دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وسوم–شماره ۱۱۹
آبان ۱۳۹۴

بررسی اثر شش هفته لیگاتوربندی عصب سیاتیک بر رفتار درد و بیان ژن داینئین در موش‌های صحرایی

نویسندگان: مسعود رحمتی[۱و۲]، عبدالرضا کاظمی*[۲و۳]، حمزه سالاری کیسکانی[٤]

۱. گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی،دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
۳. گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران
٤. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات وعلوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی کرمان، کرمان، ایران.

*نویسنده مسئول: عبدالرضا کاظمی E-mail: a.kazemi@vru.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۵
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۴/۰۷/۲۶
پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۰۳

چکیده

مقدمه و هدف: انتقال آکسونی فرایندی حیاتی در سیستم عصبی است و اختلال در پروتئین‌های حرکتی درگیر در انتقال آکسونی، مانند داینئین، عامل رایجی در بسیاری از بیماری‌های تخریب عصبی نظیر اسکلروزیس جانبی آمیوتروفیک (ALS) می‌باشد. بااین‌حال، مطالعه‌ای که اختلالات انتقال آکسونی در اثر فعالیت کاهش‌یافته و درد نوروپاتیک را بررسی کرده باشد، یافت نشد.

مواد و روش‌ها: ده سرموش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن ۳۰±۲۵۰ گرم به دو گروه کنترل سالم (n=۵) و گروه فعالیت کاهش‌یافته (SNL) (n=۵) تقسیم شدند. طی شش هفته پس از آن، آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک در گروه‌های پژوهشی به‌طور مستمر انجام شد. در پایان هفتهٔ ششم تغییرات بیان ژن داینئین در عصب سیاتیک با تکنیک Real time اندازه‌گیری و با روش $^{-\Delta\Delta CT}$ ۲ محاسبه شد.

نتایج: پس از شش هفته، آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک آلودینیای مکانیکی و پردردی حرارتی نشان داد که در گروه SNL آستانهٔ درد نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری کمتر بود ($P \leq ۰/۰۵$)؛ همچنین میزان بیان ژن داینئین در عصب سیاتیک در گروه SNLشده به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود ($P \leq ۰/۰۵$).

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

واژگان کلیدی: درد نوروپاتی، فعالیت بدنی کاهش‌یافته، انتقال آکسونی، داینئین.

مقدمه

نوزایش نورونی در سیستم عصبی محیطی نیازمند بسیج‌کردن سازوکارهایی ذاتی است که موجب رویش نورونی می‌شوند. این فرایندها نیازمند انتقال آکسونی از محل آسیب‌دیده به جسم سلولی نورون جهت تهیهٔ اطلاعات صحیح و به موقع دربارهٔ میزان و گستردگی آسیب آکسونی و فراخوانی پاسخ مناسب جسم سلولی است (۱). آکسون‌ها معمولاً فاقد اندامک‌های سنتزکنندهٔ پروتئین و دیگر مولکول‌ها بوده و تمام اجزای آکسون در جسم سلولی سنتز شده و ازطریق انتقال آکسونی به نقاط هدف در آکسون منتقل می‌شوند (انتقال رو به جلو). به‌طور هم‌زمان سازوکاری تکمیلی وجود دارد که محموله‌ها (مانند پروتئین‌های فرسوده، اندامک‌ها و...) را در جهت مخالف به سمت جسم سلولی انتقال می‌دهد (انتقال رو به عقب) (۲). پروتئین‌های سایتواسکلتونی و حرکتی مرتبط آن نقش اساسی در انتقال آکسونی رو به عقب دارند. انتقال فعال رو به عقب به وسیلهٔ پروتئین حرکتی دایینئین (dynein) وساطت می‌شود (۳). در نورون‌ها دایینئین در انتقال آهسته درگیر بوده (٤) و نقش حیاتی در انتقال سریع آکسونی دارد (۵). بسیاری از بیماری‌های تخریب عصبی (neurodegenerative) با نقص و اختلال در انتقال آکسونی همراه هستند (۱) و به نظر می‌رسد که این اختلالات نقش کلیدی در پاتولوژی بیماری‌های تخریب عصبی دارند. بااین‌حال، کمتر مطالعه‌ای را می‌توان یافت که به بررسی اختلالات پروتئین‌های درگیر در انتقال آکسونی در بیماری درد نوروپاتی پرداخته باشد. درد نوروپاتی دردی است که از آسیب یا بیماری اعصاب حسی‌پیکری (somatosensory) حاصل می‌شود و موجب اختلال در عملکرد سیستم عصبی مرکزی و محیطی شده و به شکل آلودینیا، پردردی و درد خودبه‌خود مشاهده می‌شود (٦). علاوه بر تغییر سیستم عصبی، درد نوروپاتیک موجب کاهش سطح فعالیت جسمانی و حرکت می‌شود و با کاهش فعالیت بدنی و انجام کارهای روزانه مرتبط است (۷، ۸). این کاهش فعالیت موجب عدم آمادگی جسمانی، افزایش فشار خون و کاهش عملکرد عضلانی‌اسکلتی می‌شود (۹ و ۱۰).

