

تأثیر شش هفته بستن عصب سیاتیک بر بیان ژن داینکتین عصب سیاتیک در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

عبدالرضا کاظمی^{۱*}، مسعود رحمتی^۲، مجید حسین پور^۳

تاریخ دریافت 1393/10/07 تاریخ پذیرش 1393/12/08

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: انتقال آکسونی فرایند حیاتی در سیستم عصبی بوده که نورون و پایانه‌های عصبی را از طریق تهیه پروتئین‌ها، چربی‌ها و میتوکندری و پاک کردن پروتئین‌های تاختورده برای جلوگیری از ایجاد سمیت، حفظ می‌کند. اخیراً گزارش شده است که اختلال در پروتئین‌های حرکتی در انتقال آکسونی-مانند داینکتین- یک عامل رایجی در بسیاری از بیماری‌های تخریب عصبی نظیر فلج جانبی یکطرفه می‌باشد. با این حال مطالعه‌ای که اختلالات انتقال آکسونی را در اثر فعالیت کاهش‌یافته و درد نوروپاتی را بررسی کرده باشد یافت نشد.

مواد و روش‌ها: ۱۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن 25.0 ± 3.0 گرم به ۲ گروه کنترل سالم ($n=5$) و گروه لیگاسیون (SNL) ($n=5$) تقسیم شدند. طی شش هفته پس از آن آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتی در گروه‌های پژوهشی به طور مستمر انجام شد. در پایان هفته ششم تغییرات بیان ژن داینکتین در عصب سیاتیک با تکنیک Real time اندازه‌گیری و با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد.

یافته‌ها: پس از ۶ هفته، آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتی آلوداینایی مکانیکی و پردردی حرارتی نشان داد که در گروه SNL آستانه درد نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود ($p=0.000$). همچنین میزان بیان ژن داینکتین در عصب سیاتیک در گروه SNL به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش‌یافته بود ($p=0.001$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد فعالیت بدنی کاهش‌یافته و درد نوروپاتی با کاهش بیان ژن داینکتین در فیبر عصب سیاتیک مرتبط است. با توجه به اعمال فیزیولوژیک داینکتین در نورون احتمالاً این شرایط موجب اختلالات عملکردی سیستم عصبی و عضلانی می‌شود.

واژگان کلیدی: درد نوروپاتی، انتقال آکسونی، بیان ژن، داینکتین

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره دوم، ص 121-128، اردیبهشت 1394

آدرس مکاتبه: گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۲۷۰۶

Email: A. kazemi@vru.ac.ir

مقدمه

که درجات متفاوت فعالیت سیستم عصبی بتواند نقش مهمی را در شکل‌پذیری و عملکرد نخاع ایفا کند. از این رو نشان داده شده است که برخی پروتئین‌ها در ترمیم و توسعه نورون‌ها به ویژه در بیماری‌های تخریب عصبی نقش اساسی دارند (۲، ۳). یک دسته از این پروتئین‌ها، پروتئین‌های حرکتی درگیر انتقال آکسونی هستند (۴). نورون‌ها در بخش آکسونی خود فاقد اندامک‌های سنتزکننده پروتئین بوده و پروتئین و سایر مواد ضروری آن از طریق انتقال آکسونی به نقاط هدف در آکسون منتقل می‌شود که به آن انتقال روبه‌جلو گفته می‌شود.

درک درد یکی از عملکردهای حیاتی سیستم عصبی است که بدن را آسیب احتمالی به دور نگه می‌دارد. از سوی دیگر درد نوروپاتی، درد برخاسته از آسیب یا بیماری‌های تأثیرگذار بر سیستم عصبی می‌باشد. بیماران دچار دردهای مزمن نظیر درد نوروپاتی دچار محدودیت در عملکرد و فعالیت بدنی روزانه می‌شوند (۱). از این رو این بیماران در خطر قرار گرفتن در معرض فقر حرکتی و عوارض ناشی آن مانند چاقی هستند که خود این شرایط نیز می‌تواند سبب فقر حرکتی بیشتر و پیچیدگی فرایند بیماری گردد (۱). به نظر می‌رسد

