مجله دیابت و متابولیسم ایران. آذر و دی ۱۳۹۹؛ دوره ۲۰ (شماره ۲)۱۰۴-۹۳

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین هوازی به همراه مصرف ملاتونین بر بیان ژن RAGE و برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر مبتلا به درد نوروپاتی دیابت

امید دستگردی [۱]، احمد کاکی [۱*]

چکیده

مقدمه: التهاب عصبی و استرس اکسیداتیو نقش محوری در درد نوروپاتی دیابت دارند. هدف پژوهش حاضر تأثیر تمرین هوازی به همراه مصرف ملاتونین بر بیان ژن RAGE و برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دارای درد نوروپاتی دیابت است.

روش‌ها: ٤٠ سر موش صحرایی نر ویستار ۸ هفته‌ای (محدوده‌ی وزنی۱۱/۳±۲۰٤ گرم) به‌طور تصادفی در پنج گروه (n = ۸) شامل: نوروپاتی دیابت (۵۰mg/kg استرپتوزوسین تزریق درون صفاقی)، نوروپاتی دیابت ملاتونین (mg/kg ۱۰ ملاتونین روزانه به‌مدت ٦ هفته)، نوروپاتی دیابت تمرین (۳۰ دقیقه تمرین هوازی با شدت ۱۵متر در دقیقه، ۵ روز در هفته به‌مدت ٦ هفته)، نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین و کنترل سالم قرار گرفتند. پس از تأیید ایجاد نوروپاتی دیابت توسط تست‌های رفتاری، پروتکل تمرین و مصرف مکمل اجرا گردید. میزان بیان ژن RAGE با تکنیک ریل تایم و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت نخاع با روش اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی برای تحلیل آماری استفاده گردید.

یافته‌ها: تمرین و ملاتونین موجب کاهش حساسیت سیستم عصبی به هایپرآلژزیا حرارتی و آلودینیای مکانیکی گردید. تمرین هوازی به‌همراه ملاتونین باعث کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن RAGE و غلظت MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT نسبت به گروه نوروپاتی دیابت شد (P<0.05).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی همراه با ملاتونین میزان بیان ژن RAGE و شاخص‌های استرس اکسیداتیو را تعدیل و حساسیت نوسیسپتورها به عوامل دردزا را بهبود بخشید. پیشنهاد می‌شود از تمرین هوازی به همراه مصرف ملاتونین برای بیماران دیابتی به‌منظور کاهش درد نوروپاتیک استفاده شود.

واژگان کلیدی: التهاب عصبی،RAGE، استرس اکسیداتیو، نوروپاتی محیطی دیابت

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

* ***نشانی:*** اهواز، بزرگراه گلستان، فرهنگ شهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، گروه فیزیولوژی ورزشی، کد پستی ٦١٣٤٩-٣٧٣٣٣٣ صندوق پستی ۱۹۱۵، نمابر: ۳۳۲۹۲۰۰، تلفن: ۰۰۹۸۹۱٦٦۰۳۹٤۳۹، پست الکترونیکی: ahvaz.kaki@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۲ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۹/۱۰/۱۲** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۸**