علاوه بر تغییرات در سیستم عصبی مرکزی و محیطی، درد نوروپاتیک موجب کاهش سطح فعالیت جسمانی و حرکتی بیماران شده و آن‌ها را در معرض کاهش فعالیت بدنی و عوارض ناشی از آن همچون بیماری قلبی‌عروقی و عضلانی قرار می‌دهد (۱۱). کاهش فعالیت ناشی از درد نوروپاتیک ممکن است با اختلالات پروتئین‌های مرتبط با انتقال آکسونی همراه باشد که شناخت پاتولوژی آن ممکن است ما را در رسیدن به راه‌های مقابله با آن یاری دهد. *تاکه‌مورا*[1] و همکاران (۱۲) به بررسی بیان مختلف پروتئین‌های دایینئین در مغز موش‌ها در مدل خراش عصب سیاتیک (Sciatic Nerve Crush) پرداختند؛ اما مطالعات اندکی کاهش فعالیت ازطریق روش SNL را موردبررسی قرار دادند.

در این شرایط (فعالیت کاهش‌یافته و آسیب اعصاب محیطی) ممکن است اختلالات اعصاب حرکتی ناشی با اختلال پروتئین‌های مرتبط با انتقال آکسونی همراه باشد. باتوجه‌به این احتمال در این تحقیق تأثیر شش هفته کاهش فعالیت به شکل نوروپاتی دردناک بر بیان ژن دایینئین عصب سیاتیک موش‌های صحرایی نر بررسی شد.

روش‌شناسی

ده سرموش صحرایی نر نژاد ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۰±۲۵۰ گرم خریداری و در شرایط دمایی ٤±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی‌روشنایی در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس نگهداری و با غذای مخصوص و آب تغذیه شدند. موش‌های صحرایی به دو گروه کنترل سالم (تعداد=۵) و گروه فعالیت کاهش‌یافته (SNL) (تعداد=۵) تقسیم و بر اساس وزن همسان‌سازی شدند. هر روز به

[1] - Takemura

وضعیت بهداشتی حیوانات رسیدگی می‌شد. در سراسر دورهٔ پژوهش، موش‌ها توسط دو نفر نیز جابه‌جا و دست‌کاری شدند. در پژوهش حاضر، کلیهٔ اصول اخلاقی کار با حیوانات توسط کمیتهٔ اخلاق دانشگاه موردبررسی و تأیید قرار گرفت.

