته پس از تزریق STZ، با اثبات نروپاتی دیابت توسط آزمون های آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیا حرارتی، پروتکل تمرین استقامتی با شدت متوسط به مدت ۶ هفته اجرا گردید. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها تشریح و عضله سولئوس استخراج گردید. بیان mRNA نروتروفین-۳ نیز به روش Real time-PCR بررسی شد.

یافته ها: بین هایپرآلژزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی با سطوح استراحتی گلوکز خون همبستگی معنی دار مشاهده شد (به ترتیب r= -۶۸٪، p=۰/۰۰۱؛ r= -۸۲٪، p=۰/۰۰۱). تمرین استقامتی با شدت متوسط، موجب کاهش معنی دار آلودینیا مکانیکی، پردردی حرارتی و سطوح گلوکز خون موش‌ها دیابتی گردید. دیابت بیان ژن NT-3 را در عضله سولئوس افزایش داد (P=۰/۰۰۱)؛ که تمرین این تغییرات را تعدیل و کاهش داد (P=۰/۰۱). همچنین تمرین باعث افزایش بیان ژن NT-3 در موش‌های سالم شد (P=۰/۰۳).

نتیجه گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد، یکی از عوامل احتمالی درگیر در نروپاتی دیابت، می‌تواند ناشی از تغییر در عوامل تروفیکی باشد که افزایش میزان mRNA نروتروفین-۳می تواند یک پاسخ جبرانی در کاهش حمایت تروفیکی باشد که تمرین هوازی می تواند به عنوان یک راهبرد غیر دارویی، این تغییرات را تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: نروپاتی دیابت، عضله سولئوس، تمرین استقامتی، نروتروفین ۳، بیان ژن.

۱ استادیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم انسانی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران.
۲ استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳ استاد گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴ دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۵ استادیارگروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه علامه طباطبایی، تهران، ایران
۶ استادیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم انسانی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران.

مقدمه

دیابت یکی از بیماری های متابولیکی رایج در جهان است که عوارض وخیمی نظیر نفروپاتی (nephropathy)، نروپاتی (neuropathy)، رتینوپاتی (retinopathy)، مشکلات قلبی – عروقی، اختلالات معده ای–روده ای، نقصان در سیستم ایمنی و آتروفی عضله اسکلتی را به همراه دارد (۱). نروپاتی ناشی از دیابت بیماری شایعی است که اعصاب محیطی (DPN[۱]) را درگیر کرده که ۵۰ تا ۷۵ درصد افراد دیابتی از آن رنج می‌برند. مدل دیابت بوسیله استرپتوزوتوسین[۲](STZ) بصورت وسیعی در پژوهش های تجربی جهت DPN استفاده شده است (۲). کاهش حمایت تروفیکی یکی از دلایل بروز نروپاتی دیابت است که اخیراً مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. هم چنین نتایج پژوهش های پیشین دلالت بر کاهش حمایت تروفیکی در بیماران نروپاتی دیابت دارد (۳،۴). از این رو، مطالعه و بررسی روش‌هایی که بتواند این کاهش در حمایت تروفیکی را جبران کند از اهمیت بالایی برخوردار است.

نروتروفین–۳ (NT-3) یکی از فاکتورهای نروتروفیک است که شامل گروه نامتجانسی از ملکول‌های تولید شده توسط نرون‌ها، سلول‌های شوان، پایانه‌های عصبی و عضلات هدف می باشد. عضلات اسکلتی از جمله بافت‌های هدف هستند که نروتروفین تولید می‌کنند (۷–۵). NT-3 نقش حیاتی و ارتباطی بین شکل پذیری سیستم عصبی مرکزی و بازسازی نخاع و عضله دارد. دیابت ناشی از STZ باعث کاهش در میزان بیان و محتوای پروتئین NT-3 در عضله شدکه منجر به کاهش انتقال رو به عقب اکسونی به سمت جسم سلولی و کاهش حمایت نروتروفیکی می شود (۵). از طرفی درمان با NT-3 باعث بهبود سرعت هدایت عصبی در اعصاب حسی و حرکتی موش ها دیابتی شده است (۱۰–۸). مطالعات کاهش سطوح NT-3 mRNA وNGF[۳] و نیز پروتئین NGF در عضلات دیابتی را گزارش کردند (۷،۱۱). اگر چه برخی از پژوهش‌ها افزایش در بیان تعدادی از عوامل تروفیکی در عصب سیاتیک، پوست و عضله را مشاهده کردند (۱۲). بنابراین، از آنچه تا کنون گفته شد می‌توان نتیجه گرفت که نروپاتی دیابت نروتروفین‌های عضلات هدف را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۵–۱۳).

مشخص شده است که تمرین ورزشی مورفولوژی پیوندگاه عصبی عضلانی را تحت تاثیر قرار داده و جوانه-زنی آکسون را ترغیب می‌کند (۱۸–۱۶). احتمال دارد که فاکتور عقب‌گرا مشتق از عضله[۴] کاندید تعدیل تغییر شکل و تغییرات ناشی از فعالیت در اتصال عصبی عضلانی باشد (۱۳،۱۴،۱۹). افزایش در بیان NT-3 و گیرنده های تیروزین کینازی اختصاصی آن (Trk-c) را در عضله سولئوس موش‌ها نرمال طی تمرین گزارش کردند (۲۴–۲۰). تنظیم افزایش تمرین ورزشی در برخی از عوامل نروتروفیکی مانند BDNF[۵] و NGF در نمونه های دیابتی گزارش شده است (۲۷–۲۵)؛ در حالی که هنوز تاثیر تمرین بر بیان NT-3 در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی مشخص نیست. بنابراین، باتوجه به این فرضیه که بیان عوامل نروتروفیک در عضله اسکلتی به سبب نروپاتی DPN[۶] تغییر می‌کند ما انتظار داریم این تغییرات با افزایش قابلیت حرکتی و فعالیت بدنی در شرایط دیابت

۱-Diabetic peripheral neuropathy
۲- Streptozotocin
۳- Nerve growth factor
۴- Muscle-derived retrograde factor
۵- Brain-derived neurotrophic factor
۶- Diabetic peripheral neuropathy

دیابت تنظیم مثبت یا تعدیل شوند. از این رو، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن نروتروفین-۳ عضله سولئوس موش‌های نر ویستار دارای نروپاتی دیابت بود.

مواد و روش ها

در پژوهش حاضر ۲۴ سر موش صحرایی بالغ نر ۱۰ هفته ای 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 موش ها در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش نگهداری گردیدند. در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات توسط کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس مورد بررسی و تایید قرار گرفته است. پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط جدید و رسیدن به وزن مطلوب ۸/۴±۳۲۶/۳ گرم، به طور تصادفی در چهار گروه شش تایی قرار گرفتند: گروه اول (گروه دیابت تمرین کرده)، گروه دوم (گروه دیابت تمرین نکرده) و گروه سوم (گروه سالم تمرین نکرده) و گروه چهارم(گروه سالم تمرین کرده). ۲ هفته پس از القا دیابت، آزمایشات رفتاری درد نروپاتیک به عنوان شاخص عملکرد نرون های حسی اجرا گردید و پس از اطمینان یافتن از حصول نروپاتی حسی، پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۶ هفته انجام شد (۸،۲۰،۲۶). ابتدا در طول مرحله آشنا سازی، به منظور سازگاری به شرایط آزمایشگاه، نوارگردان و دستکاری، حیوانات پنج روز در هفته به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. همچنین، به منظور سازگاری جهت آزمایشات رفتاری نیز حیوانات به مدت ۳ روز در معرض آزمایشات رفتاری (۲ بار برای هر آزمایش) قرار می گرفتند. بدین صورت که حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه رفتار درد، بدون اجرای واقعی آزمایش، به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در محیط اصلی آزمایش قرار می گرفتند(۲۸). سرانجام، به منظور ثبت اولیه میزان رفتارهای درد، پس از اجرای اولیه آزمون ها، دیابت القا گردید. ۲ هفته پس از القا دیابت، با اجرای مجدد آزمون های رفتاری درد و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نروپاتیک در گروه های دیابتی، پروتکل تمرین استقامتی به مدت ۶ هفته انجام گردید (۲۸). تمام جلسات تمرینی در پایان سیکل خواب حیوانات و بین ساعت های ۱۶ تا ۱۸ عصر برگزار گردید. همچنین، به منظور اجتناب از عوامل مداخله گر نظیر آنتی‌نوسیسپشن القا شده توسط استرس، آزمایشات رفتاری نیز میان ساعت های ۷ تا ۱۰ صبح به عمل آمدند(۲۶).