^۱ استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

^۲ استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان

^۳ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی

در مقابل سازوکار تکمیلی دیگری وجود دارد که محموله‌ها (مانند پروتئین‌های فرسوده، اندامک‌ها و غیره) را در جهت مخالف - به سمت جسم سلولی انتقال می‌دهند (انتقال روبه عقب) (۵). داینکتین (Dynactin) یک کمپلکس چند پروتئینی است که به همراه داینئین (Dynein) در انتقال رو به عقب درگیر است (۶). داینئین و داینکتین با انتقال نوروفیلانمنت‌ها مرتبط هستند (۷) و داینکتین در اتصال حامل و محموله نیز دخالت داشته و احتمالاً از طریق افزایش کارایی و پردازش داینئین، آن را فعال می‌کند (۸). به طور کلی می‌توان گفت نورون‌های حرکتی جهت عملکرد طبیعی سلولی خود نیازمند انتقال آکسونی فعال هستند. هرچند گزارش شده است که درد نوروپاتی با فعالیت کاهش‌یافته و تغییرات ساختاری و فیزیولوژیک سیستم عصبی مرکزی و محیطی همراه است (۹، ۱۰)، با این حال گزارشی مبنی بر تأثیر لیگاتوربندی نخاع (SNL) (Spinal Nerve Ligation) به عنوان مدل درد نوروپاتی و در نتیجه فعالیت کاهش‌یافته بر اختلالات پروتئین‌های مرتبط با انتقال آکسونی یافت نشده است. این در صورتی است که شناخت پاتولوژی این حالت ممکن است ما را در رسیدن به راه‌های درمانی ممکنه یاری دهد. از این رو هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر مزمن فعالیت کاهش‌یافته به شکل SNL بر بیان ژن داینکتین عصب سیاتیک موش صحرایی نر می‌باشد.

مواد و روش کار

این مطالعه به روش تجربی بر روی ۱۰ سر موش صحرایی (Rat) نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی 250 ± 20 گرم انجام گرفت. جهت آشنایی با محیط حیوانخانه، حیوانات پس از خریداری در شرایط دمایی 22 ± 4 درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس نگهداری و با غذای مخصوص و آب تغذیه شدند. قبل از شروع پروتکل، رت‌ها بر اساس همسان‌سازی وزن به دو گروه کنترل سالم (تعداد=۵) (C) و گروه فعالیت کاهش‌یافته (تعداد=۵) (SNL) تقسیم شده و هر روز به وضعیت بهداشتی حیوانات رسیدگی می‌شد. در سراسر دوره پژوهش موش‌ها توسط دو نفر نیز جابه‌جا و دستکاری شدند و تمام فرایندهای پژوهش حاضر مطابق با کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات که توسط کمیته اخلاق دانشگاه مورد بررسی و تأیید قرار گرفت بود، انجام گردید. نحوه لیگاتوربندی:

مدل SNL روشی است که به طور گسترده برای مطالعه مکانیسم‌های درد نوروپاتیک و تأثیر داروها و رفتارهای مرتبط با درد مورد استفاده قرار می‌گیرد. جهت ایجاد مدل SNL، ابتدا رت‌ها با سدیم پنتوباریتول (۶۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به