نحوهٔ لیگاتوراسیون

جهت لیگاسیون، ابتدا موش‌های صحرایی با سدیم پنتوباربیتول (٦٠ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به صورت درون صفاقی) بی‌هوش شده و سپس عصب پنجم کمری نخاعی آن‌ها بر اساس روش کیم و چانگ (١٣) به‌طور محکم گره زده شد. به‌طور خلاصه، عضلات بین مهره‌ای در سطح مهرهٔ چهارم کمری و دوم خاجی جدا شده و زائدهٔ عرضی مهرهٔ ششم کمری برداشته شد. عصب پنجم کمری سمت چپ نخاع مشخص و با ظرافت از اعصاب مجاور جدا می‌گردید. عصب پنجم کمری به‌طور 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 می‌گردید. تنها، حیواناتی در ادامهٔ آزمایش لحاظ شدند که درد نوروپاتی را در آزمون‌های رفتاری نشان دادند (١٣).

آزمون‌های رفتاری

به منظور سازگاری جهت آزمایش‌های رفتاری نیز حیوانات پیش از لیگاتوربندی نخاع به مدت سه روز در معرض آزمایشات رفتاری (دو بار برای هر آزمایش) قرار گرفتند. بدین صورت که حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه رفتار درد، بدون اجرای واقعی آزمایش، به مدت ٢٠ تا٣٠ دقیقه در محیط اصلی آزمایش قرار می‌گرفتند (١٤). سرانجام به‌منظور ثبت اولیهٔ میزان رفتارهای درد، پس از اجرای اولیهٔ آزمون‌ها عملیات لیگاتوربندی انجام شد. هر هفته پس از لیگاتوربندی، با اجرای مجدد آزمون‌های رفتاری درد و پس از اطمینان‌یافتن از وقوع درد نوروپاتیک، حیواناتی که پاسخ درد نوروپاتیک را در گروه لیگاسیون نشان دادند، به‌عنوان آزمودنی در پژوهش در نظر گرفته شدند. تا پایان پژوهش، آزمون‌های رفتاری به‌منظور تأیید وجود درد نوروپاتیک در آزمودنی‌ها هر هفته اجرا گردید (١٤).

به منظور اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی با استفاده از سوزن‌های Von Ferry، حیوان بر روی یک شبکهٔ سیمی و در داخل یک محفظهٔ پلکسی‌گلاس به ابعاد ٢٠×٢٠ و ارتفاع ٣٠ سانتی‌متر قرار گرفت. جهت عادت‌کردن حیوانات به محیط جدید ٣٠ دقیقه قبل از آزمایش، درون محفظهٔ شفاف و بر روی صفحهٔ مشبک قرار گرفتند. از تارهای مختلف Von Ferry در محدودهٔ ٢ تا ٦٠ گرم (٢، ٤، ٦، ٨، ١٥، ٢٦ و٦٠) ساخت شرکت Stolting، USA 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 دو بار متوالی، پاسخ، بلندکردن پا توسط حیوان، مشاهده می‌گردید، همان وزنه به‌عنوان آستانهٔ پس‌کشیدن پنجه(PWT) ثبت شد و آزمون خاتمه یافت. چنانچه حیوان به هیچ‌یک از تارها، ازجمله تار شمارهٔ ٦٠ نیز پاسخ نمی‌داد، عدد ٦٠ به‌عنوان آستانهٔ پاسخ در نظر گرفته شد. همچنین، هر آزمایش سه بار و به تناوب حداقل سه دقیقه تکرار شد و میانگین آن‌ها به‌عنوان آستانهٔ پس‌کشیدن پنجه منظور گردید (١٥).