القاء دیابت

به منظور القا دیابت، 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) به صورت درون صفاقی تزریق گردید. به موش های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم یک قطره خون روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و توسط دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت روشه آلمان) خوانده شد و موش‌هایی که قند خون آنها بالاتر از ۳۰۰ mg/dL بود، به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند(۸).

نحوه اندازه گیری آلودینیای مکانیکی

به منظور اندازه گیری آلودینیای مکانیکی، حیوان روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی متر قرار می گرفت. جهت عادت کردن حیوانات به محیط جدید،۳۰ دقیقه قبل از

آزمایش، درون محفظه شفاف و بر روی صفحه مشبک قرار می گرفتند. جهت سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف Von Fery در محدوده ۲ تا ۶۰ گرم، ساخت شرکت Stolting،USA جهت سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع می شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده می گردد. چنانچه ۲ بار متوالی، پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزنه به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه Paw Withdrawal Threshold (PWT) محسوب می شد و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی کرد. چنانچه حیوان به هیچ یک از تارها، از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می شد. همچنین، هر آزمایش ۳ بار و به تناوب حداقل ۳ دقیقه تکرار شد و میانگین آنها به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه منظور گردید (۸). به طور کلی، سنجش آلودینا مکانیکی، قبل از تزریق STZ و ۱۴ روز پس از تزریق به عمل آمد.

نحوه اندازه گیری هایپرآلژزیای حرارتی

هایپرآلژزیای حرارتی با استفاده از روش Hargreaves و همکاران (۱۹۸۸) با کمی تغییر مورد سنجش قرار گرفت (۲۹). به طور خلاصه، با استفاده از دستگاه Radiant heat plantar test (UgoBassil, 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 می گرفتند. پس از ۳۰ دقیقه سازگاری حیوان با محیط جدید، با جابه جایی منبع متحرک تابش نور حرارتی، بخش میانی کف پای حیوان از میان سطح پلکسی گلاس در معرض تشعشع ثابت حرارتی قرار می گرفت. پس از تابش نور حرارتی توسط دستگاه به کف پای حیوان، تایمر فعال می شد و با کشیدن پا، تابش نور قطع و تایمر متوقف می گردید و با ثبت زمان تاخیر در پس کشیدن پنجه Paw Withdrawal Latency (PWL) میزان تحمل حیوان نسبت به محرک آسیب رسان حرارتی مورد سنجش قرار می گرفت. هر پا به طور متناوب و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه، برای سه بار آزمایش می شد و میانگین آنها به عنوان آستانه درد حرارتی ثبت می‌گردید. همچنین، جهت جلوگیری از آسیب بافت، ۲۲ ثانیه برای جداسازی بافت در نظر گرفته شد. به طور کلی، سنجش هایپرآلژزیا حرارتی قبل از تزریق STZ و ۱۴ روز پس از تزریق به عمل آمد.

پروتکل تمرین

در پژوهش حاضر از شدت تمرینی متوسط (۶۰ –۷۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) و در عین حال کارآمد از لحاظ فیزیولوژیک، استفاده گردید؛ بدین صورت که گروه ورزشی در معرض تمرین نوارگردان با شدت متوسط برای ۵ روز در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفت. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵–۱۴ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵–۱۴ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸–۱۷ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. جهت رسیدن سازگاری‌های بدست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند (۲۶).

استخراج نمونه

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش و عضله سولئوس را جدا نموده و در نیتروژن ۸۰– منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA

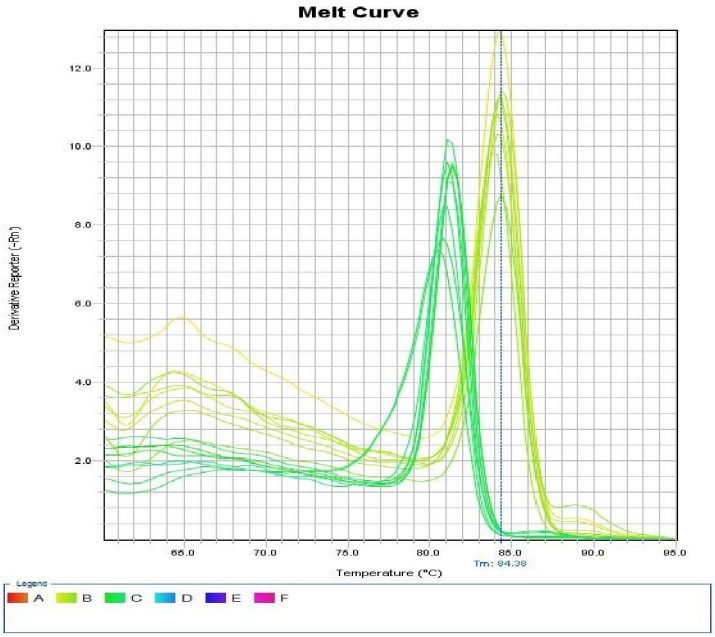
استخراج RNA بوسیله QIAzol®Lysis Reagent (Qiagen, Hilden, Germany) و کلروفرم (Qiagen) به روش دستی و طبق دستور العمل شرکت سازنده انجام شد. بدین صورت که حدود ۵۰ میلی گرم بافت عضله سولئوس به صورت جداگانه، جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol®Lysis Reagent به روش هاون کوبی هموژن گردید و به منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول حاصل در0C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در 0C ۴، ۱۵min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در0C ۴، ۱۰min، ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در Lμ20 آب RNAS-Free حل گردید.غلظت RNA مورد سنجش واقع شد (Eppendorff, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از QuantiTect Reverse Transcription kit(Qiagen)و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

