

# تأثیر شش هفته تمرین هوازی بر کاهش درد نوروپاتی محیطی و پیش گیری از بیان گیرنده *NOTCH1* و مسیر سیگنالی *JAK/STAT* در شاخه خلفی نخاع موشهای نر صحرایی دیابتی

سیروس حسینی عسکر آبادی<sup>۱</sup>، رحیم میرنصوری<sup>۲\*</sup>، مسعود رحمتی<sup>۳</sup>

## چکیده

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

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

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

نتیجه گیری: به نظر می رسد که فعالیت هوازی بر روی موشهای دیابتی بتواند بر کاهش حس درد و بیان ژنهای *NOTCH1*، *IL6*، *TNF-a* و *STAT3* تاثیر گذار باشد و این تمرینات روش مناسبی برای پیشگیری، کنترل و درمان درد ناشی از دیابت باشند.

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

۱-دانشجوی دکترا فیزیولوژی ورزشی.

۲- استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی.

۳-دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی.

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

\*نویسنده مسؤول:

رحیم میرنصوری؛ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۶۶۸۷۳۸

Email: nirnasuri.r@lu.ac.ir

## مقدمه

شیوع جهانی دیابت در حال افزایش است و این بیماری به عنوان یک بیماری اپیدمی شناخته شده است. عوارض این بیماری می تواند بر کیفیت و طول زندگی افراد مبتلا به آن تاثیر گذاشته و مشکلات زیادی را برای آنها ایجاد کرده است (۱). نوروپاتی محیطی یکی از عوارض شایع دیابت است که می تواند باعث برخی مشکلات عملکردی، حسی و همچنین باعث پایین آمدن آستانه درد در این بیماران شود (۲). درد نوروپاتی محیطی یکی از سخت ترین انواع دردها به درمان است. با وجود از استفاده ضد دردهای متعدد اما این نوع درمان داروی فقط اثر بخشی جزعی و عوارض جانبی را به همراه دارد و باعث تحمیل هزینه های درمانی زیادی بر جوامع شده است (۳). بر اساس یافته ها، تقریباً بیش از نیمی از بیماران دیابتی که درد نوروپاتی را تجربه کردند در دوره درمان، تسکین درد را تجربه نمی کنند (۴). مطالعات نشان داده اند که عوارض دیابت قندی با هیپرگلیسمی متوسط تا شدید که با بیان برخی پروتئین های *JAG-1* و *DLL1* که در فرایند های التهابی ناشی از دیابت دخالت دارند و در بافتهای عصبی نشان دهنده یک شرایط التهاب عصبی می باشد همراه است (۵) گیرنده های متعددی به عنوان ماشه شروع مسیرهای پیام رسانی منتهی به التهاب دخیل اند، که هر کدام از آنها نیز پروفایل ژنی خاص خود را دارا می باشند. یکی از گیرنده های پیام رسانی منتهی به التهاب *Notch1* است، که در تکامل و توسعه سیستم عصبی و همچنین در الاستیک سیناپسی در (CNS) بزرگسالان نقش مهمی دارد (۶). بیان و فعالیت *NOTCH1* پس از آسیب عصبی به طور قابل توجهی افزایش می یابد که منجر به انتشار دامنه درون سلولی *NOTCH1* و تحریک تولید *IL-6* در این سلولها می شود (۷، ۸) فعال شدن پاسخ های ایمنی سیستم عصبی می تواند فعالیت سیناپسی را به صورت پایدار تغییر داده و موجب بیان مسیر *JAK/STAT* شود. مسیر *JAK/STAT* در حال حاضر به عنوان یک مسیر سیگنالی