پردردی حرارتی با استفاده از روش Hargreaves و همکاران (١٦) با کمی تغییر، موردسنجش قرار گرفت. به‌طور خلاصه، با استفاده از دستگاه Radiant Heat Plantar Test (Ugo Bassil, Italy) حیوانات در سه اتاقک از جنس پلکسی‌گلاس (طول و عرض ٢٢ و ارتفاع ٣٠ سانتی‌متر) و بر روی یک صفحهٔ پلکسی‌گلاس تمیز قرار گرفتند. پس از ٣٠ دقیقه سازگاری حیوان با محیط جدید، با جابه‌جایی منبع متحرک تابش نور حرارتی، بخش میانی کف پای حیوان از میان سطح پلکسی‌گلاس 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 پس‌کشیدن پنجه (PWL) میزان تحمل حیوان نسبت به محرک آسیب‌رسان حرارتی موردسنجش قرار گرفت. هر پا به‌طور متناوب و با فواصل پنج تا ۱۰ ده دقیقه، برای سه بار آزمایش و میانگین آن‌ها به‌عنوان آستانهٔ درد حرارتی ثبت شد. همچنین، جهت جلوگیری از آسیب بافت، نقطهٔ نهایی آزمایش ۲۲ ثانیه در نظر گرفته شد. همچنین، میانگین سه اندازه‌گیری اولیه به‌عنوان تأخیر پایه در نظر گرفته شد (۱۷).

استخراج نمونه

چهل‌وهشت ساعت پس از پایان دورهٔ شش هفته، موش‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین (90 mg/kg) و زایلازین (10 mg/kg) بی‌هوش و سگمنت‌های نخاعی تشکیل‌دهندهٔ عصب سیاتیک (L4-L6) که در رت، میان دنده‌های (mm 25-20) T10-T12 قرار گرفته اند (۱۸)، با برش در پایین‌ترین بخش ممکن بلافاصله استخراج شد. تمامی نمونه‌ها در نیتروژن ۸۰- منجمد و برای تجزیه‌و تحلیل بعدی نگهداری شدند.

بیان ژن داینئین

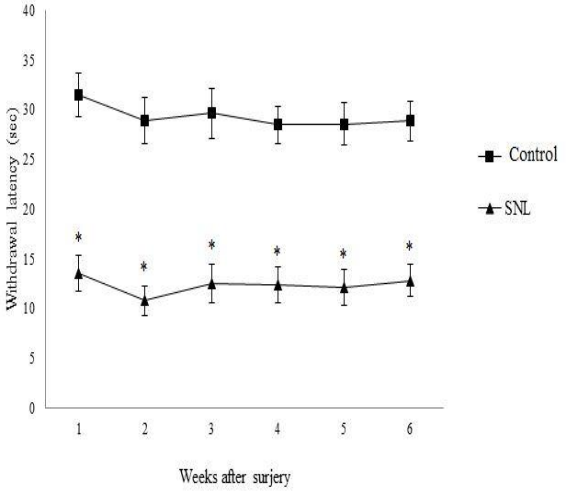
سنجش حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت نخاع جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در C40، 10 min، 12000 g سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ٤ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰سانتریفوژ 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 در C4۰، 10 min، 12000 g سانتریفوژ شد. pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در 20 Lµ آب RNAS-Free حل گردید. غلظت RNA موردسنجش قرار گرفت (Eppendorff, Germany) و نسبت جذبی ۲٦۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از1gµ از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Mmulv Reverse transcriptaseانجام گرفت. اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA dynein از روش کمی Real time-PCR با استفاده از Primix syber green II انجام شد (Applied USA Biosystems). مخلوط واکنش در حجم نهایی 20 Lµ و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های dynein و GAPDH در بانک ژنی NBCI و توسط شرکت ماکروژن (Macrogen Inc., Seoul, Korea) انجام شد. توالی پرایمرهای مورداستفاده در جدول شمارهٔ ۲ گزارش شده است، ضمن اینکه از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید. برنامهٔ دمایی مورداستفاده در-Real time PCRشامل ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ٦۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ٤۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های موردنظر نیز با روش$-\Delta\Delta CT$ ۲ محاسبه شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

جهت تعیین نرمال‌بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (KS) استفاده شد. جهت تعیین معناداری تفاوت بین متغیرها و تعامل آن‌ها در گروه کنترل (تعداد= ۵) و گروه تجربی (تعداد=۵) از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌های تکراری و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS-20 انجام و سطح معناداری ۰/۰۵ (α<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