Real time – PCR

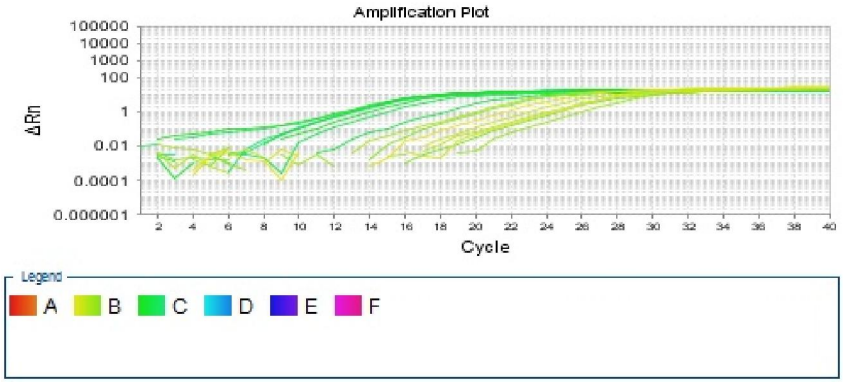
جهت اندازه گیری سطوح بیان mRNAنروتروفین ۳از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primixsyber green II انجام شد (USAApplied Biosystems Step One,). مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰Lμ (شامل ۱ Lμ،cDNA ۱ Lμ پرایمر Forward، ۱ Lμ پرایمر Reverse، ۷ Lμ آب Depc و ۱۰ Lμ syber green) و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن های NT-3و GAPDH در بانک ژنی NBCI و توسط شرکت کیاژن (Qiagen, Hilden, Germany) انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است، ضمن این که از GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده گردید. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل: ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه– ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. نمودار Melt (شکل ۱) جهت بررسی صحت داده ها و نمودار استاندارد (شکل ۲) به منظور بهینه سازی شرایط آزمایش رسم گردید و بیان داده ها توسط نسبت بیان ژن NT-3 به ژن مرجع محاسبه گردید. میزان بیان ژن های موردنظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه گیری شد (۲۰).

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر.

Genes	Primer sequence	GenBank code
نروتروفین-۳ (neurotrophin-3)	For: 5′- CTGTGGGTGACCGACAAGTC -3′ Rev: 5′- AAGTCAGTGCTCGGACGTAGG -3′	NM_001270868
GAPDH	For: 5′- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′ Rev: 5′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3′	NM_017008



نمودار ۱: نمونه نمودار منحنی دمای ذوب نروتروفین-۳ (خط زرد رنگ یا منحنی دوم) و ژن GAPDH (خط سبز منحنی اول). وجود یک انحنا در این نمودار نشان دهنده دمای ذوب منحصر است که عدم وجود آلودگی و عملکرد اختصاصی پرایمر ها را نشان می دهد.



نمودار۲: بیان ژن نروتروفین-۳ (خط زرد رنگ یا خطوط دوم) و ژن GAPDH (خط سبز یا خطوط اول).

تجزیه و تحلیل آماری:

برای مقایسه گروه ها در متغیرهای مورد مطالعه از تحلیل واریانس دو طرفه استفاده شد. جهت انجام آزمونهای تکمیلی، آزمون پیگیر LSD به عمل آمد. سطح معنی‌دار نیز P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS/Win نسخه ۱۹ انجام گرفت.

یافته ها

نتایج این مطالعه نشان داد وزن اولیه گروه ها اختلاف معنی دار با یکدیگر نداشتند (p=۰/۷). اما در پایان پژوهش، میانگین تغییرات وزن گروه تمرین و کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم به طور معنی دار کمتر بود ((P<۰/۰۵). همچنین، میانگین وزن گروه دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معنی دار کمتر بود (p=۰/۰۴) (جدول ۲).

در شروع برنامه تمرینی غلظت گلوکز خون در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه سالم به طور معنی‌دار بالاتر بود (P<۰/۰۵) و پس از ۶ هفته تمرین استقامتی نیز همچنان از اختلاف معنی‌دار برخوردار بود (P<۰/۰۵). همچنین، در پایان برنامه تمرینی، اگر چه غلظت گلوکز خون در گروه های دیابتی همچنان افزایش یافته بود، اما پس از طی ۶ هفته تمرین استقامتی، غلظت گلوکز خون در گروه دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معنی دار پایین تر بود (P<۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول ۲: مقادیر تغییرات وزن بدن و گلوکز خون در گروه های مورد مطالعه.

متغیر	گروه	قبل از تمرین	بعد از تمرین
		میانگین± انحراف استاندارد	میانگین± انحراف استاندارد
وزن بدن (گرم)	دیابت کنترل*#	۳۳۰±۱۶/۳	۲۹۷/۶±۲۱/۷
	دیابت تمرین کرده*#†	۳۳۴/۳±۱۷/۲	۲۶۷/۱±۲۷/۴
	سالم کنترل	۳۱۵/۲۹±۱۳	۳۸۲/۱±۴۲
	سالم تمرین کرده	۳۱۸/۶±۱۵/۴	۳۵۳/۶±۳۲/۵
سطح گلوکز خون (ng/ml)	دیابت کنترل*#	۳۵۶/۷±۲۰/۸	۵۱۱/۹±۳۰/۵
	دیابت تمرین کرده*#†	۳۴۵±۱۴/۲	۴۵۷/۴±۱۵/۳
	سالم کنترل	۹۹/۷±۹/۷	۹۹/۸±۶/۵
	سالم تمرین کرده	۱۰۰/۳±۶/۹	۹۲/۸±۷/۶

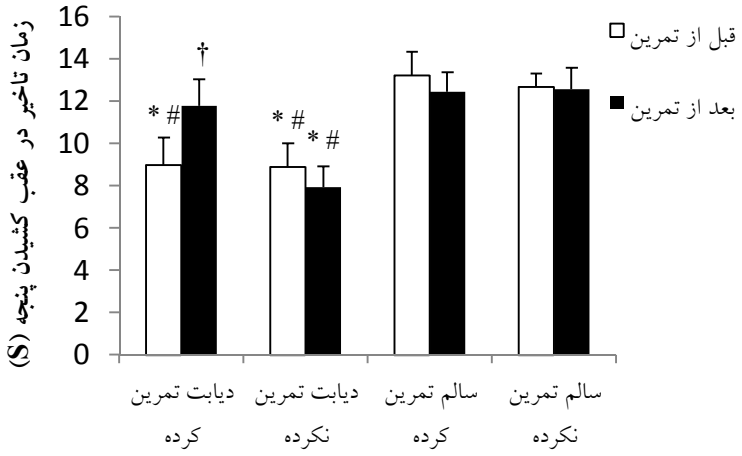
* اختلاف معنی دار با گروه سالم تمرین نکرده(p<۰/۰۱)، # اختلاف معنی دار با گروه سالم تمرین کرده (p<۰/۰۱)، † اختلاف معنی دار با گروه دیابت تمرین نکرده(p<۰/۰۱).

تمام موش ها در گروه تمرینی توانستند ۶ هفته تمرین استقامتی را به طور مداوم انجام دهند. نتایج آنالیز واریانس دو طرفه (تمرین×دیابت) حاکی از اثر معنی دار تمرین بر mRNA نروتروفین-۳(p=۰/۰۰۳، F=۸/۲۹) و اثر تعاملی (p=۰/۰۰۱، F=۳۷/۸۶) بین دو متغیر فوق بود.

میانگین تغییرات زمان تاخیر در پس کشیدن پنجه (PWL) در آزمون هایپرآلژزیای حرارتی دو هفته پس از القا دیابت در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌ه سالم به طور معنی‌دار کمتر بود (P<۰/۰۵). در همان زمان، میانگین تغییرات آستانه پس کشیدن پنجه (PWT) در آزمون آلودینیا مکانیکی در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌دار کمتر بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۳) (نمودار ۴).