تکاملی است که سایتوکاین های گوناگون، اینترفرون ها و فاکتورهای رشد کنترل بیان ژنهای آن را در دست می گیرند (۹) شواهدی وجود دارد که نشان می دهند *STAT3* به طور مستقیم در التهاب نقش دارد و *IL-6* یکی از واسطه گرای اصلی التهاب است که اثر خود را از طریق مسیر *STAT3* القا می کند و باعث ایجاد فسفریلاسیون آن می شود. فسفریلاسیون *STAT3* موجب بیان ژنهایی که تکثیر سلولی، تمایز و آپوپتوز را تنظیم می کنند می شود (۱۰) در سطح سلولی ملوکولی مسیر سیگنالی *JAK/STAT* یک مسیر حیاتی برای سایتوکینهای نوروپاتی مثل *IL-6* است (۱۱). مطالعات اخیر نیز نشان می دهد که گیرنده *Notch1* و مسیر سیگنالی *JAK/STAT* برای توسعه درد نوروپاتی و التهاب بسیار مهم هستند. کلینک ایکسی و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی الودینای مکانیکی در موش های دارای نوروپاتی درد به واسطه فعال کردن گیرنده *Notch1* پرداختند و به این نتیجه رسیدند که بیان گیرنده *Notch1* با القاء و ادامه الودینا همراه است (۱۲). با این حال، عملکرد گیرنده *NOTCH1* و مسیر سیگنالی *JAK/STAT* در نوروپاتی ناشی از دیابت هنوز به طور گسترده ای مورد بررسی قرار نگرفته است و تحقیقاتی که در این زمینه انجام شده بیشتر از عوامل داروی برای کنترل این مسیر و کاهش آسیب های نرونی و عوارض ناشی از آن استفاده کرده اند. با توجه به اهمیت گیرنده *Notch1* و مسیر سیگنالی *JAK/STAT* هدف تحقیق حاضر به بررسی تاثیر شش هفته تمرین هوازی بر عوامل مرتبط با گیرنده *Notch1* و مسیر سیگنالی *JAK/STAT*، در بخش حسی نخاع رت های با نوروپاتی درد دیابتی پرداخته می شود.

## روش بررسی

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

ساعت ۱۶ تا ۱۸ عصر برگزار شد. همچنین آزمایشات رفتاری نیز میان ساعت ۷ تا ۱۰ صبح به عمل آمد. به منظور بررسی اثرات طولانی مدت تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، مجدداً آزمون‌های رفتاری درد انجام گرفت.

#### آزمون‌های رفتاری:

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

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

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

وزنی  $220 \pm 10/2$  گرم) از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات در شرایط دمایی  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی روشنایی نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، آشنا سازی با نورگردان و دستکاری، موشها به صورت تصادفی به ۴ گروه با تعداد مساوی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: گروه نوروپاتی دیابتی تمرین (۱۰سر)، گروه نوروپاتی دیابتی کنترل (۱۰سر)، گروه کنترل سالم تمرین (۱۰سر)، گروه سالم کنترل (۱۰سر). در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات توسط کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران اهواز مورد بررسی و تایید قرار گرفته است. با کد اخلاق: IR.SSRC.REC.1397.017

#### القاء دیابت:

در پایان پروتکل آشناسازی موشها و پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، القاء دیابت با تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با تزریق محلول استروپتوزوتوسین STZ حل شده در بافر سیترات  $M/0.5$  با  $pH: 4/5$  که هدف القای دیابت نوع یک بود انجام گرفت (۱۳). موش‌های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات  $M/0.5$  با  $pH: 4/5$  به صورت درون صفاقی دریافت کردند. پس از ۴۸ ساعت تزریق، با ایجاد یک جراحی کوچک توسط لانس بر روی ورید دم، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری دستگاه گلوکومتر (*Glucotrend 2*)، شرکت روزه آلمان) اندازه‌گیری و موش‌های صحرائی که قند خون آنها بالاتر از  $300 \text{ mg/dl}$  باشد، به عنوان دیابتی در نظر گرفته می‌شوند. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون در پایان برنامه تمرینی نیز قند خون موش‌ها اندازه‌گیری شد (۱۴). دو هفته پس از القاء دیابت، با اجرای آزمون‌های رفتاری درد و پس از اطمینان یافتن از وقوع درد نوروپاتی در گروه‌های دیابتی، پروتکل تمرین هوایی به مدت ۶ هفته انجام گرفت. تمام جلسات تمرین در پایان سیکل خواب حیوانات و بین

تزریق فرمالین، به ترتیب به عنوان درد حاد و مزمن در نظر گرفته شد. فاصله زمانی بین دقایق ۱۵-۱۰ دوره خاموش کوتاه مدت به حساب می آید، که پاسخ ناشی از درد در پنجه‌ی پای تزریق شده، مشاهده نشد.

پروتکل تمرین استقامتی:

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

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

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

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

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

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

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

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

۶۰-۵۸ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. ضمن اینکه از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول  $R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$  میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها .

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

#### یافته‌ها

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

نخاع را به عنوان نمونه، در نیتروژن  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد منجمد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های ملکولی در فریزر  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

ریل تایم Real Time-PCR: حدود ۵۰ میلی گرم از بافت نخاع جهت استخراج RNA کل به نسبت ۱ به ۱۰ با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد، به مدت ۱۰ دقیقه، با دور  $12000\text{g}$  سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۵/۰ با محلول کلروفورم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد، به مدت ۱۵ دقیقه، با دور  $12000\text{g}$  سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت یک به نیم با محلول ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ده دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد، به مدت ۱۰ دقیقه، با دور  $12000\text{g}$  سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در محلول اتانول شستشو و در ۲۰ میلی لیتر آب RNase-free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد طبق شرکت (Eppendorf - Germany) و به نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تلخیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligo dt MWG- (Biotech, Germany) و آنزیم نسخه برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل انجام شد. از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن‌های *IL6*, *TNF-a*, *NOTCH1* و *STAT3* به صورت کمی استفاده شد، هر واکنش PCR با استفاده از دستگاه (Applied Biosystems SYBR Green) در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Foster City, Sequence Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۲۰ ثانیه،

نوروپاتی تمرین نسبت به گروه نوروپاتی کنترل به طور معنی داری بیشتر بود.

همچنین نتایج حاصله از آزمون فرمالین به صورت پیش‌آزمون و پس‌آزمون در گروه‌های مختلف در جدول ۲ نشان می‌دهد که دو هفته پس از القای دیابت و بعد از شش هفته تمرین هوازی بین میزان حس درد در گروه‌های مختلف تفاوت معنی داری در دو فاز حاد و مزمن وجود دارد ( $p = 0.001$ ) ولی نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که بین گروه نوروپاتی کنترل و نوروپاتی تمرین ( $p = 0.299$ ) و گروه سالم کنترل و سالم تمرین ( $p = 0.99$ ) قبل از تمرین در مرحله حاد تفاوت معنی داری وجود ندارد. اما پس از شش هفته تمرین هوازی در مرحله حاد تنها بین گروه کنترل سالم و گروه نوروپاتی دیابت تمرین تفاوت وجود ندارد ( $p = 0.99$ ) ولی بین گروه کنترل نوروپاتی و تمرین نوروپاتی تفاوت معنی داری وجود دارد ( $p = 0.001$ ). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در مرحله مزمن آزمون فرمالین نشان داد که بین گروه نوروپاتی کنترل و گروه نوروپاتی تمرین ( $p = 0.99$ ) و گروه سالم کنترل و گروه سالم تمرین ( $p = 0.99$ ) قبل از تمرین تفاوت معنی داری وجود ندارد. و پس از شش هفته تمرین هوازی در مرحله مزمن بین گروه کنترل سالم و گروه نوروپاتی دیابت تمرین تفاوت وجود ندارد ( $p = 0.99$ ) که این نشان از تاثیر تمرین بر میزان درد در گروه دیابتی تمرین می‌باشد. میانگین نمرات درد در گروه‌های مختلف پس از هفته دوم و پس از گذشت شش هفته تمرین هوازی در دو فاز حاد و مزمن به دنبال تجویز کف پایی فرمالین مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داده شد که نمرات درد گروه نوروپاتی دیابت بیشتر از موش‌های کنترل بود و تمرین به مدت شش هفته باعث کاهش معنی دار در نمرات درد گروه تمرین سالم در مقایسه با گروه دیابتی تمرین در مراحل حاد و مزمن گردید.

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

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

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

بیان این ژن در گروه نوروپاتی دیابتی کنترل نسبت به سایر گروهها به طور معنی داری بیشتر بوده و این نشان از تاثیر دیابت بر بیان ژن Notch1 می باشد. ولی گروههای دیگر تفاوت معناداری در سطوح بیان ژن Notch1 نسبت به گروه سالم کنترل را نشان ندادند و همچنین بین گروه نوروپاتی دیابتی تمرین نسبت به گروه سالم کنترل و سالم تمرین با وجود تفاوت اندک ولی این تفاوت معنی داری نبود. همچنین میزان بیان ژن Notch1 در گروه دیابت تمرین نسبت به گروه سالم کنترل و سالم تمرین بیشتر بود ولی نسبت به گروه کنترل دیابت کمتر بود و همچنین میزان بیان ژن Notch1 در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل با کاهش همراه بود که این نشان از تاثیر تمرین هوازی بر کنترل بیان ژن Notch1 دارد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان دادند که بیان سیتوکینهای التهابی IL6 و TNF-a در نرونهای بخش خلفی نخاع در گروه نوروپاتی دیابتی کنترل نسبت به سایر گروهها به طور معنی داری بیشتر بوده. این نتایج نشان می دهد که دیابت بر بیان ژن STAT3 تاثیر داشته اما با وجود بیشتر بودن میزان بیان ژن STAT3 در گروه دیابت نوروپاتی تمرین نسبت به گروههای سالم اما این تفاوت معنی دار نبود. همچنین تفاوت میزان بیان ژن STAT3 در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل با کاهش همراه بود و این گروه کمترین میزان بیان ژن STAT3 نسبت به سایر گروهها را نشان داد هرچند که به لحاظ آماری با تغییرات معناداری همراه نبود و این حاکی از تاثیر تمرین هوازی بر کاهش بیان ژن STAT3 دارد.