صورت درون صفاقی) بیهوش شده و سپس عصب پنجم کمری نخاعی آن‌ها بر اساس روش کیم و چانگ (۱۰) به طور محکم گره زده شد. به طور خلاصه در این روش، پس از اطمینان از بیهوشی حیوان عضلات بین مهره‌ای در سطح مهره چهارم کمری و دوم خاجی جدا شده و زائده عرضی مهره ششم کمری برداشته شد. عصب پنجم کمری سمت چپ نخاع مشخص و با ظرافت از اعصاب مجاور جدا می‌گردید. عصب پنجم کمری به طور محکم با استفاده از نخ مخصوص Thread silk، دقیقاً در انتهای دیستال جهت اطمینان از ایجاد اختلال در تمام فیبرها گره زده شد. همچنین، جهت اجتناب از آسیب به عصب چهارم کمری، دقت بالایی مبذول شد. تنها حیواناتی در ادامه آزمایش لحاظ شدند که درد نوروپاتی را در آزمون‌های رفتاری نشان دادند. در گروه C نیز پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شد و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک، پوست و عضله بدون دستکاری عصب با نخ بخیه ۰/۴ سیلک بخیه زده شد. به منظور سازگاری جهت آزمایش‌های رفتاری نیز حیوانات پیش از لیگاتوربندی نخاع به مدت ۳ روز در معرض آزمون‌های رفتاری (۲ بار برای هر آزمایش) قرار گرفتند. بدین صورت که حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه رفتار درد، بدون اجرای واقعی آزمایش، به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در محیط اصلی آزمایش قرار می‌گرفتند. سرانجام، به منظور ثبت اولیه میزان رفتارهای درد، پس از اجرای اولیه آزمون‌ها، عملیات لیگاتوربندی انجام شد. هر هفته پس از لیگاتوربندی، با اجرای مجدد آزمون‌های رفتاری درد و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نوروپاتیک، حیواناتی که پردردی و آلوداینیا را در گروه SNL نشان دادند به عنوان آزمودنی در پژوهش در نظر گرفته شدند. تا پایان پژوهش آزمون‌های رفتاری به منظور تأیید وجود درد نوروپاتیک در آزمودنی‌ها هر هفته اجرا گردید. آزمون‌های رفتاری:

به منظور سازگاری جهت آزمایش‌های رفتاری نیز حیوانات پیش از لیگاتوربندی نخاع به مدت ۳ روز در معرض آزمایشات رفتاری (۲ بار برای هر آزمایش) قرار گرفتند. بدین صورت که حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه رفتار درد، بدون اجرای واقعی آزمایش، به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در محیط اصلی آزمایش قرار می‌گرفتند. سرانجام به منظور ثبت اولیه میزان رفتارهای درد، پس از اجرای اولیه آزمون‌ها، عملیات لیگاتوربندی انجام شد. هر هفته پس از لیگاتوربندی، با اجرای مجدد آزمون‌های رفتاری درد و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نوروپاتیک، حیواناتی که پاسخ درد نوروپاتیک را در گروه لیگاسیون نشان دادند به عنوان آزمودنی در پژوهش در نظر گرفته شدند. تا پایان پژوهش آزمون‌های رفتاری به

منظور تأیید وجود درد نوروپاتیک در آزمودنی‌ها هر هفته اجرا گردید (۱۱).

به منظور 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 گرفت. جهت عادت کردن حیوانات به محیط جدید، ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش، درون محفظه شفاف و بر روی صفحه مشبک قرار گرفتند. به منظور سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف Von Ferry در محدوده ۲ تا ۶۰ گرم (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶، ۶۰) ساخت شرکت USA، Stolling جهت سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده گردید. چنانچه ۲ بار متوالی، پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزنه به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه (PWT) ثبت شد و آزمون خاتمه یافت. چنانچه حیوان به هیچ یک از تارها، از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته 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 (۱۱).

پردردی حرارتی با استفاده از روش Hargreaves و همکاران (۱۲) با کمی تغییر، مورد سنجش قرار گرفت. به طور خلاصه، با استفاده از دستگاه Radiant Heat Plantar Test (Ugo Basil, Italy) حیوانات در سه اتاقک از جنس پلکسی گلاس (طول و عرض ۲۲ و ارتفاع ۳۰ سانتی متر) 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 شد و با کشیدن پا، تابش نور قطع و تایمر متوقف گردید و با ثبت زمان تأخیر در پس کشیدن پنجه (PWL) میزان تحمل حیوان نسبت به محرک آسیب‌رسان حرارتی مورد سنجش قرار گرفت. هر پا به طور متناوب و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه، برای سه بار آزمایش و میانگین آن‌ها به عنوان آستانه درد حرارتی ثبت شد. همچنین، جهت جلوگیری از آسیب بافت، نقطه نهایی آزمایش ۲۲ ثانیه در نظر گرفته شد. همچنین، میانگین سه اندازه‌گیری اولیه به عنوان تأخیر پایه در نظر گرفته شد (۱۳). همچنین، جهت جلوگیری از آسیب بافت، Cut Off آزمایش ۴۰ ثانیه در نظر گرفته شد. در نهایت،