نتایج

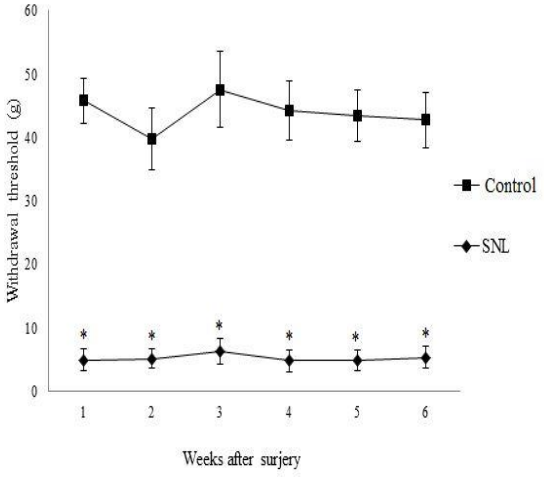
در طول شش هفته گروه لیگاتوربندی (SNL) در پس‌کشیدن پا (پردردی حرارتی) به‌طور معناداری زودتر نسبت به گروه کنترل واکنش نشان دادند (نمودار ۱).



نمودار ۱. تغییرات درد نوروپاتیک (هایپرآلژزیای حرارتی)

* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل

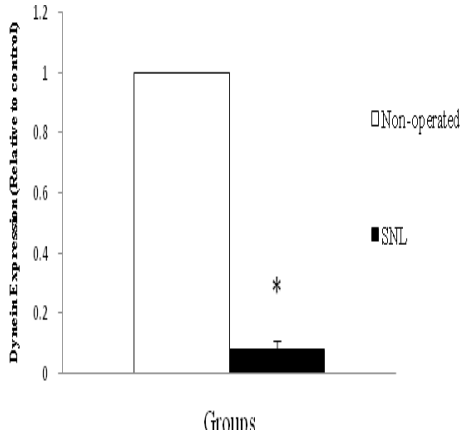
در طول شش هفته گروه لیگاتوربندی (SNL) در آستانهٔ تحریک درد پا (آلودینیای مکانیکی) به‌طور معناداری زودتر نسبت به گروه کنترل واکنش نشان دادند (نمودار ۲).



نمودار ۲. تغییرات درد نوروپاتیک (آلودینیای مکانیکی)

* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل

در پایان شش هفته، بیان ژن داینئین در گروه لیگاتوربندی (SNL) نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش نشان داده بود (نمودار ۳).



نمودار ۳. تغییرات بیان ژن داینئین

*اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل

بحث

کاهش فعالیت بدنی با بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند درد نوروپاتی مرتبط بوده و موجب کاهش عملکرد روزانه و کیفیت زندگی بیماران می‌شود. همچنین کاهش فعالیت بدنی می‌تواند موجب کاهش آمادگی جسمانی و وخیم‌ترکردن خود بیماری شود (۸).

در تحقیق حاضر مشاهده شد که کاهش فعالیت بدنی شش هفته‌ای به شکل لیگاتوربندی نخاع موجب کاهش بیان ژن داینئین در عصب سیاتیک موش‌های دچار SNL می‌شود. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعهٔ رحمتی و همکاران (۲۰۱۳)، کلودیج و همکاران (۲۰۱۲)، طاهرآبادی و همکاران (۲۰۱۳) همسو بود (۲۸ و۳۰). این مطالعات نشان دادند تمرین ورزشی، درد نوروپاتیک و بیان ژن پروتئین‌های تسهیل‌کنندهٔ عصبی را بهبود می‌بخشد. در پژوهش حاضر نیز بیان ژن داینئین و درد نوروپاتیک با بی‌فعالیتی مختل می‌شود. داینئین پروتئین حرکتی است که مسئول انتقال رو به عقب آکسونی در نورون‌ها است. نورون‌های حرکتی دارای آکسون‌های طویلی هستند که طول آن‌ها در انسان در برخی موارد به یک متر می‌رسد. در این شرایط، انتقال آکسونی برای

عملکرد طبیعی سلول بسیار حیاتی به نظر می‌رسد. مشخص شده است که اختلال در عملکرد داینئین موجب کاهش انتقال رو به عقب خواهد شد (۱۹). علاوه بر این، ممکن است مهار انتقال آکسونی موجب تخریب اعصاب حرکتی و بروز علایمی شود که در بیماری ALS مشاهده می‌شود (۲۰). همچنین نشان داده شده است که داینئین نقش حیاتی در نورون‌ها داشته و جهش آن با بیماری‌های تخریب نورون حرکتی مرتبط است (۲۱و۲۰).