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

مقدمه

نوروپاتی محیطی دیابتی (DPN)[1] به‌عنوان یکی از علل شایع ناتوانی در بیش از نیمی از بیماران دیابتی، پیشرفت کننده و برگشت‌ناپذیر است که به‌دنبال تغییرات ساختاری در اعصاب محیطی شامل آتروفی آکسونی، میلین زدایی، کاهش تارهای عصبی و کند شدن باسازی تارهای عصبی ایجاد می‌شود [۱]. در مرحله‌ی اولیه‌ی پیدایش این عارضه، اختلال در اعصاب حسی رخ می‌دهد و علائمی همچون درد، بی حسی، مورمور شدن و ضعف در اندام‌های انتهایی ظاهر می‌شود. در این میان، درد یکی از نارحت کننده‌ترین علائم نوروپاتی محیطی دیابتی است که با خصوصیاتی نظیر هایپرآلژزیا حرارتی و آلودینیای مکانیکی مشخص می‌شود [۱]. تحقیقات متعددی دو سازوکار اصلی درگیر در پاتوژنز درد نوروپاتیک دیابت از جمله، افزایش التهاب عصبی ناشی از فعالیت بیش از حد گلیاسل‌ها در سیستم عصبی در نتیجه اختلال متابولیسم گلوکز و همچنین استرس اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن و یا نقص در دفاع آنتی اکسیدانی را مطرح کرده‌اند [۲]. مطالعات نشان داده‌اند که در نتیجه‌ی استرس ناشی از هایپرگلیسمی، گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی پروتئین‌ها، تولید محصولات نهایی گلایسیون پیشرفته (AGEs) را در سلول‌های عصبی افزایش می‌دهد. AGEها، گیرنده‌ی خود را در سطح سلول، به‌نام RAGE را فعال می‌کنند. تعامل AGE-RAGE، موجب تنظیم مثبت عامل رونویسی فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-κB) در ژن هدف می‌شود. NF-κB، به‌عنوان یک فاکتور رونویسی حساس به سیستم اکسید و احیاء درون سلولی، نقش مهمی در تنظیم ژن‌های دخیل در پاسخ‌های سلولی از قبیل التهاب و آپوپتوز دارد [۳]. همچنین شواهد موجود نشان می‌دهد که فعال شدن گیرنده‌ی RAGE توسط لیگاندهای درون‌زا مربوط به عامل پاتوژن در نتیجه‌ی هایپرگلیسمی مزمن در سلول‌های گلیاسل سیستم عصبی، فشار اکسایشی را از طریق فعالیت اکسیدازی NADPH تحریک می‌کند. محققین بر این باورند که RAGE به عنوان رسپتور مبدل سیگنال، مسیر پیام‌رسانی فرودستی را القاء می‌کند که منجر به تولید سیتوکاین‌ها و شروع پاسخ‌های التهابی در سیستم عصبی می‌شود [٤]. مجموعه‌ی این فرآیندها اثر توکسیک بر ساختار و عملکرد نرون‌های حسی داشته و از این طریق در توسعه و حفظ درد نوروپاتیک دیابت اثر گذار است. مطالعات نشان داده‌اند که سطح گیرنده‌ی RAGE در DPN افزایش بیان شده و منجر به تولید درد و اختلالات هدایت عصبی و آتروفی آکسونی می‌گردد [۵]. بنابراین محققین به این نتیجه رسیده‌اند که مهارگیرنده RAGE و تعدیل در شاخص های استرس اکسیداتیو در DPN، ممکن است، از راهکارهای احتمالی مقابله با شرایط پاتوفیزیولوژیکی درد نوروپاتی دیابت باشد. بنابراین، بررسی گزینه‌های درمانی جدید با عملکرد آنتی اکسیدانی و ضد التهابی که منجر به کاهش روند پیشرفت آسیب‌های نورونی شود، ضروری به‌نظر می‌رسد. ملاتونین یا (N–استیل ۵–متوکسی تریپتامین) یک آیدل آمین است که در غده‌ی پینه آل ترشح می‌شود. مهم‌ترین فعالیت‌های بیولوژیکی این هورمون، القاء کننده خواب، آنالژزی، آنتی اکسیدان قوی، حذف کننده‌ی طیف وسیعی از رادیکال‌های آزاد، دارای اثرات ضد التهابی، پیشگیری از آسیب میتوکندری و آپوپتوز در بدن است [٦]. تحقیقات نشان داده‌اند که ملاتونین با تنظیم مثبت بیان ژن آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله؛ SOD، کاتالاز و GSH-Px و همچنین از طریق مهار مسیرهای التهابی بر درد نوروپاتیک دیابت اثر گذار است [٦]. از طرفی فعالیت ورزش به‌عنوان یک راهبرد غیردارویی به‌عنوان یک عامل ضد التهابی و آنتی اکسیدانی جهت کاهش عوارض ناشی از دیابت مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. نتایج حاصل از مطالعات اخیر نشان می‌دهد که تمرین هوازی با افزایش سطوح پروتئین های شوک گرمایی، افزایش سطوح سایتوکین‌های ضد التهابی، کاهش فعالیت میکروگلیاهای نخاع و کاهش سطوح رادیکال های آزاد توانسته است، سطوح نشانگرهای التهابی و استرس اکسیداتیو را کاهش دهد و از تخریب پیشرونده‌ی نرون‌های حسی جلوگیری کند و حساسیت نوسیسپتورها به عوامل دردزا را کاهش دهد [۲]. با این حال بررسی سازوکار اثر تعاملی تمرین هوازی به همراه مصرف ملاتونین به‌عنوان یک مداخله‌ی درمانی غیر دارویی و غیر تهاجمی بر درد نوروپاتی ناشی از

[1] Diabetic peripheral neuropathy

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

دیابت در سطح سلولی کمتر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. از این‌رو، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تمرین هوازی به همراه مصرف ملاتونین بر میزان بیان ژن RAGE و برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی با درد نوروپاتی دیابت است.