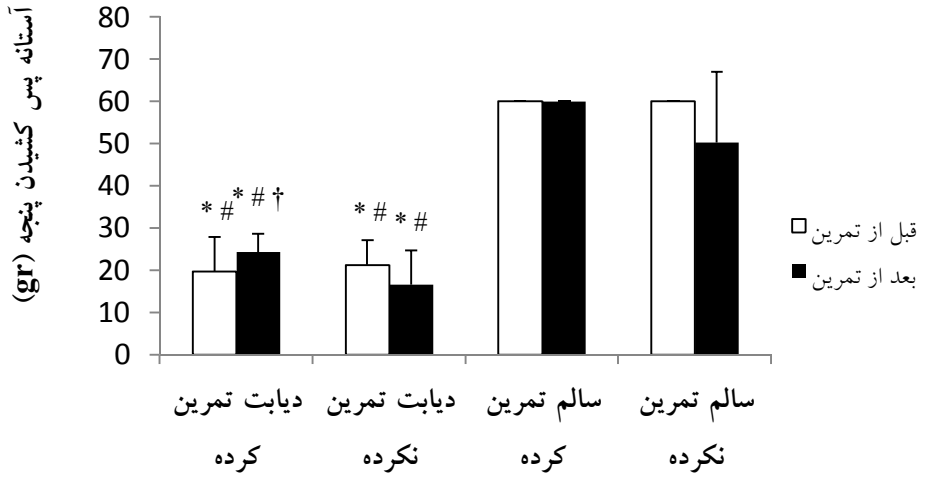
همچنین بین هایپرآلژزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی با سطوح استراحتی گلوکز خون همبستگی معنی دار مشاهده شد (به ترتیب ۶۸٪ - =r، p=۰/۰۰۱؛۸۲٪ - = r، p=۰/۰۰۱).

میزان بیانmRNAنروتروفین-۳در گروه دیابت تمرین نکرده نسبت به گروه سالم تمرین نکرده به طور معنی دار افزایش یافت (p=۰/۰۰۱). اگر چه میزان بیان mRNA نروتروفین-۳ در گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه دیابت تمرین نکرده به طور معنی دار کاهش یافت (p=۰/۰۱).اختلاف معنی داری در میزان mRNA نروتروفین-۳ در گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه سالم تمرین نکرده مشاهده نشد (p=۰/۳۲) (نمودار ۵). از طرفی بیان mRNAنروتروفین-۳در گروه سالم تمرین کرده نسبت به گروه سالم تمرین نکرده نیز به طور معنی دار بالاتر بود(p=۰/۰۳)(نمودار ۵).



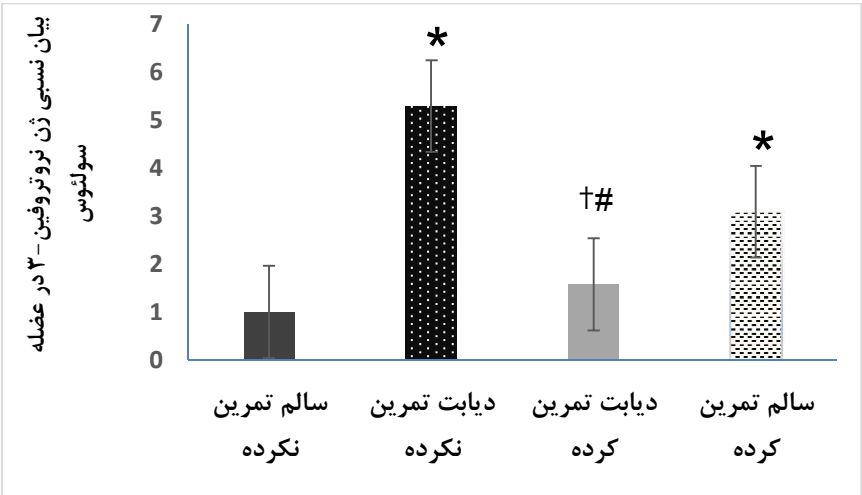
نمودار ۳: تغییرات زمان تاخیر در عقب کشیدن پا در آزمون پردردی حرارتی در گروه های مختلف.

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم تمرین نکرده (p<۰/۰۱)، # اختلاف معنی دار با گروه سالم تمرین کرده (p<۰/۰۱)، † اختلاف معنی دار با گروه دیابت تمرین نکرده (p<۰/۰۱).



نمودار ٤: تغییرات آستانه پس کشیدن پنجه در آزمون آلودینیای مکانیکی در گروه های مختلف.

* اختلاف معنی دار با گروه سالم تمرین نکرده (p<۰/۰۱)، # اختلاف معنی دار با گروه سالم تمرین کرده (p<۰/۰۱)، † اختلاف معنی دار با گروه دیابت تمرین نکرده (p<۰/۰۱).



نمودار۵: میزان بیان ژن نروتروفین-۳ در عضله سولئوس نسبت به گروه سالم تمرین نکرده.

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم تمرین نکرده(p<۰/۰۵)، # اختلاف معنی دار با گروه سالم تمرین کرده (p<۰/۰۵)، † اختلاف معنی دار با گروه دیابت تمرین نکرده (p<۰/۰۵).

بحث

در پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات مزمن فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین هوازی بر پاسخ‌های رفتاری درد نروپاتیک، از مدل درد نروپاتیک تزریق سیستمی STZ استفاده گردید. همچنین، جهت به حداقل رساندن آسیب های ساختاری و اکسایشی ناشی از تمرین بیش از حد، در پژوهش حاضر از فعالیت ورزشی با شدت متوسط (۷۰-۶۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) استفاده گردید. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین هوازی متوسط می تواند موجب بهبود پاسخ های درد نروپاتیک هایپرآلژزیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی گردد. این نتیجه همسو با بسیاری دیگر از مطالعاتی است که به بررسی اثرات تمرین ورزشی بر پاسخ های درد نروپاتیک در مدل های درد گوناگون پرداخته‌اند (۱۰،۲۶،۲۸،۳۰). برای مثال، چن[۱] و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان دادند در مدل درد CCI[۲]، تمرین شنا و دویدن روی نوارگردان موجب بهبود یافتن آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی در گروه های تمرینی گردیده است (۱۸). استگ[۳] و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثرات تمرین روی نوار گردان در مدل درد SNL[۴] نیز به نتایج مشابهی دست یافتند (۱۰). شارما[۵] و همکاران (۲۰۱۰) نیز با استفاده از مدل درد تزریق سالین اسیدی نشان دادند ۳ هفته تمرین هوازی ملایم بر روی نوار گردان می تواند هایپرآلژزیای مکانیکی را بهبود بخشد (۲۸). رُسی[۶] و همکاران (۲۰۱۱) نیز ثابت کردند ۸ هفته تمرین شنا به بهبود هایپرآلژزیای مکانیکی در موش‌های ماده ویستار دیابتی شده توسط STZ می‌انجامد(۳۰). در تناقض با یافته های پژوهش حاضر، برخی مطالعات نیز نتوانسته اند به تایید اثرات تمرین ورزشی بر بهبود درد نروپاتیک بپردازند. برای مثال، اسلوکا و راسموسن [۷](۲۰۱۰) نشان دادند فعالیت ورزشی به افزایش زمان تاخیر در عقب کشیدن پا در هایپرآلژزیای حرارتی می انجامد. این تناقض می‌تواند ناشی از مدل ورزشی متفاوت این پژوهشگران باشد که در آن از فعالیت ورزشی وامانده ساز استفاده شده بود. این موضوع نشان می دهد که فعالیت های ورزشی طاقت فرسا می تواند اثرات منفی بر بهبود درد نروپاتیک داشته باشد (۳۱).