داینئین نقش کلیدی در پیام‌رسانی رو به عقب همانند مسیرهای پیام‌رسانی‌شده ناشی از فاکتورهای رشدی داشته و در انتقال توده (bulk) از سیناپس به جسم سلولی در طول آکسون و شرکت در میتوز و مبادلهٔ وزیکولی نیز دخالت دارد (۱۹). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که مهار داینئین موجب مهار انتقال دوطرفهٔ آکسونی و وزیکولی می‌شود (۲۳). علاوه بر نقش حیاتی داینئین در انتقال وزیکولی، در دیگر اعمال نورونی همچون پیام‌رسانی رو به عقب، قرارگیری mRNA، انتقال نوروفیلامنت و مهاجرت نورونی، بازیابی و تخریب پروتئینی درگیر است (۱۹). پیام‌رسانی رو به عقب احتمالاً نقش مهمی در طول رشد بازی کرده و تعامل کارایی را بین بافت هدف و نورون وساطت می‌کند، بنابراین به نورون اجازه می‌دهد به‌طور حساسی به محیط پاسخ دهد (۱۹). علاوه بر این، ممکن است اختلال در دستگاه انتقال آکسونی رو به عقب موجب مهار پیام‌رسانی فاکتورهای رشدی شده و به تخریب نورونی منجر شود (۲٤). در اثبات این فرضیه نشان داده شده است که مهار انتقال رو به عقب در نورون‌های حرکتی آسیب‌دیده موجب ازبین‌رفتن نورون و آتروفی عضلانی می‌شود (۳).

با وجود نامشخص‌بودن سازوکارهای اختلال عملکردی داینئین مشخص شده است که این شرایط در ایجاد تخریب نورون حرکتی کافی است. یکی از سازوکارهای احتمالی این پدیده اختلال در پیام‌رسانی آسیب در نورون‌های آسیب‌دیده است که توسط داینئین وساطت می‌شود که به مرگ سلولی منجر می‌شود (۱۹). یکی از نقش‌های جالب داینئین انتقال آکسونی نوروفیلامنت‌ها می‌باشد (۲۵). اختلال در انتقال آکسونی ممکن است به اختلال در نوروفیلامنت‌ها منجر شده که می‌تواند سبب تجمع نوروفیلامنت‌ها در آکسون شود. برداشت پروتئین‌های انباشته‌شده احتمالاً یکی از مشکلات کلیدی در نورون‌ها است و چنین وضعیتی در بسیاری از بیماری‌های تخریب عصب همانند ALS با تجمع پروتئین‌ها مثل نوروفیلامنت‌ها مشاهده می‌شود (۱۷). مطابق با این فرضیه، خاموشی (knockdown) بیان ژن داینئین در کشت بافت نورونی (۲۳) و مهار داینئین موش‌های تراریخته (transgenic) به انباشتگی نوروفیلامنت‌ها منجر می‌شود (۳).