روش ها

در پژوهش حاضر روش تحقیق از نوع تجربی بود. تعداد ٤٠ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفتگی با محدوده‌ی وزنی ۱۱/۳±۲۰٤ گرم از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در گروه‌های چهارتایی در قفس‌های استاندارد پلی کربنات در شرایط دمایی ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد تحت چرخه‌ی ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی – روشنایی و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه‌ی موش نگه‌داری شدند. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، آشناسازی با نورگردان و دستکاری، موش‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه **(n = ۸)** نوروپاتی دیابت، نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی دیابت تمرین، نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین و سالم کنترل تقسیم شدند.

القاء دیابت: پس از اتمام پروتکل آشناسازی و متعاقب ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، القاء دیابت با تزریق درون صفاقی محلول استروپتوزوتوسین STZ (Sigma, St. Louis, MO)؛ حل شده در بافر سیترات ۰/۰۵ M با pH:٤/٥ ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌منظور ایجاد دیابت نوع یک صورت گرفت [۸، ۷]. به موش‌های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات ۰/۰۵ M با pH:٤/٥ به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. ٤٨ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم، یک قطره‌ی خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و نوار توسط دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت روشه‌ی آلمان) اندازه‌گیری و موش‌های صحرائی که قند خون آنها بیشتر از ۲۵۰mg/dl بود، به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. برای اطمینان از عدم بازگشت قند خون، در طول دوره برنامه‌ی تمرینی هر هفته و نیز پایان دوره، قند خون موش‌ها اندازه‌گیری شد [۹].

تزریق ملاتونین: دو هفته پس از القای دیابت با تأیید درد نوروپاتیک دیابتی، همراه با شروع پروتکل تمرین هوازی، گروه‌های نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین، جهت جلوگیری از ایجاد هایپرآلژزی نوروپاتیک دیابتی، ماده‌ی ملاتونین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت درون صفاقی، حل شده در سالین حاوی اتانول، به‌طور روزانه و به‌مدت ٦ هفته تزریق گردید [۱۰].

آزمون‌های رفتاری

پیش از القاء دیابت، به‌منظور سازگاری جهت آزمون‌های رفتاری، حیوانات سه روز در معرض آزمایش (دو بار برای هر آزمون) قرار گرفتند. دو هفته پس از القای دیابت، آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک به‌عنوان شاخص وقوع شرایط پاتولوژیکی نوروپاتی دیابت و برای تأیید و میزان درد نوروپاتیک از تمامی گروه‌ها به‌عمل آمد [۱۳-۱۱]. به‌منظور بررسی اثرات طولانی مدت تمرین و تزریق ملاتونین هر هفته و تا پایان پروتکل تمرین هوازی و تزریق ملاتونین آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک اجرا شد، برای اجتناب از عوامل مداخله‌گر نظیر اثرات ضد دردی القاء شده توسط استرس آزمایش‌های رفتاری میان ساعت ۷ تا ۱۰ صبح انجام شد [۱۳].

آزمون هات‌پلیت: برای اندازه‌گیری تغییر آستانه‌ی درد حرارتی (هایپرآلژزیای حرارتی) از آزمون هات‌پلیت استفاده شد. این آزمون براساس روش والف و مکدونالد انجام گرفت [١٤]. برای انجام این آزمون، از دستگاه هات‌پلیت مدل ام اچ -۹۵۰۰ ساخت شرکت برج صنعت آزما، که دارای یک صفحه‌ی فلزی به قطر ۱۹ سانتی‌متر و محفظه‌ای از جنس پلکسی گلاس (۳۰×۲۵×۲۵ سانتی‌متر) استفاده شد. دستگاه مجهز به زمان سنج و ترموستات بود. شدت درجه‌ی گرمایی صفحه‌ی دستگاه در ۲±۵۲ درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد. قبل از انجام آزمون، برای آشنایی، موش‌ها به‌مدت ۲ دقیقه بر روی صفحه‌ی دستگاه قرار گرفتند؛ سپس دستگاه روشن شد تا دمای صفحه‌ی دستگاه