پردردی حرارتی به عنوان درصد حداکثر اثر ممکن^۱ (MPE) با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌گردید: ((تأخیر پایه - زمان Cut Off) / (تأخیر پایه - تأخیر پس از لیگاتوربندی نخاع) × ۱۰۰) %MPE = . همچنین، میانگین سه اندازه‌گیری اولیه به عنوان تأخیر پایه در نظر گرفته شد.

استخراج نمونه:

۴۸ ساعت پس از پایان دوره ۶ هفته، موش‌های صحرایی توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش و سگمنت‌های نخاعی تشکیل دهنده عصب سیاتیک (L4-L6) که در موش‌های صحرایی، میان دنده‌های T10-T12 (mm 25-20) قرار گرفته‌اند (۱۴)، با برش در پایین‌ترین بخش ممکن بلافاصله استخراج شد. تمامی نمونه‌ها در نیترژن مایع منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شدند. بیان ژن داینکتین:

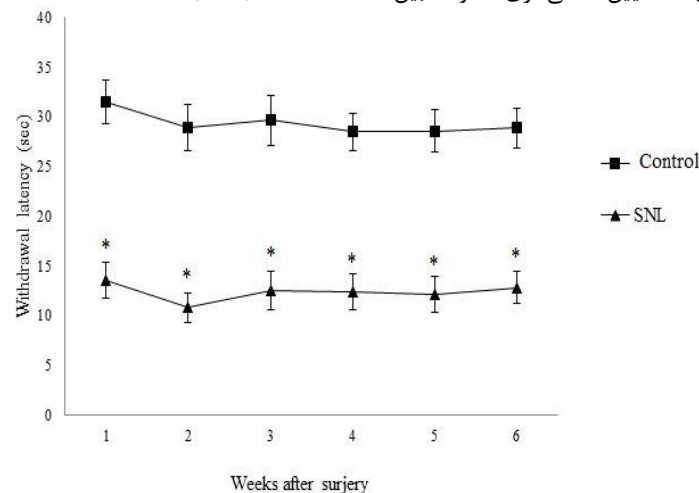
سنجش حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت نخاع جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سلسیوس، ۱۰ min، g12000 سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ درجه سلسیوس، ۱۵ min، g12000 سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سلسیوس، ۱۰ min، g12000 سانتریفوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ μL آب RNase-Free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش قرار گرفت (Eppendorf, Germany) و نسبت جذبی ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از ۱ میکروگرم RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Mmuv Reverse transcriptase انجام گرفت. اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA با Real time-PCR کمی Primix از (USA Applied Biosystems) انجام شد. مخلوط واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های داینکتین و GAPDH (از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید) در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکروژن (Macrogen Inc., Seoul, Korea) انجام شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه،

^۱ - Maximum Possible Effect

متغیرها و تعامل آن‌ها از آزمون T، تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تحلیل واریانس باندازه‌های تکراری و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS-20 انجام و سطح معنی‌داری 0.05 ($\alpha < 0.05$) در نظر گرفته شد.

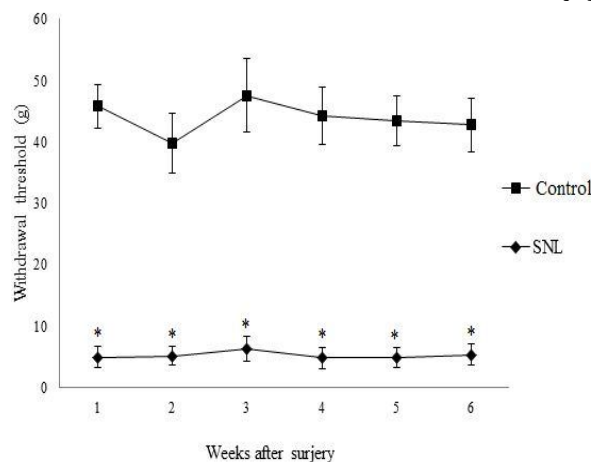
یافته‌ها

در طول ۶ هفته گروه لیگاتوربندی (SNL) در پس کشیدن پا (پردردی حرارتی) به طور معنی‌داری زودتر نسبت به گروه کنترل واکنش نشان دادند ($p = 0.001$) (نمودار ۱).