در ارتباط با شناسایی سازوکارهای درگیر در بهبود پاسخ های رفتاری درد نروپاتیک در اثر تمرین ورزشی نیز مطالعات بسیاری انجام شده است. برای مثال، چن[۸] و همکاران (۲۰۱۲) اثرات تمرین ورزشی بر بهبود درد نروپاتیک را به کاهش بیان IL-1β و TNF-α و افزایش سطوح Hsp72 در عصب سیاتیک نسبت داده اند (۱۸). استگ و همکاران (۲۰۱۱) این موضوع را به افزایش وابسته به ورزش محتوی اپیوئیدهای درون زا در نواحی از ساقه مغز که در تعدیل درد نقش دارند، نسبت داده اند(۱۰). شارما و همکاران (۲۰۱۰) افزایش وابسته به ورزش بیان mRNA و سطوح پروتئین NT-3 در عضله اسکلتی را در بهبود درد نروپاتیک دخیل دانسته اند. احتمالاً فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین ورزشی می تواند از طریق کاهش سایتوکاین های التهابی و پیش التهابی، افزایش محتوی اپیوئیدهای درون زا و عوامل نروتروفیک، به بهبود وضعیت درد نروپاتیک بانجامد. پژوهش حاضر نشان داد تمرین ورزشی با شدت متوسط موجب کاهش معنی دار غلظت گلوکز خون در گروه تمرین دیابتی شده

۱ - Chen
۲ - Chronic Constriction Injury
۳- Stagg
۴ - Spinal Nerve Ligation
۵- Sharma
۶- Rossi
۷- Sluka & Rasmussen
۸- Chen

است. عضلات اسکلتی عمده ترین مکان مصرف سوخت متابولیک در حالت استراحت هستند و فعالیت عضلانی افزایش یافته در طول فعالیت ورزشی هوازی، نیازمندی های سوختی را افزایش می دهد. لذا مطالعات نشان می دهند که ورزش می تواند جهت کاهش سطوح گلوکز پلاسما در طول ورزش و پس از آن مفید واقع شود. به علاوه، نشان داده شده ورزش می تواند حساسیت انسولینی را نیز افزایش دهد (۲۸). لذا در پژوهش حاضر، این احتمال می رود که ورزش از طریق اثراتی که بر کاهش غلظت گلوکز خون داشته است موجب بهبود پاسخ های رفتاری درد نیز گردد. این نتیجه همسو با تحقیقاتی است که هایپرگلایسمی القا شده توسط STZ را در توسعه هایپرآلژزیا و آلودینیا سهیم دانسته اند و نشان داده اند که درمان انسولین می تواند به بهبود پاسخ‌های رفتاری درد بانجامد (۱۸،۲۸،۳۰،۳۱).

سازوکارهای درگیر در بهبود پاسخ های رفتاری درد نروپاتیک طی تمرین ورزشی می تواند از طریق کاهش سایتوکاین های التهابی و پیش التهابی، افزایش محتوی اپیوئیدهای درون زا و عوامل نروتروفیک، به بهبود وضعیت درد نروپاتیک بیانجامد (۲۸،۳۱). عضلات اسکلتی عمده ترین مکان مصرف سوخت متابولیک در حالت استراحت هستند و فعالیت عضلانی افزایش یافته در طول فعالیت ورزشی هوازی، نیازمندی های سوختی را افزایش می دهد. لذا مطالعات نشان می دهند که ورزش می تواند جهت کاهش سطوح گلوکز پلاسما و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در طول تمرین و پس از آن مفید واقع شود. به علاوه، نشان داده شده تمرین می تواند حساسیت انسولینی را نیز افزایش دهد (۳۲). دیابت بطور معناداری بیان ژن NT-3 را در عضله سولئوس افزایش داد که تمرین این تغییرات را تعدیل و کاهش داد. در حالی که تمرین باعث افزایش معناداربیان ژن NT-3 در موش‌های سالم شد. مطالعات کاهش (۱۱-۷) و افزایش در سطوح NGF،NT-3 mRNA و BDNF در عصب سیاتیک، پوست و عضله را گزارش کردند (۱۲،۲۷،۳۳). دیابت ناشی از STZ باعث کاهش در میزان بیان و محتوای پروتئین NT-3 و Trkcدر عضله شدکه منجر به کاهش انتقال رو به عقب اکسونی به سمت جسم سلولی و کاهش حمایت نروتروفیکی می شود (۵). از طرفی آندرسن و همکارن (۲۰۰۹) نشان داد که ارتباط ضعیفی بین NT-3 mRNA عضلات دیستالو پروکزیمال افراد دیابتی و سالم وجود دارد. هم چنین کاهش در نسبت NT-3 mRNA عضلات دیستال نسبت به پروگزیمال را گزارش کردند. بترتیب کاهش و افزایش در NT-3 mRNA عضلات دیستال و پروگزیمال را مشاهده کردند. اگرچه در عوامل دیگر مانند NGF و BDNF رابطه مستقیمی بین عضلات دیستال و پروگزیمال مشاهده شد(۳). بطور کلی توزیع NT-3 در عضلات مختلف متفاوت می باشد که در تارهای نوع ۱یا کند تنش نسبت به نوع ۲ یا تند تنش کمتر است. تفاوت در بیان NT-3 می تواند ناشی از توزیع نوع تارهای باشد (۲،۷،۳۴). اگر توزیع متفاوتی از فاکتورهای نروتروفیکی در تارها باشد پس احتمال دارد تغییر در نوع تارهای آسیب دیده و قطع عصب هم توزیع متفاوتی را بهمراه داشته باشد. توضیح دیگر این که تفاوت در توزیع NT-3 mRNA عضلات مختلف می تواند ناشی از تفاوت در شدت فعالیت عصبی-عضلانی در عضلات مختلف بویژه عضلات دیستال و پروگزیمال باشد (۷،۳۵). همچنین واحدهای حرکتی کوچکتر و بزرگتر نیز می‌تواند در این اختلاف توزیع نقش داشته باشد (۳).در پژوهش حاضر میزان پروتئین اندازه گیری نشده است اگر چه برخی از پژوهش ها افزایش در بیان عوامل نروتروفیکی را همسو با افزایش میزان پروتئین گزارش کردند (۳۶،۳۷). پژوهش های اندکی نیز افزایش یا عدم تغییر در بیان همراه با کاهش میزان پروتئین بدست آوردند (۲۳،۳۸). کای و همکارن (۱۹۹۹) افزایش در بیان NT-3 در عصب حسی و جسم سلولی DRG[۹] در موش‌هایی