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

به دمای مورد نظر ثابت شود. حیوان بر روی صفحه‌ی داغ قرار گرفت و هم‌زمان با آن، زمان سنج دستگاه روشن شد. زمانی که حیوان شروع به لیسیدن، بالا بردن و یا لرزیدن پا کرد، به‌عنوان نقطه‌ی پایانی و شاخص احساس درد تلقی شد و فوراً زمان سنج متوقف و حیوان از دستگاه خارج می‌شد. مدت زمان تأخیر در پس کشیدن پنجه (Paw withdrawal latency) و یا فاصله زمانی شروع قرار گرفتن حیوان بر روی صفحه داغ تا پیدایش پاسخ به درد توسط حیوان، در سه مرحله و به فاصله‌ی ۵ دقیقه در گروه‌های مختلف بر حسب ثانیه اندازه‌گیری شد. و میانگین آنها به‌عنوان زمان تأخیر ثبت گردید. زمان عدم واکنش حیوان به صفحه داغ ۳۰ ثانیه (Cut of time) در نظر گرفته شد.

آزمون آلودینیای مکانیکی: به‌منظور اندازه‌گیری، حیوان روی یک شبکه‌ی سیمی و داخل یک محفظه‌ی 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 روی صفحه‌ی مشبک قرار گرفتند. در ادامه به منظور سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف Von Frey در محدوده‌ی ۲ تا ٦۰ گرم (٦۰، ۲٦، ۱۵، ۱۰، ۸، ٦، ٤، ۲) ساخت شرکت Stoelting Inc جهت سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع می‌شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به‌ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده می‌گردید. همچنین چنانچه دو بار متوالی پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزنه به‌عنوان آستانه‌ی پس کشیدن پنجه[2] (PWT) ثبت می‌شد و آزمون خاتمه می یافت. در مقابل، اگر حیوان به هیچ یک از تارها از جمله تار شماره‌ی ٦۰ پاسخ نمی‌داد، عدد ٦۰ به‌عنوان آستانه‌ی پاسخ در نظر گرفته می‌شد. هر آزمایش سه بار و به تناوب حداقل سه دقیقه تکرار شد و میانگین آنها به‌عنوان آستانه‌ی پس کشیدن پنجه منظور گردید [۱۵].

پروتکل تمرین هوازی: پس از اطمینان از حصول نوروپاتی دیابت در موش‌های صحرایی نر، پروتکل تمرین هوازی به مدت شش هفته اجرا شد. در پژوهش حاضر پروتکل تمرین هوازی براساس مطالعه‌ی Chae و همکاران (۲۰۱۱) انجام گرفت؛ ابتدا به‌منظور خوگیری به شرایط آزمایشگاه، نوارگردان و دستکاری حیوانات ۵ روز در هفته به‌مدت ۱۰ –۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بروی نوار گردان راه رفتند. سپس گروه‌های ورزشی نوروپاتی دیابت تمرین، نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین در معرض تمرین نوارگردان، ۵ جلسه در هفته و به‌مدت ٦ هفته قرار گرفتند [١٦]. سرعت و مدت تمرین نوارگردان هر هفته به‌تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ١٤ تا ۱۵ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ١٤تا ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم و ۱۷ تا ۱۸ متر در دقیقه برای۳۰ دقیقه در هفته پنجم و ششم افزایش یافت. جهت رسیدن سازگاری‌های به‌دست آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی درهفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه‌داشته شد. تمام جلسات تمرینی در پایان سیکل خواب حیوانات و بین ساعت ١٦–۱۸ عصر برگزار شد.

استخراج نمونه و روش اندازه‌گیری: در پایان شش هفته برنامه‌ی تمرینی، ٤۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، موش‌ها به وسیله‌ی تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰mg/kg) بی‌هوش شدند. برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، تحت شرایط استریل و مطابق روش Gelderd و چوپین سال ۱۹۷۷ [۱۷]، سریعاً قطعه‌ی نخاعی حاوی بخش خلفی نخاع از سطح L4 تا L6، که سگمنت‌های نخاعی مربوطه، در موش‌های نر نژاد ویستار در ناحیه‌ی مهره‌های T13-L1 ستون فقرات است، ابتدا ناحیه‌ی مورد نظر مشخص گشت و با برش در پائین‌ترین بخش ممکن از ستون فقرات جدا شد. سپس ستون فقرات با استفاده از کانال مرکزی به‌عنوان شاخص، به بخش قدامی و خلفی تفکیک شد و بخش خلفی نخاع در ناحیه مربوطه را به‌عنوان نمونه، در نیتروژن ۸۰– درجه سانتی‌گراد منجمد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های ملکولی در فریزر۸۰– درجه‌ی سانتی گراد نگه‌داری شدند.