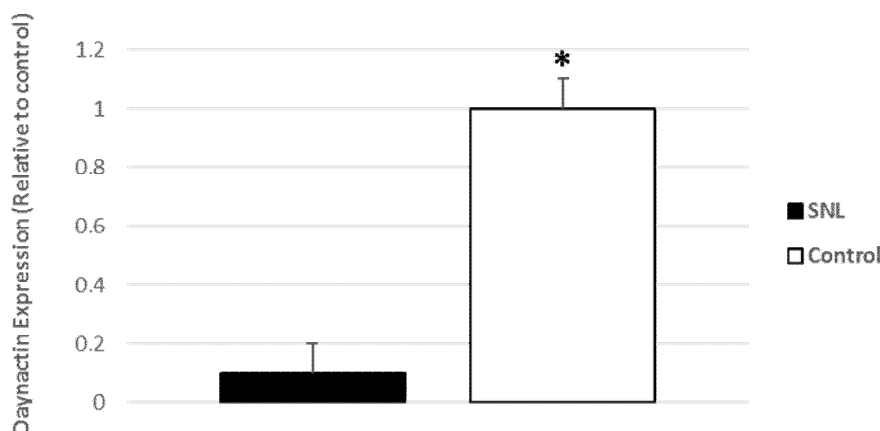
نمودار (۱): میزان درد نوروپاتیک به شکل پردردی حرارتی در دو گروه کنترل (C) و فعالیت کاهش‌یافته (SNL) نشان داده شده است. * اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد.

در طول ۶ هفته گروه لیگاتوربندی (SNL) در آستانه تحریک درد پا (آلودانیای مکانیکی) به طور معنی‌داری زودتر نسبت به گروه کنترل واکنش نشان دادند ($p = 0.001$) (نمودار ۲).



نمودار (۲): میزان درد نوروپاتیک به شکل آلودانیای مکانیکی در دو گروه کنترل (C) و فعالیت کاهش‌یافته (SNL) نشان داده شده است. * اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد.

در پایان ۶ هفته بیان ژن داینکتین در گروه لیگاتوربندی (SNL) نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش نشان داده بود ($p=0/000$) (نمودار ۳).



نمودار (3): تغییرات بیان ژن داینکتین در دو گروه کنترل (C) و فعالیت کاهش یافته (SNL) نسبت به گروه کنترل نمایش داده شده است. *اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل را نشان می دهد. ($p < 0/001$)

بحث

در مطالعه حاضر مشاهده و تأیید گردید که مدل SNL موجب آلودینیا مکانیکی و پردردی حرارتی در آزمون های رفتاری سنجش درد در مقایسه با گروه کنترل می شود. همچنین مشاهده گردید که ۶ هفته فعالیت کاهش یافته به شکل SNL منجر به کاهش بیان ژن داینکتین در عصب سیاتیک رت ها می شود. تحقیقات بسیاری نشان داده اند که سیستم عصبی مرکزی و محیطی در برابر تجربه های مختلف از جمله فعالیت بدنی افزایش یا کاهش یافته تغییر می کند؛ این پدیده شکل پذیری وابسته به فعالیت نامیده می شود (۱۵). از این رو مطالعات بسیاری نشان داده اند که فعالیت بدنی افزایش یافته همانند تمرینات ورزشی با کاهش خطر بیماری های تخریب عصبی همراه است (۱۶). همسو با این فرضیه در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد که فعالیت بدنی کاهش یافته به شکل لیگاتوربندی عصب نخاعی و ایجاد درد نوروپاتی موجب کاهش میزان بیان ژن پروتئین داینکتین در عصب سیاتیک موش های صحرایی می شود. بر اساس دانش ما مطالعاتی که به بررسی بیان پروتئین داینکتین در عصب سیاتیک در شرایط SNL پرداخته باشد، یافت نشده است. با این حال مشخص شده است که پروتئین حرکتی داینکتین به همراه داینکین در انتقال رو به عقب آکسونی درگیر بوده و موجب فعال سازی و کارایی بخشی داینکین می شود (۷). داینکین نقش مهمی در حیات نورون ها داشته و جهش آن با بیماری های تخریب نورونی مرتبط است (۱۷).