نقش داینئین در انتقال رو به عقب، این پروتئین را به‌عنوان یک کاندید ایدئال جهت جمع‌آوری پسماندها (taking out the trash) در سلول مطرح کرده که پروتئین‌های انباشته و تاخورده را از محیط سلولی جمع‌آوری کرده و به جسم سلولی جهت بازیابی یا تجزیه حمل می‌کند (۲٦). باتوجه‌به اعمال فیزیولوژیک داینئین در نورون به نظر می‌رسد که کاهش فعالیت بدنی و درد نوروپاتی با کاهش بیان ژن داینئین همراه بوده که این شرایط احتمالاً موجب اختلالات عملکردی سیستم عصبی و عضلانی می‌شود. بااین‌حال، مشخص نیست که آیا افزایش فعالیت بدنی به شکل تمرینات استقامتی و قدرتی می‌تواند از تغییر در بیان ژن داینئین در شرایط درد نوروپاتی جلوگیری کند یا خیر. درصورتی‌که گزارش شده است که فعالیت بدنی افزایش‌یافته به شکل تمرینات ورزشی اثر تعدیل‌کننده‌ای بر درد (۲۷تا۲۹) و اختلالات ایجاد شده بر پروتئین‌های حرکتی در انتقال آکسونی همچون پروتئین کاینزین و داینئین (۳۰) در بیماری درد نوروپاتیک دارد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، در پژوهش حاضر مشخص شد که کاهش فعالیت بدنی به شکل SNL می‌تواند با اثرات مخرب عصبی همچون پردردی، آلودینیا و کاهش بیان ژن داینئین همراه است. به نظر می‌رسد افزایش فعالیت ورزشی و فعالیت بدنی بتواند از تخریب نورونی جلوگیری کند؛ بااین‌حال، تأیید این فرضیه مستلزم مطالعات گسترده‌ای در این رابطه می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود بیماران دیابتی به این منظور از تمرینات ورزشی سود ببرند.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل طرح پژوهشی دانشگاه ولی-عصر (عج) رفسنجان و پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی می‌باشد بدینوسیله نویسندگان مقاله 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.

منابع

1. Millecamps S, Julien J-P. Axonal transport deficits and neurodegenerative diseases. Nature Reviews Neuroscience 2013;14(3):161-76.
2. Goldstein LS, Yang Z. Microtubule-based transport systems in neurons: the roles of kinesins and dyneins. Annual review of neuroscience 2000;23(1):39-71.
3. 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.
4. Brokaw CJ. Simulation of cyclic dynein-driven sliding, splitting, and reassociation in an outer doublet pair. Biophysical journal 2009;97(11):2939-47.
5. Pilling AD, Horiuchi D, Lively CM, Saxton WM. Kinesin-1 and Dynein are the primary motors for fast transport of mitochondria in Drosophila motor axons. Molecular biology of the cell 2006;17(4):2057-68.
6. Treede R-D, Jensen TS, Campbell J, Cruccu G, Dostrovsky J, Griffin J, et al. Neuropathic pain redefinition and a grading system for clinical and research purposes. Neurology 2008;70(18):1630-5.
7. Barkin RL, Barkin SJ, Barkin DS. Perception, assessment, treatment, and management of pain in the elderly. Clinics in geriatric medicine 2005;21(3):465-90.
8. van den Berg-Emons RJ, Schasfoort FC, de Vos LA, Bussmann JB, Stam HJ. Impact of chronic pain on everyday physical activity. European Journal of Pain 2007;11(5):587-93.
9. Evans WJ. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. The American journal of clinical nutrition 2010;91(4):1123S-7S.
10. Daemen M, Kurvers H, Bullens P, Slaaf D, Freling G, Kitslaar P, et al. Motor denervation induces altered muscle fibre type densities and atrophy in a rat model of neuropathic pain. Neuroscience letters 1998;247(2):204-8.
11. Sato K, Johanek L, Sanada L, Sluka K. Spinal cord stimulation reduces mechanical hyperalgesia and glial cell activation in animals with neuropathic pain. Anesthesia and analgesia 2014;118(2):464.
12. Takemura R, Nakata T, Okada Y, Yamazaki H, Zhang Z, Hirokawa N. mRNA expression of KIF1A, KIF1B, KIF2, KIF3A, KIF3B, KIF4, KIF5, and cytoplasmic dynein during axonal regeneration. The Journal of neuroscience 1996;16(1):31-5.
13. 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.
14. 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.
15. Calcutt NA, Jorge MC, Yaksh TL, Chaplan SR. Tactile allodynia and formalin hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin, aldose reductase inhibition and lidocaine. Pain 1996;68(2):293-9.
16. 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.
17. 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. Anesthesiology 2011;114(4):940-8.