معداری مشاهده نشد. تفاوت میزان بیان ژنهای IL6 و TNF-a در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل با کاهش همراه بود و کمترین میزان سطوح فاکتور التهابی در گروه تمرین سالم بود هرچند که به لحاظ آماری با تغییرات معناداری همراه نبود و همچنین میزان بیان IL6 و TNF-a در گروه نوروپاتی تمرین دیابت نسبت به نوروپاتی کنترل دیابت به طور معنی داری کمتر بود و این نشان از تاثیر تمرین بر کنترل بیان IL6 و TNF-a دارد. نتایج نشان داد که بیان ژن STAT3 در نرونهای بخش خلفی نخاع در گروه کنترل نوروپاتی دیابتی نسبت به سایر گروهها به طور معنی داری بیشتر بوده. این نتایج نشان می دهد که دیابت بر بیان ژن STAT3 تاثیر داشته اما با وجود بیشتر بودن میزان بیان ژن STAT3 در گروه دیابت نوروپاتی تمرین نسبت به گروههای سالم اما این تفاوت معنی دار نبود. همچنین تفاوت میزان بیان ژن STAT3 در گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل با کاهش همراه بود و این گروه کمترین میزان بیان ژن STAT3 نسبت به سایر گروهها را نشان داد هرچند که به لحاظ آماری با تغییرات معناداری همراه نبود و این حاکی از تاثیر تمرین هوازی بر کاهش بیان ژن STAT3 دارد.

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

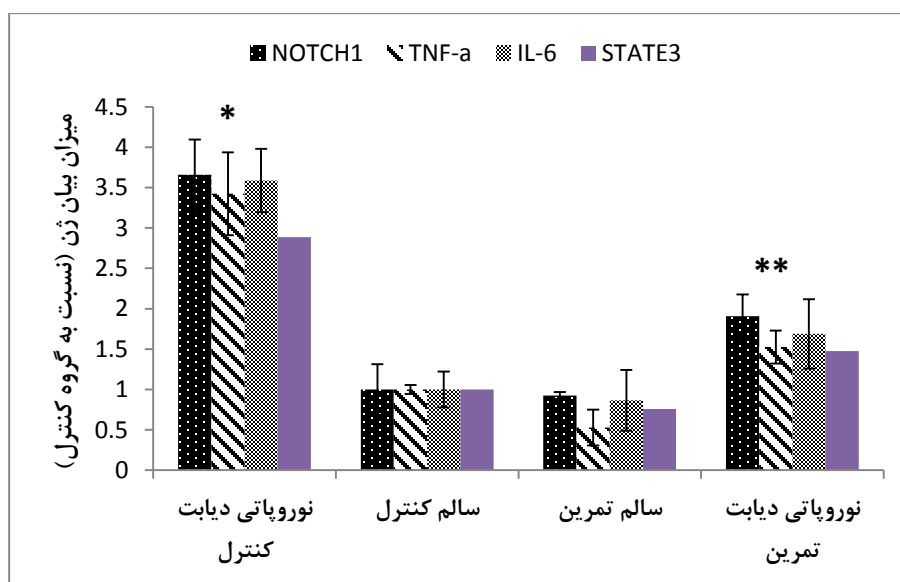
ANOVA- One way	گروهها (n=10)					
	سالم کنترل	سالم تمرین	دیابت تمرین	دیابت کنترل	قبل تمرین	فاکتورهای اندازه گیری
F= 0.090, P=0.965	238±8.5	238 ±7.1	237.5±10.0	239.5±10.3	قبل تمرین	وزن(گرم)
F= 122.48, P=0.001*	306.6±8.3	295 ±9.4	210±29.0	192±10.3	بعد تمرین	
F= 248.71, P=0.001*	118.6±6.7	118.8±5.3	405.5±41.3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