همچنین داینکین نقش کلیدی در پیام رسانی روبه عقب همانند مسیرهای پیام رسانی شده ناشی از فاکتورهای رشدی داشته و همچنین در انتقال توده (bulk) از سیناپس به جسم سلولی در طول آکسون و شرکت در میتوز و مبادله وزیکولی نیز دخالت دارد (۱۸). در همین راستا پرواضح است که اختلال در عملکرد داینکتین به شدت روی عملکرد داینکین اثر گذاشته و موجب اختلالاتی همچون مهار انتقال اندامک های سلولی (۱۹) و نوروفیلانته ها (۷) شده که در نهایت می تواند موجب اختلال در انتقال آکسونی گردد. در نورون های پس میتوزی (Postmitotic)، کمپلکس حرکتی داینکین/داینکتین عملکرد بسیاری داشته و اختلال در این کمپلکس پروتئینی موجب نقص سنتز مواد ترشحی یا مواد وابسته به غشاء در طول زمان می شود (۱۸). نقش مهم دیگر کمپلکس پروتئین داینکین/داینکتین در پیام رسانی روبه عقب می باشد، مخصوصاً حمل عوامل رشد عصبی (Neurotrophic factors) همچون BDNF و NGF که از سیناپس به جسم سلولی توسط این کمپلکس پروتئین منتقل می شوند (۲۰). انتقال این مواد رشدی برای حیات و عملکرد سلولی بسیار ضروری می باشد. هرچند سازوکار این تأثیر به خوبی شناخته نشده است، به نظر می رسد که کمپلکس پروتئین داینکین/داینکتین نقش مهمی در پیام رسانی حین استرس مزمن به ویژه در بیماری های تخریب عصب داشته و اختلال در عملکرد این کمپلکس پروتئینی با بیماری های فزاینده تخریب

(۲۵) در بیماری درد نوروپاتیک دارد. شناخت بیشتر این سازگاری‌ها نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

نتیجه گیری

به طور کلی در پژوهش حاضر مشخص شد که فعالیت کاهش یافته به شکل SNL می‌تواند با اثرات مخرب عصبی همچون پردردی، آلوداینیا و بیان ژن کاهش یافته داینکتین همراه است. در این جا به نظر می‌رسد فعالیت بدنی افزایش یافته به شکل تمرینات ورزشی بتواند از تخریب عصب و اختلالات وابسته به آن جلوگیری کند، با این حال تأیید این فرضیه مطالعات گسترده‌ای در این رابطه می‌باشد.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل طرح پژوهشی دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان و پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی می‌باشد بدینوسیله نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از دانشگاه ولیعصر (عج) به دلیل حمایت مالی و از آزمایشگاه گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به دلیل استفاده از امکانات آزمایشگاهی ابراز می‌دارند.

References:

1. Van den Berg-Emons RJ, Schasfoort FC, de Vos LA, Bussmann JB, Stam HJ. Impact of chronic pain on everyday physical activity. *Euro J Pain* 2007;11 (5): 587-93.
2. Dasen JS. Transcriptional Networks in the Early Development of Sensory-Motor Circuits. *Curr Top Dev Biol* 2009;87: 119-48.
3. Kalb RG, Hockfield S. Activity-dependent development of spinal cord motor neurons. *Brain research reviews*. 1992;17 (3): 283-9.
4. Millecamps S, Julien J-P. Axonal transport deficits and neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2013;14 (3): 161-76.
5. Goldstein LS, Yang Z. Microtubule-based transport systems in neurons: the roles of kinesins and dyneins. *Ann Rev Neurosci* 2000;23 (1): 39-71.