۹-Dorsal root ganglion

دیابتی را پاسخی در جهت جبران کاهش حمایت ترفیکی در بافت‌های هدف باشد (۹). NT-3 نقش حیاتی در بقاء و و عملکرد نرون های حسی و حرکتی دارد. برخی از پژوهش ها استفاده از درمان NT-3 را در نخاع و عضله برای بازسازی آسیب، جلوگیری از آتروفی و افزایش ریکاوری استفاده کردند (۵،۳۹). نقش فعالیت ورزشی منظم در بهبود عملکردهای مغزی نظیر ادراک ثابت شده است و همچنین شکل پذیری مغز، سیستم ضد اکسایشی، تنظیم افزایشی نروتروفین ها را ارتقا می بخشد و از آپوپتوزیز سلول های عصبی جلوگیری می‌کند. ورزش همچنین می‌تواند بیوسنتز RNA، افزایش انتقال آکسوپلاسمی استیل کولین، و افزایش نرخ جوانه زنی عصبی به دنبال برش عصبی را به همراه داشته باشد (۱۶،۲۶،۴۰،۴۱،۴۲). افزایش زیاد در بیان BDNF در سرتاسر سیستم عصبی، متناسب با مسافت پیموده شده توسط حیوانات، مکرراً به دنبال دویدن اختیاری بر روی چرخ دوار دیده شده است (۴۵-۴۰). اگرچه پروتکل‌های تمرینی اختیاری اغلب دوره‌های تمرینی ۴ هفته‌ای و بیشتر را به کار گرفته‌اند. اُگ‌بُرن[۱۰] و همکاران (۲۰۱۰)، نشان دادند که ۵ روز تمرین روی نوارگردان باعث افزایش معنی‌دار ۱۸۴٪ در BDNF mRNA عضله سولئوس شد (۲۵). نتایج آنها با نتایج گومز-پینیلا[۱۱](۲۰۰۱) و کاپینی[۱۲](۲۰۰۷) مطابقت داشت، این دو محقق بدون این که هیچ اثری برای یک وهله تمرین روی نوارگردان بر بیانBDNF پیدا کنند، افزایش زیادی را در BDNF mRNA به دنبال برنامه تمرینی ۵ روزه در عضله سولئوس نشان دادند (۲۲،۲۴). ینگ و همکاران(۲۰۰۳) به بررسی تاثیر فعالیت ورزشی اختیاری برتغییرات NT-3 گیرنده اختصاصی آن Trk-c در نخاع و عضله سولئوس موش‌های سالم طی ۷ روز تمرین روی نوارگردان پراختند که افزایش در بیان و پروتئین NT-3 و Trkc را در نخاع بدست آوردند در حالی که در عضله افزایش در بیان با عدم تغییر در محتوی پروتئینی همراه بود (۴۶).

برای بررسی تاثیر افزایش فعالیت بر بیان NT-4/5 mRNA، فاناکوشی[۱۳] و همکاران سطوح mRNA نروتروفین‌های مختلف را در عضلات سولئوس و گاستروکنمیوس بعد از تحریک الکتریکی عصب سیاتیک مورد بررسی قرار گرفت. بعد از ۱ ساعت تحریک عصب سیاتیک، افزایشی در بیان NT-4/5 mRNA در هر دو عضله بعد از گذشت ۳ ساعت دیده شد. بیان NT-4/5 mRNA ۱۲ ساعت بعد از تحریک به اوج خودش رسید (۵ تا ۷ برابر افزایش در مقایسه با گروه کنترل) و بعد از آن کاهش یافت، و پس از ۴۸ ساعت به سطوح کنترل بازگشت (۲۱). در مقایسه با NT-4/5، سطوح NGF mRNA تغییری نکرد. با این حال، سطوح mRNABDNF و NT-3 بین ۳ و ۱۲ ساعت بعد از تحریک کاهش یافت (تقریباً ۵۰٪) و ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از اعمال تحریک به سطح اولیه برگشت. افزایش زیاد در بیان BDNF در سرتاسر سیستم عصبی، متناسب با مسافت پیموده شده توسط حیوانات، مکرراً به دنبال دویدن اختیاری روی چرخ دوار دیده شده است (۴۳).

مطالعات رابطه معناداری بین قدرت عضلانی و میزانNT-3 را در نمونه های دیابتی گزارش کردند (۲،۳). مطالعات نتایج متفاوتی از تاثیر فعالیت بدنی بر تغییرات عوامل تروفیکی مانند NGF، BDNF و NT-4 و گیرنده‌های کینازی(Trk) وP75 را در نمونه های دیابتی گزارش کردند (۲۷،۳۶). صالحی و همکاران (۲۰۱۰) نتایجی مشابه با تغییرات پژوهش حاضر در بیان فاکتور نروتروفیکی BDNF در موش‌های دیابتی بدست آوردند

۱۰ - Ogborn
۱۱- Gomez-Pinilla
۱۲- Cuppini
۱۳ - Funakoshi

که ۸ هفته فعالیت شنا باعث تنظیم کاهش در بیانBDNF شد (۲۷). همچنین لی[۱۴] و همکاران (۲۰۱۴) نتایج مشابهی را در سرم خون نمونه های دیابت انسانی در بیانBDNF و گیرنده کینازی (TrB) را گزارش کردند که ۱۲ هفته تمرین با ۵۰تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی باعث کاهش در بیان آن ها شد در حالی که تغییرات معناداری را در شاخص های التهابی و NGF بدست نیاوردند (۳۶).

تاثیر فعالیت بدنی بر تغییراتNT-3در پژوهش‌های پیشین بررسی نشده است به نظر می‌رسد با توجه به پژوهش حاضر نقش فعالیت بدنی بر تغییرات NT-3 همانند فاکتورهای تروفیکی دیگر تعدیلی باشد که در نهایت منجر به جلوگیری از کاهش یا افزایش بیان فاکتورهای تروفیکی می شود که در اصل این تغییرات نوعی سیگنال یا پاسخ نسبت به شرایط بیماری می باشد پس می توان بر نقش تعدیلی فعالیت بدنی تاکید کرد. از طرفی این احتمال وجود دارد که نقش مثبت فعالیت بدنی بر شاخص های التهابی، ظرفیت آنتی اکسیدانی، عوامل در گیر در آپوپتوز و آنژیوژنز در نمونه های دیابتی، منجر به افزایش حمایت تروفیکی گردد (۵۰-۴۷، ۳۶،۲۷).

بپتیستا[۱۵]و همکاران (۲۰۱۳) نیز عامل اصلی درگیر در توسعه اختلالات موتور پروتئین های عصبی را ناشی از غلظت بالای گلوکز می دانند؛ در حالی که نتایج تحقیق حاضر نشان داد تمرین هوازی منجر به کاهش سطوح گلوکز در موش های دیابتی تمرین کرده می گردد. پژوهش حاضر نشان می دهد که پروتکل ورزشی مورد استفاده، در زمینه عملکرد (بهبود علائم درد نروپاتیک) و تغییرات نوروشمیایی (نرمال ساختن بیان موتور پروتئین های افزایش یافته) در موش های دارای نروپاتی دیابت، موثر بوده است. اما نتایج بدست آمده نشان داد که پس از تمرین هوازی، وزن موش های گروه دیابت تمرین کرده در مقایسه با گروه دیابت تمرین نکرده و همچنین در مقایسه با زمان قبل از تمرین، به میزان قابل ملاحظه ای کاهش یافته است(۵۱). چن و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که ۳۰ تا ۶۰ دقیقه تمرین روزانه بر روی تردمیل با سرعت ۲۰ تا ۲۵ متر در دقیقه در موش های دیابتی شده توسط STZ، باعث کاهش معناداری در سطوح گلوکز خون بهمراه کاهش وزن موش ها در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه دیابت کنترل شده است(۵۲). در حالی که رُسی و همکاران (۲۰۱۱) افزایش وزن و عدم تغییرات معنادار در گلوکزخون در گروه دیابت تمرین را نسبت به دیابت کنترل را طی ۶۰ دقیقه شنا کردن طی ۵ روزدر هفته را گزارش کردند(۳۰).

گرُور[۱۶]و همکاران (۲۰۱۵) افزایش در میزان NGF و TrA را در عضله گاستروکینموس، پوست و DRG موش های دیابتی را گزارش کردند اگرچه تغییر معناداری در بافت سیاتیک مشاهده نشد. ۹ هفته تمرین هوازی باعث کاهش میزانNGF و TrA و رساندن این تغییرات به سطح نرمال شد که از فعالیت ورزشی بعنوان یک عامل تعدیل کننده نام بردند و دلیل اصلی این تغییرات را افزایش عوامل التهاب و پیش التهابی ناشی از دیابت دانستند که نقش ضد التهابی ورزش را عامل تعدیل عنوان کردند(۵۳).