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

جدول ۲: میزان درد درآزمون فرمالین در دو فاز حاد و مزمن و آزمون تیل فلیک در رت ها قبل و بعد از شش هفته تمرین هوازی

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

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



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

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



هوای باعث بالا رفتن آستانه درد به شکل معنی‌داری در موش‌های نوروپاتی تمرین نسبت به گروه کنترل شده است که این امر با حساسیت سیستم عصبی به محرک‌های دردزا که با افزایش مدت زمان تاخیر در آزمون تیل فلیک و آزمون فرمالین در آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک، اندازه‌گیری شد. نتایج پژوهش نشان داد که فعالیت هوای می‌تواند موجب بهبود پاسخ‌های درد نوروپاتیک هایپرالژیای حرارتی و الودینای مکانیکی گردد این نتایج همسو با بسیاری از مطالعاتی است که به بررسی تاثیر تمرین ورزشی بر پاسخ‌های درد نوروپاتیک پرداخته‌اند. کارن ای کوبال و همکاران، ۲۰۰۷ در تحقیق خود نشان دادند تمرین، درد القاء شده توسط فرمالین را در موش‌های دیابتی کاهش می‌دهد و این عامل را در نتیجه کنترل التهاب ناشی از تمرین دانسته‌اند (۲۲) هی جی یان و همکاران، ۲۰۱۵ تاثیر تمرین هوای بر کاهش درد نوروپاتیک مرتبط با دیابت را نشان دادند، و به این نتیجه رسیدند که تمرین هوای درد ناشی از هایپرالژیای حرارتی و آلودینای مکانیکی را در موش‌های دیابتی القاء شده با STZ را بهبود می‌بخشد (۲۳). در تناقض با نتایج این پژوهش برخی مطالعات نیز نتوانستند تاثیر تمرینات ورزشی را بر بهبود درد نوروپاتیک نشان دهند برای مثال اسلوکا و راسون ۲۰۱۰ نشان دادند فعالیت ورزشی به افزایش زمان تاخیر در عقب کشیدن پا در هایپرالژیای حرارتی می‌انجامد که این تناقض می‌تواند ناشی از نوع تمرین این محقق باشد که از تمرین وامانده ساز استفاده کرده است (۲۴). نتایج حاصل از مطالعه حاضر این موضوع را مورد تایید قرار داد و نشان داد که میزان بیان Notch1 و سایتوکین‌های التهابی TNF- $\alpha$  و IL6 و به دنبال آن بیان مسیر JAK/STAT که منجر به افزایش سطوح پروتیین STAT3 در نوروون‌های حسی بخش خلفی نخاع در موش‌های با نوروپاتی دیابت به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل سالم بود. مطالعات زیادی نشان می‌دهند که افزایش بیان مسیر سیگنالی Notch-1 در آزاد شدن سایتوکین‌های التهابی به طور مستقیم در القاء درد