18. 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.
19. Levy JR, Holzbaur EL. Cytoplasmic dynein/dynactin function and dysfunction in motor neurons. International journal of developmental neuroscience 2006;24(2):103-11.
20. Ross JL, Wallace K, Shuman H, Goldman YE, Holzbaur EL. Processive bidirectional motion of dynein–dynactin complexes in vitro. Nature Cell Biology 2006;8(6):562-70.
21. Hafezparast M, Klocke R, Ruhrberg C, Marquardt A, Ahmad-Annuar A, Bowen S, et al. Mutations in dynein link motor neuron degeneration to defects in retrograde transport. Science 2003;300(5620):808-12.
22. King SM. The dynein microtubule motor. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research 2000;1496(1):60-75.
23. He Y, Francis F, Myers KA, Yu W, Black MM, Baas PW. Role of cytoplasmic dynein in the axonal transport of microtubules and neurofilaments. The Journal of cell biology 2005;168(5):697-703.
24. Holzbaur EL. Motor neurons rely on motor proteins. Trends in cell biology 2004;14(5):233-40.
25. Wagner OI, Ascaño J, Tokito M, Leterrier J-F, Janmey PA, Holzbaur EL. The interaction of neurofilaments with the microtubule motor cytoplasmic dynein. Molecular biology of the cell 2004;15(11):5092-100.
26. Johnston JA, Illing ME, Kopito RR. Cytoplasmic dynein/dynactin mediates the assembly of aggresomes. Cell motility and the cytoskeleton 2002;53(1):26-38.
27. Taherabadi SJ, Heidarianpour A, Basereh M. Effects of Submaximal Endurance Training and Vitamin D3 Supplementation on Pain Threshold in Diabetic Rats. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences 2013;15(7):22-5.
28. 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.
29. 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. Journal of Diabetes and its Complications 2012;26(5):424-9.
30. 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 Journal of Medical Sciences: Pathobiology 2013;16(2):25-38.

Daneshvar

Medicine

Investigation of the effect of 6-week ligation of sciatic nerve on neuropathic pain and dynein gene expression in rats

Masoud Rahmati[1,2], Abdolreza Kazemi[2,3*], Hamzeh Salary[4]

1. Physical Education Dept., Faculty of Literature & Humanities, Lorestan University, Khoramabad, Iran.
2. Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
3. Physical Education Dept., Faculty of Literature & Humanities, Vali-E-Asr University of Rafsanjan, Iran.
4. Exercise Physiology Dept., Faculty of Literature & Humanities, Islamic Azad University, Kerman, Iran.

***E-mail: A.kazemi@vru.ac.ir**

Abstract

Background and Objective: Axonal transport is a vital process in nervous system. Impairment of motor proteins involved in axonal transport like dynein is a common factor in several neurodegenerative disorders such as amyotrophic lateral sclerosis (ALS). However, no study found on abnormalities in axonal transport due to decreased physical activity and neuropathic pain.

Materials and Methods: Ten adult male Wistar rats (250±30 g) were randomly divided into two groups including healthy control (C) (n=5) and decreased physical activity (SNL) (n=5). Over the six weeks, neuropathic pain behavioral tests conducted continually in groups. At the end of sixth week, change of dynein 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 that in control group ($p<0.05$). In addition, dynein gene expression in sciatic nerve ligation group compared to controls significantly decreased ($p<0.05$).

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

Keywords: Neuropathic pain, Decreased physical activity, Axonal transport, Dynein

Scientific-Research Journal of Shahed University 23th Year, No.119
October- November, 2015

Received: 06/09/2015
Last revised: 18/10/2015
Accepted: 25/10/2015