به طور کلی به نظر می رسد با توجه به نتایج پژوهش های قبلی و نتایج اخیر، تکنیک های آزمایشگاهی می تواند دلیلی بر تناقضات گزارش شده باشد. از طرفی مقالات اخیر بر تغییر در بیان نروتروفین ها طی بیماری های تخریب عصبی و دیابت تاکید داشته اند که نروتروفین های مانند NGF، BDNF و NT-3 کاهش، افزایش و عدم تغییر را در بافت های مختلف گزارش کردند که این تغییر دقیقاً در بافت ها یا عوامل تروفیکی هم سو نبود و

۱۴ - Lee
۱۵- Baptista
۱۶-Groover

از طرفی فعالیت ورزشی را عاملی تعدیل کننده در این تغییرات ذکر کردند که می تواند با بهبود درد، کاهش سطح گلوکز خون، کنترل وزن، کاهش التهاب و افزایش عوامل آنژیوژنز و حمایت تروفیکی نقش موثری در مدل های دیابتی داشته باشد (۱۸،۲۰،۲۸،۳۰،۵۱).

نتایج پژوهش حاضر این موضوع را نشان می دهد که پروتکل ورزشی استفاده شده در پژوهش حاضر، نتوانسته است از آتروفی عضلانی پیشرونده که از ویژگی های اصلی نروپاتی دیابت است، جلوگیری کند. بنابراین، پیشنهاد می شود که در مطالعات آینده با بهره گیری از پروتکل های تمرینی ترکیبی و اضافه نمودن تمرین مقاومتی، بر این مشکل فائق آیند. همچنین نتایج بدست آمده نشان می دهند که پس از تمرین هوازی، وزن موش های گروه سالم تمرین کرده در مقایسه با زمان قبل از تمرین به میزان قابل ملاحظه ای افزایش یافته است (اما این اختلاف معنی دار نبوده است). این مساله نشان می دهد که پروتکل تمرین هوازی مورد استفاده در پژوهش حاضر، اگرچه در زمینه تنظیم افزایشی بیان نروترفین-۳ سودمند بوده است، اما برای موش های سالم، از شدت پایین برخوردار بوده است. لذا توصیه می گردد در پژوهش‌های آینده، در نمونه های حیوانی سالم، از تمرینات با شدت بالاتر استفاده شود.

با توجه به نتایج پژوهش رحمتی (۲۰۱۵) مبنی بر افزایش محتوی موتورپروتئین‌های آکسونی و عوامل تنظیمی در اثر دیابت و پژوهش حاضر، می توان فرضیه احتمالی تحت عنوان حامل و محمول در زمینه انتقال آکسونی و بیماری‌های تخریب عصبی ارائه داد. این نظریه بیان می دارد دربیماری‌های تخریب عصبی نظیر نروپاتی دیابت که با پیشرفت بیماری، عصب‌رسانی پوست وانشعاب‌های تحتانی آکسون در اثر فراهمی ناکافی مواد مورد نیاز دچار اختلال می شود(۲۰).

نتیجه گیری: به طور کلی، پژوهش حاضر نشان می دهد که تمرین هوازی با شدت متوسط می‌تواند از اثرات مزمن بر بهبود درد نروپاتیک برخوردار باشد. لذا پیشنهاد می شود که ورزش به عنوان یک مداخله درمانی غیردارویی در حیطه درد نروپاتیک برای بیماران دیابتی که از درد رنج می برند به کار گرفته شود. بنظر می رسد یکی از عوامل احتمالی درگیر در نروپاتی دیابت، می‌تواند ناشی از تغییر در عوامل تروفیکی باشد که افزایش میزان mRNA نروتروفین-۳می تواند یک پاسخ جبرانی در کاهش حمایت تروفیکی باشد که تمرین هوازی می تواند به عنوان یک راهبرد غیر دارویی، این تغییرات را تعدیل کند.

References:

1. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, Malik RA, Maser RE, Sosenko JM, Ziegler D. 2005. Diabetic neuropathies. Diabetes care. 28(4):956-62.
2. Li H, Shen Z, Lu Y, Lin F, Wu Y, Jiang Z. 2012. Muscle NT-3 levels increased by exercise training contribute to the improvement in caudal nerve conduction velocity in diabetic rats. Molecular Medicine Reports. 6:69-74.
3. Andreassen CS, Jakobsen J, Flyvbjerg A, Andersen H. 2009. Expression of neurotrophic factors in diabetic muscle--relation to neuropathy and muscle strength. Brain. 132(10):2724-33.
4. Yamamoto M, Sobue G, Yamamoto K, Terao S, Mitsuma T. 1996. Expression of mRNAs for neurotrophic factors (NGF, BDNF, NT-3, and GDNF) and their receptors (p75NGFR, trkA, trkB, and trkC) in the adult human peripheral nervous system and nonneural tissues. Neurochemical Research. 21: 929–38.
5. Calcutt NA, Jolivalt CG, Fernyhough P. 2008. Growth factors as therapeutics for diabetic neuropathy. Current Drug Targets. 9: 47-59.
6. Fernyhough P, Maeda K, Tomlinson DR. 1996. Brain-derived neurotrophic factor mRNA levels are up-regulated in hindlimb skeletal muscle of diabetic rats: effect of denervation. Experimental Neurology. 141: 297–303.
7. Fernyhough P, Diemel LT, Brewster WJ, Tomlinson DR. 1995. Altered neurotrophin mRNA levels in peripheral nerve and skeletal muscle of experimentally diabetic rats. Journal of Neurochemistry. 64: 1231–7.
8. Calcutt NA. 2004. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. Methods in Molecular Medicine.99:55-65.
9. Cai F, Tomlinson DR, Fernyhough P.1999. Elevated expression of neurotrophin-3 mRNA in sensory nerve of streptozotocin-diabetic rats. Neuroscience Letters. 263(2-3):81-4.
10. Stagg NJ, Mata HP, Ibrahim MM, Henriksen EJ, Porreca F, Vanderah TW, Malan TP. 2011. Regular Exercise Reverses Sensory Hypersensitivity in a Rat Neuropathic Pain ModelRole of Endogenous Opioids. The Journal of the American Society of Anesthesiologists. 114(4):940-8.
11. Kennedy AJ, Wellmer A, Facer P, Saldanha G, Kopelman P, Lindsay RM, Anand P. 1998. Neurotrophin-3 is increased in skin in human diabetic neuropathy. J NeurolNeurosurg Psychiatry. 65(3):393-5.
12. Fernyhough P, Diemel LT, Tomlinson DR. 1998. Target tissue production and axonal transport of neurotrophin-3 are reduced in streptozotocindiabetic rats. Diabetologia. 41: 300–6.
13. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. 2008. Diabetic neuropathy: Mechanisms to management. Pharmacology & Therapeutics. 120:1–34.
14. Sakuma K, Yamaguchi A. 2011. The recent understanding of the neurotrophin's role in skeletal muscle adaptation. J Biomed Biotechnol.201696.
15. Ramji N, Toth C, Kennedy J, Zochodne DW. 2007. Does diabetes mellitus target motor neurons? Neurobiology of Disease.26(2):301-11.
16. Gharakhanlou R, Chadan S, Gardiner P. 1999. 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. 89(4): 1229-39.
17. Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, Jakus J, Goto S. 2006. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. Neurochemistry international .49, 387–392.