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات هوای از کاهش وزن بیش از حد موش‌های دیابتی جلوگیری کرده است و باوجود اینکه در گروه کنترل نوروپاتی کاهش وزن بیشتر بود اما تمرین ورزشی مانع از کاهش بیش از حد وزن گروه نوروپاتی تمرین شده است که با نتایج کوزا، بالاجی، و کاکلو همخوانی داشت که نشان دادند تمرینات ورزشی مانع از کاهش وزن گروه‌های دیابتی می‌شود. ولی با نتایج تحقیقات ایرباج و مونزیلو مغایرت دارد که شدت، مدت و نوع تمرین می‌تواند دلیل بر آن باشد. یکی از نتایج قابل توجه فعالیت‌های ورزشی که آثار مفید فعالیت ورزشی برای بیماران دیابتی را مورد توجه قرار می‌دهد بهبود در سطوح گلوکز خون ناشتا است که در تحقیق حاضر تمرین باعث کاهش میزان قند خون در موش‌های دیابتی القاء شده با STZ شد بعد از شش هفته تمرین هوای تفاوت معنی‌داری بین سطوح گلوکز در کنترل سالم، تمرین سالم و گروه تمرین نوروپاتی دیابتی وجود نداشت با این حال، بین مقادیر پیش آزمون و پس آزمون گلوکز در گروه تمرین نوروپاتی دیابتی اختلاف معنی‌داری وجود داشت که این نشان از تاثیر تمرین در کاهش قند خون دارد این نتایج همسو با نتایج تکماکیدیس و همکاران ولویزا و همکاران بود که کاهش معنی‌دار گلوکز خون ناشتا و بهبود به حساسیت انسولین را بعد از تمرینات ورزشی مشاهده کردند (۲۱، ۲۰) اما مغایر با نتایج پژوهش کوزا و همکاران و سیلو و همکاران که بعد از هشت هفته فعالیت ورزشی هیچگونه کاهش معنادار در گلوکز خون مشاهده نکردند که می‌تواند این اختلاف به دلیل شدت، مدت و نوع فعالیت بدنی در آزمودنی‌ها باشد. نتایج حاصل نشان داد که دیابت باعث کاهش مشخص وزن، افزایش در سطوح گلوکز جریان خونی می‌شود و تمرین هوای توانست باعث ایجاد تغییراتی در سطوح این فاکتورها شود. در پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات تمرین هوای بر پاسخ‌های رفتاری درد نوروپاتیک از مدل درد نوروپاتیک ایجاد شده با STZ استفاده شده است نتایج پژوهش نشان داد که تمرین

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

### نتیجه گیری

به طور کلی با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش ما نشان دادیم که تمرین هوازی درد ناشی از نوروپاتی دیابت را بهبود می بخشد و از طریق تنظیم و کاهش بیان پروتئینهای Notch1 در اعصاب محیطی نخاع و کاهش میزان سیتوکینهای التهابی که منجر به بلاک مسیر سیگنالی JAK/STAT و به دنبال آن کاهش بیان STAT3 می شود که در کاهش حس درد تاثیر گذار است و باعث تقویت اثر درمانی تمرینات هوازی در نوروپاتی دیابتی می شود. بنابراین مطالعه ما یک کشف مهم در مهار گیرنده Notch1 و مسیر سیگنالی JAK/STAT بدون استفاده از دارو و تجویز تمرینات منظم ورزشی هوازی با شدت ملایم تا متوسط برای افراد دیابتی می تواند روش مناسبی برای کنترل و درمان درد ناشی از آن باشند.

نوروپاتی می تواند نقش کلیدی داشته باشد (۲۶، ۲۵، ۸، ۲۸، ۲۷). که نتایج این تحقیقها با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر این موضوع را مورد تایید قرار داد و نشان داد که افزایش بیان و فعالیت گیرنده Notch-1 در نورون های حسی بخش خلفی نخاع در موش های با نوروپاتی دیابت باعث افزایش ترشح TNF- $\alpha$  و IL6 شده و میزان این فاکتورها در موش های با نوروپاتی دیابت نسبت به گروه کنترل سالم بیشتر بود و تمرین هوازی باعث کاهش معنی داری در میزان بیان TNF- $\alpha$  و IL6 در گروه نوروپاتی تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابت کنترل شد که این یافته با نتایج مطالعات (۳۳، ۳۲، ۳۱، ۳۰، ۲۹) که کاهش معنی داری در TNF- $\alpha$  و IL6 را پس از پروتکل های مختلف تمرین نشان می دهند همخوانی داشت. در سال ۲۰۱۶ لی و همکاران فعالیت مسیر سیگنالی JAK/STAT و آزمونهای رفتاری درد را مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که بیان و فعالیت این مسیر سیگنالی منجر به درد نوروزاتی محیطی می شود و کاهش میزان درد نوروپاتی محیطی با تعدیل این مسیر سیگنالی به احتمال زیاد با کاهش TNF $\alpha$  و IL6 همراه است (۳۴). از آنجا که گیرنده Notch-1 در اعصاب نخاعی نقش مهمی در توسعه درد نوروپاتی و افزایش صدمات اعصاب محیطی دارد نتایج مطالعه چن ۲۰۱۷ تاکید میکند که ممانعت از بیان گیرنده Notch-1 و به دنبال آن کاهش بیان سیتوکینهای التهابی و مسیر سیگنالی JAK/STAT یک نقش محوری در کاهش درد نوروپاتی محیطی دارد (۳۵). که نتایج تحقیقات ذکر شده کاملا با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. با توجه به نتایج به نظر می رسد که تمرین هوازی بتواند به عنوان یک عامل درمانی موثر برای بهبود عملکرد فیبرهای حسی در نوروپاتی دیابت از طرق کاهش سطح التهاب به واسطه پیشگیری از افزایش بیان ژن های Notch-1، STAT3 و سایتوکاین های التهابی TNF $\alpha$  و IL6 عمل کند