عصب حرکتی مرتبط هستند (۶). همچنین جهش در پروتئین داینکتین با انباشت پروتئین‌های معیوب (Aggregates) در نورون حرکتی همراه بوده است (۲۱). عدم بازیافت این پروتئین‌های معیوب ممکن است مشکل کلیدی در بسیاری از نورون‌ها بوده و انباشتگی این پروتئین‌ها با بیماری‌های تخریب عصب مرتبط می‌باشد (۱۸). با توجه به مطالعات انجام گرفته به نظر می‌رسد انتقال آکسونی برای عملکرد طبیعی سلول بسیار حیاتی بوده و اختلال در عملکرد پروتئین‌های درگیر انتقال آکسونی همچون پروتئین داینکتین موجب اختلال در عملکرد سلولی و تخریب نورونی می‌گردد. هرچند در مطالعه حاضر تفکیک تأثیر فعالیت بدنی کاهش یافته ناشی از درد نوروپاتی (۱) و باتولوژی خود آسیب عصبی نامشخص است، ولی به هر حال مشاهده گشت که SNL موجب کاهش بیان داینکتین شده که این شرایط احتمالاً موجب اختلالات عملکردی سیستم عصبی می‌شود. با این حال مشخص نیست که آیا فعالیت افزایش یافته به شکل تمرینات استقامتی و قدرتی می‌تواند از تغییر در بیان ژن داینکتین در شرایط درد نوروپاتی جلوگیری کند یا خیر. در صورتیکه گزارش شده است که فعالیت بدنی افزایش یافته به شکل تمرینات ورزشی اثر تعدیل کننده‌ای بر درد (۲۲-۲۴) و اختلالات ایجاد شده بر پروتئین‌های حرکتی در انتقال آکسونی همچون پروتئین کاینزین

6. LaMonte BH, Wallace KE, Holloway BA, Shelly SS, Ascaño J, Tokito M, et al. Disruption of dynein/dynactin inhibits axonal transport in motor neurons causing late-onset progressive degeneration. *Neuron* 2002;34 (5): 715-27.
7. Shah JV, Flanagan LA, Janmey PA, Leterrier J-F. Bidirectional translocation of neurofilaments along microtubules mediated in part by dynein/dynactin. *Molecular biology of the cell* 2000;11 (10): 3495-508.
8. King SJ, Schroer TA. Dynactin increases the processivity of the cytoplasmic dynein motor. *Nature cell biology* 1999;2 (1): 20-4.
9. Barkin RL, Barkin SJ, Barkin DS. Perception, assessment, treatment, and management of pain in the elderly. *Clin Geriatr Med* 2005;21 (3): 465-90.
10. Ho Kim S, Mo Chung J. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental

- spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992;50 (3): 355-63.
11. 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.
 12. 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.
 13. Stagg NJ, Mata HP, Ibrahim MM, Henriksen EJ, Porreca F, Vanderah TW, et al. Regular exercise reverses sensory hypersensitivity in a rat neuropathic pain model: role of endogenous opioids. *Anesthesiol* 2011;114 (4): 940-8.
 14. 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. *Exp Neurol* 2005;196 (2): 401-12.
 15. Mueller PJ. Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34 (4): 377-84.
 16. Speelman AD, van de Warrenburg BP, van Nimwegen M, Petzinger GM, Munneke M, Bloem BR. How might physical activity benefit patients with Parkinson disease? *Nature Rev Neurol* 2011;7 (9): 528-34.
 17. Hafezparast M, Klocke R, Ruhrberg C, Marquardt A, Ahmad-Annur A, Bowen S, et al. Mutations in dynein link motor neuron degeneration to defects in retrograde transport. *Science* 2003;300 (5620): 808-12.
 18. Levy JR, Holzbaur EL. Cytoplasmic dynein/dynactin function and dysfunction in motor neurons. *Int J Dev Neurosci* 2006;24 (2): 103-11.
 19. Waterman-Storer CM, Karki S, Holzbaur E. The p150Glued component of the dynactin complex binds to both microtubules and the actin-related protein cencentractin (Arp-1). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995;92 (5): 1634-8.
 20. Zweifel LS, Kuruvilla R, Ginty DD. Functions and mechanisms of retrograde neurotrophin signalling. *Nat Rev Neurosci* 2005;6 (8): 615-25.
 21. . Puls I, Oh SJ, Sumner CJ, Wallace KE, Floeter MK, Mann EA, et al. Distal spinal and bulbar muscular atrophy caused by dynactin mutation. *Ann Neurol* 2005;57 (5): 687-94.
 22. Taherabadi SJ, Heidarianpour A, Basereh M. Effects of Submaximal Endurance Training and Vitamin D3 Supplementation on Pain Threshold in Diabetic Rats. *Zahedan J Res Med Sci* 2013;15 (7): 22-5.
 23. Rahmati M, Khazani A, Gharakhanlou R, Movaheddin M, Manaheji H. Chronic effects of moderate intensity endurance training on neuropathic pain symptoms in diabetic rats. *Physiol Pharmacol* 2013;16 (4): 435-45 (Persian).
 24. Kluding PM, Pasnoor M, Singh R, Jernigan S, Farmer K, Rucker J, et al. The effect of exercise on neuropathic symptoms, nerve function, and cutaneous innervation in people with diabetic peripheral neuropathy. *J Diabetes Complications* 2012;26 (5): 424-9.
 25. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla SJ, Khazeni A, Mazaheri Z. Effects of Endurance Training on mRNA levels of the KIF1B Motor Protein in Sensory areas of the Spinal Cord of Rats with Diabetic Neuropathy. *Modares J Med Sci Pathobiol* 2013;16 (2): 25-38 (Persian).

THE EFFECTS OF SIX WEEKS OF SCIATIC NERVE LIGATION ON DYNACTIN GENE EXPRESSION IN SCIATIC NERVE OF MALE WISTAR RATS

AbdolrezaKazemi^{1*}, Masoud Rahmati², Majid Hosseinpoor³

Received: 28 Dec , 2014; Accepted: 27 Feb , 2015

Abstract

Background & Aims: Axonal transport is a vital process in nervous system that protects axons and nerve terminals through supplying proteins, lipids and mitochondria and clearing folded proteins to avoid toxicity. Recently it is reported that impairment of motor proteins involved in axonal transport-like dynactin is a common factor in several neurodegenerative disorders such as Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). However, no study was found to investigate the abnormalities in axonal transport due to decreased physical activity and neuropathic pain.

Materials & Methods: Ten adult male Wistar rats in the weight range of 250±30 gr were randomly divided into two groups including healthy control (C) (N=5), ligation group (SNL) (N=5). Over the six weeks, neuropathic pain behavior tests were conducted continually on the groups. In the end of the sixth weeks, change of dynactin gene expression in sciatic nerve measured with real time technique and calculated using the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method.

Results: After 6 weeks, neuropathic pain behavior tests showed that pain threshold of thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in the SNL group was significantly lower than the control group ($p=0.000$). In addition, dynactin gene expression in sciatic nerve ligation group compared to controls decreased significantly ($p=0.001$).

Conclusion: It seems that neuropathic pain and decreased physical activity is associated with decreased dynactin gene expression in sciatic nerve fiber. According to the physiologic functions of dynactin in neurons, this condition may cause functional disorders in the neural and muscular systems.

Keywords: Neuropathic pain, Gene expression, Axonal transport, Dynactin

Address: Physical Education Department, Faculty of Literature & Humanities, Vali-E-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

Tel: +989133982706

Email: A.kazemi@vru.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2015; 26(2): 128 ISSN: 1027-3727

¹ Assistant Professor , Physical Education Department, Faculty of Literature & Humanities, Vali-E-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran (Corresponding Author)

² Assistant Professor , Physical Education Department , Faculty of Literature & Humanities, Lorestan University, Khoramabad, Iran

³ Master Student in Exercise Physiology