18. Chen YW, Li YT, Chen YC, Li ZY, Hung CH. 2012. Exercise training attenuates neuropathic pain and cytokine expression after chronic constriction injury of rat sciatic nerve. Anesthesia & Analgesia. 114(6):1330-7.
19. Deschenes MR, Maresh CM, Crivello JF, Armstrong LE, Kraemer WJ, Covault J. 1993. The effects of exercise training of different intensities on neuromuscular junction morphology. Journal of neurocytology. 22(8):603-15.
20. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla SJ, Khazani A, Fouladvand M, JahaniGolbar S. 2015. Treadmill training modifies KIF5B motor protein in the STZ-induced diabetic rat spinal cord and sciatic nerve. Archives of Iranian Medicine.18(2):94-101.
21. Funakoshi H, Frisen J, Barbany G, Timmusk T, Zachrisson O, Verge V.M.K, Persson H. 1993. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. Journal of Cell Biology. 123:455–465.
22. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Opazo P, Roy RR, Edgerton VR. 2001. Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. European Journal of Neuroscience. 13:1078–1084.
23. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. 2002. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. Journal of neurophysiology. 88:2187–2195.
24. Cuppini R, Sartini S, Agostini D, Guescini M, Ambrogini P, Betti M, Bertini L, Vallasciani M, Stocchi V. 2007. BDNF expression in rat skeletal muscle after acute or repeated exercise. Archives italiennes de biologie. 145(2):99-110.
25. Ogborn DI, Gardiner P F. 2010. Effects of Exercise and Muscle Type on BDNF, NT-4/5, and TrkB Expression in Skeletal Muscle. Muscle Nerve. 41: 385–391.
26. Chae CH, Jung SL, An SH, Jung CK, Nam SN, Kim HT. 2011. 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.67(2):235-41.
27. Salehi I, Farajnia S, Mohamadi M, Sabouri GM. 2010. The pattern of brainderivedneurotrophic factor gene expression in the hippocampus of diabetic rats. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 13: 146 – 153.
28. Sharma NK, Ryals JM, Gajewski BJ, Wright DE. 2010. Aerobic exercise alters analgesia and neurotrophin-3 synthesis in an animal model of chronic widespread pain. Physical therapy. 90(5):714.
29. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. 1988. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain. 32(1):77-88.
30. Rossi DM, Valenti VE, Navega MT. 2011. Exercise training attenuates acute hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetic female rats. Clinics. 66(9):1615-9.
31. Sluka KA and Rasmussen LA. 2010. Fatiguing exercise enhances hyperalgesia to muscle Inflammation. Pain. 148(2): 188.
32. Nassis G P, Papantakou K, Skenderi K, Triandafillopoulou M, Kavouras SA, Yannakoulia M, Sidossis LS. 2005. Aerobic exercise training improves insulin sensitivity without changes in body weight, body fat, adiponectin, and inflammatory markers in overweight and obese girls. Metabolism. 11: 1472-1479.
33. Abu El-Asrar AM, Mohammad G, De Hertogh G, Nawaz MI, Van Den Eynde K, Siddiquei MM, Struyf S, Opdenakker G, Geboes K. 2013. Neurotrophins and neurotrophin receptors in proliferative diabetic retinopathy. PLoS One. 8(6):e65472.

34. Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I, Nakano H, Li YJ, et al. 2001. A possible role for BDNF, NT-4 and TrkB in the spinal cord and muscle of rat subjected to mechanical overload, bupivacaine injection and axotomy. Brain Research. 907:1–19.
35. Schinder AF, Poo M. 2000. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. Trends in neurosciences. 23:639–45.
36. Lee SS, Yoo JH, Kang S, Woo JH, Shin KO, Kim KB, Cho SY, Roh HT, Kim YI. 2014. The Effects of 12 Weeks Regular Aerobic Exercise on Brain-derived Neurotrophic Factor and Inflammatory Factors in Juvenile Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus. Journal of Physical Therapy Science.26(8):1199-204.
37. Omura T, Sano M, Omura K, Hasegawa T, Doi M, Sawada T, et al. 2005. Different expressions of BDNF, NT3, and NT4 in muscle and nerve after various types of peripheral nerve injuries. Journal of the Peripheral Nervous System. 10: 293–300.
38. Baptista FI, Pinto MJ, Elvas F, Almeida RD, Ambrósio AF. 2013 .Diabetes alters KIF1A and KIF5B motor proteins in the hippocampus. PLOS ONE.8(6):e65515.
39. Mandai K, Guo T, Hillaire CS, Meabon JS, Kanning KC, Bothwell M, Ginty DD. 2009. LIG family receptor tyrosine kinase-associated proteins modulate growth factor signals during neural development. Neuron. 63(5):614-27.
40. Deschenes MR, Tenny KA, Wilson MH. 2006. Increased and Decreased Activity Elicits Specific Morphological Adaptations of the Neuromuscular Junction. Neuroscience. 137:1277–1283.
41. Carrasco DI, English AW. 2003. Neurotrophin 4/5 is required for the normal development of the slow muscle fiber phenotype in the rat soleus. Journal of Experimental Biology. 206(13):2191-200.
42. Walker UA, Schon EA. 1998. Neurotrophin- 4 is up- regulated in ragged- red fibers associated with pathogenic mitochondrial DNA mutations. Annals of neurology. 43(4):536-40.
43. Zhang S, Zettler C, Cupler EJ, Hurtado P, Wong K, Rush RA. 2000. Neurotrophin 4/5 immunoassay: identification of sources of errors for the quantification of neurotrophins.Journal of Neuroscience Methods. Annals of Neurology.99:119–127.
44. Cotman CW, Berchtold NC. 2002. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. Trends in neurosciences. 25(6):295-301.
45. Gerchman LB, Edgerton VR, Carrow RE. 1975. Effects of physical training on the histochemistry and morphology of ventral motor neurons. Experimental neurology. 49(3):790-801.
46. Ying Z, Roy RR, Edgerton VR and Gomez-Pinilla F. 2003.Voluntary exercise increases neurotrophin-3 and its receptor TrkC in the spinal cord. Brain Research. 987: 93-99.
47. Zochodne DW, Ramji N, Toth C. 2008. Neuronal targeting in diabetes mellitus: a story of sensory neurons and motor neurons. Neuroscientist.14(4):311-8.
48. Zochodne DW. 2007. Diabetes mellitus and the peripheral nervous system: manifestations and mechanisms. Muscle Nerve. 36(2):144-66.
49. Mizisin AP, Calcutt NA, Tomlinson DR, Gallagher A, Fernyhough P. 1999. Neurotrophin-3 reverses nerve conduction velocity deficits in streptozotocin-diabetic rats.Journal of the Peripheral Nervous System. 4: 211–21.
50. Kust BM, Copray JC, Brouwer N, Troost D, Boddeke HW. 2002. Elevated levels of neurotrophins in human biceps brachii tissue of amyotrophic lateral sclerosis.Experimental Neurology. 177: 419–27.
51. Groover AL. 2014. Voluntary Exercise and Neurotrophin Signaling Affect the Development and Presentation of Painful Neuropathy (Doctoral dissertation, University of Kansas).

52. Baptista FI, Pinto MJ, Elvas F, Almeida RD, Ambrósio AF. 2013. Diabetes alters KIF1A and KIF5B motor proteins in the hippocampus. PLOS ONE. 8(6):e65515.
53. Chen YW, Hsieh PL, Chen YC, Hung CH, Cheng JT. 2013. Physical exercise induces excess hsp72 expression and delays the development of hyperalgesia and allodynia in painful diabetic neuropathy rats. AnesthAnalg.116(2):482-90 .