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

قدردانی

منابع

- 1-Kumar NP, Annamalai AR, Thakur RS. Antinociceptive property of *Emblca officinalis* Gaertn (Amla) in high fat diet-fed/low dose streptozotocin induced diabetic neuropathy in rats. *Indian J Exp Biol.* 2009; 47: 737-42
- 2-Rojas DR, Kuner R, Agarwal N. Metabolomic signature of type 1 diabetes-induced sensory loss and nerve damage in diabetic neuropathy. *arXiv preprint arXiv:1803.06740.* 2018 Mar 18.
- 3-Rutten K, Gould SA, Bryden L, Doods H, Christoph T, Pekcec A. Standard analgesics reverse burrowing deficits in a rat CCI model of neuropathic pain, but not in models of type 1 and type 2 diabetes-induced neuropathic pain. *Behavioural brain research.* 2018 Sep 17;350:129-38.
- 4-World Health Organization. *Global report on diabetes: World Health Organization;* 2016.
- 5-Paladd Asavarut, Hailin Zhao, Jianteng Gu, Daqing Ma.(2013). The role of HMGB1 in inflammation-mediated organ injury. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica* 51 , 28-33
- 6-Rusanescu G, Mao J. Notch3 is necessary for neuronal differentiation and maturation in the adult spinal cord. *J Cell Mol Med.* 2014;18(10):2103-16.
- 7-Arumugam TV, Cheng YL, Choi Y, Choi YH, Yang S, Yun YK, et al. Evidence that gamma-secretase-mediated Notch signaling induces neuronal cell death via the nuclear factor-kappaB-Bcl-2-interacting mediator of cell death pathway in ischemic stroke. *Mol Pharmacol.* 2011;80(1):23-31
- 8-Yang C, Gao J, Wu B, Yan N, Li H, Ren Y, Kan Y, Liang J, Jiao Y, Yu Y. Minocycline attenuates the development of diabetic neuropathy by inhibiting spinal cord Notch signaling in rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2017 Oct 1;94:380-5.
- 9-Darnell Jr, J.E., I.M. Kerr, and G.R. Stark, *Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins.* ScienceAAS-weekly paper edition-including guide to scientific information, 1994. 264(5164): p. 1415-1420
- 10-Li, Y., et al., *Disease-related expression of the IL6/STAT3/SOCS3 signalling pathway in ulcerative colitis and ulcerative colitis-related carcinogenesis.* Gut, 2010.
- 11-Zhou, Y.Q., Liu, Z., Liu, Z.H., Chen, S.P., Li, M., Shahveranov, A., Ye, D.W., Tian, Y.K., 5402016b. Interleukin-6: an emerging regulator of pathological pain. *J. Neuroinflammation*
- 12-K. Xie, F. Qiao, Y. Sun, G. Wang, L. Hou, Notch signaling activation is critical to the development of neuropathic pain, *BMC Anesthesiol.* 15 (2015) 41.
- 13-Yan, J.-e., et al., *Streptozotocin-induced diabetic hyperalgesia in rats is associated with upregulation of Toll-like receptor 4 expression.* Neuroscience letters, 2012. 526(1): p. 54-58
- 14-Wei, M., et al., *The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes.* Heart Lung & Circulation, 2003. 12(1): p. 44-50.
- 15-Malmberg, A.B. and A.W. Bannon, *Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents.* Current protocols in neuroscience, 1999. 6(1): p. 8.9. 1-8.9. 15.
- 16-Chae, C.-H., et al., *Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats.* Journal of physiology and biochemistry, 2011. 67(2): p. 235-241
- 17-D'Amour, F.E. and D.L. Smith, *A method for determining loss of pain sensation.* J Pharmacol Exp Ther, 1941. 72(1): p. 74-9
- 18-Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain.* 1977;4:161-74.
- 19-Gelderd JB, Chopin SF. The vertebral level of origin of spinal nerves in the rat. *The Anatomical Record.* 1977;188(1):45-7.
- 20-Tokmakidis SP, Christos EZ, Konstantinos AV, Kotsa K, Touvra AM. The effects of a combined strength and aerobic exercise program on glucose control and insulin action in women with type 2 diabetes. *Eur J Appl Physio*2004;92(4-5):437-442.
- 21-Gray S, Baker G, Wright A, Fitzsimons C, Mutrie N, Nimmo M. The effect of a 12 week walking intervention on markers of insulin resistance and systemic inflammation. *Preventive Med* 2009;48(1):39-44
- 22-Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. *European journal of clinical investigation.* 2017 Aug;47(8):600-11.

- 23-Shamsi MM, Hassan ZM, Quinn LS, Gharakhanlou R, Baghersad L, Mahdavi M. Time course of IL-15 expression after acute resistance exercise in trained rats: effect of diabetes and skeletal muscle phenotype. *Endocrine*. 2015 Jun 1;49(2):396-403.
- 24-Sluka KA and Rasmussen LA. 2010. Fatiguing exercise enhances hyperalgesia to muscle Inflammation. *Pain*. 148(2): 188
- 25-Jalnapurkar S, Moirangthem RD, Singh S, Limaye L, Kale V. Microvesicles Secreted by Nitric Oxide-Primed Mesenchymal Stromal Cells Boost the Engraftment Potential of Hematopoietic Stem Cells. *Stem Cells*. 2019 Jan;37(1):128-38.
- 26-Xu Z, Xiong D, Zhang J, Zhang J, Chen X, Chen Z, Zhan R. Bone marrow stromal cells enhance the survival of chronic lymphocytic leukemia cells by regulating HES-1 gene expression and H3K27me3 demethylation. *Oncology letters*. 2018 Feb 1;15(2):1937-42..
- 27-Lian, H., Hui, Y., Xiaoping, T., Wei, T., Jiyi, X. and Xiaolan, Y., 2019. Baicalein suppresses the proliferation of human cervical cancer cells via Notch 1/Hes signaling pathway.
- 28-Nourbakhsh M, Minoo P. Annexin A10 and HES-1 Immunohistochemistry in Right-sided Traditional Serrated Adenomas Suggests an Origin From Sessile Serrated Adenoma. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology: AIMM*. 2019 Jan 15
- 29-D'Souza B, Meloty-Kapella L, Weinmaster G. Canonical and non-canonical Notch ligands. In *Current topics in developmental biology* 2010 Jan 1 (Vol. 92, pp. 73-129). Academic Press.
- 30-Piercy V, Banner SE, Bhattacharyya A, Parsons AA, Sanger GJ, Smith SA, Bingham S. Thermal, but not mechanical, nociceptive behavior is altered in the Zucker Diabetic Fatty rat and is independent of glycemic status. *Journal of diabetes and its complications*. 1999; 13(3):163-9.
- 31-Vissers KC, Geenen F, Biermans R, Meert TF. Pharmacological correlation between the formalin test and the neuropathic pain behavior in different species with chronic constriction injury. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2006; 84(3):479-86.
- 32-Romero-Zurita A, Carbonell-Baeza A, Aparicio VA, Ruiz JR, Tercedor P, Delgado-Fernández M. Effectiveness of a tai-chi training and detraining on functional capacity symptomatology and psychological outcomes in women with fibromyalgia. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2012.
- 33-Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, Fallucca S, Alessi E, Letizia C, Jimenez A, Fallucca F. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2010; 20(8):608-17.
- 34-Li, D., Yan, Y., Yu, L., Duan, Y., 2016. Procaine Attenuates Pain Behaviors of Neuropathic Pain Model Rats Possibly via Inhibiting JAK2/STAT3. *Biomol. Ther. (Seoul)* 24, 489-494.
- 35-Chen, T., Li, H., Yin, Y., Zhang, Y., Liu, Z., Liu, H., 2017. Interactions of Notch1 and TLR4 signaling pathways in DRG neurons of in vivo and in vitro models of diabetic neuropathy. *Sci. Rep.* 7, 14923.

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

Siros Hosseini Askarabadi<sup>1</sup>, Rahim Mirnasouri<sup>1\*</sup>, Masoud Rahmati<sup>1</sup>

1- PhD Student in Sport Physiology.

2-Assistant Professor of Sport Physiology.

3-Associate Professor of Sport Physiology.

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

\*Corresponding author:

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

## Abstract

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

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

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

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

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

►Please cite this paper as:

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

Received: Mar 10, 2019

Revised: June 1, 2019

Accepted: June 8, 2019