[2] Paw withdrawal threshold

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

ریل تایم[3]: حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت نخاع جهت استخراج RNA کل به نسبت ۱ به ۱۰ با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول در دمای ٤ سانتی‌گراد، به‌مدت۱۰دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با محلول کلروفرم مخلوط و به‌مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد، به‌مدت ۱۵دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰g 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 به‌مدت ده دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد، به‌مدت ۱۰دقیقه، با دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در محلول اتانول شستشو و در ۲۰ µL آب RNase-free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش واقع شد طبق شرکت (Eppendorf Germany -) و به نسبت ۲٦۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تلخیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA تک رشته‌ای از پرایمر (Oligo dt MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه برداری معکوس (Fermentas) و براساس پروتکل مربوطه انجام شد. از تکنیک RT-qPCR جهت تأیید بیان ژن RAGE به‌صورت کمی استفاده شد، هر واکنش PCR با استفاده از دستگاه (PCR master mix Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ٤۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ٦۰–۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. ضمن اینکه از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه‌ی آستانه (CT[4]) 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 به‌عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

همچنین برای ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو، بافت مربوطه، به‌وسیله ترازو دیجیتال سارتریوس مدل CPA224S با دقت هزارم میلی‌گرم، وزن کشی و میزان ۵۰ mg جدا و پس از اضافه نمودن بافر فسفات سالین (PBS) حاوی آنتی پروتئاز سیگما به نسبت ۱:۱۰ با استفاده از هموژنایزر، هموژنه شده و پس از آن نمونه‌ها در دور ۱۲۰۰۰ در ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی جهت سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی استرس اکسیداتیو؛ غلظت مالون دی آلدئید، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز توسط کیت‌های مخصوص شرکت زلبیو، ساخت کشور آلمان و به روش اسپکتروفتومتری[5] و رنگ سنجی استفاده شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلوموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. برای بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت معنی‌داری، جهت تعیین تفاوت بین میانگین‌های دو گروهی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-22 در سطح معنی‌داری ۰/۵ ($P<0.05$) انجام شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که وزن اولیه‌ی گروه‌ها اختلاف معناداری با یکدیگر نداشت ($P<0.05$)، اما در هفته‌های پایانی پژوهش، میانگین تغییرات وزن موش‌های گروه‌های نوروپاتی دیابت نسبت به گروه کنترل سالم به‌صورت معناداری کمتر بود ($P<0.05$). همچنین، میانگین تغییرات وزن گروه‌های نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی دیابت تمرین و نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابت اگرچه پس از شش هفته تمرین افزایش یافت، اما این افزایش معنادار نبود ($P<0.05$) (جدول ۱).

[3] Real Time-PCR
[4] Thereshold Cycle
[5] Spectrophotometry

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

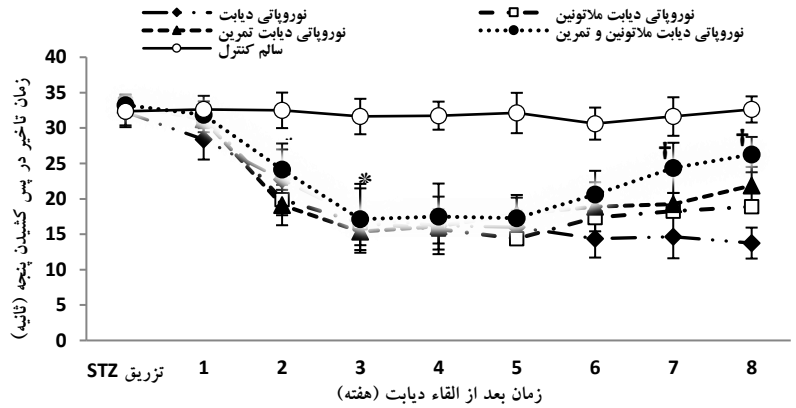
جدول ۱- میانگین و انحراف معیار وزن بدن و سطح گلوکز خون در موش‌های گروه‌های مختلف

	متغیر	گروه‌ها				
		نوروپاتی دیابت (n = ۸)	نوروپاتی دیابت ملاتونین (n = ۸)	نوروپاتی دیابت تمرین (n =۸)	نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین (n = ۸)	کنترل سالم (n =۸)
وزن (گرم)	القاء دیابت	۲۰۵/٤±۱۳/۱	۲۰٤/٦±۱۱/۵	۲۱۰/٦±۹/٦	۱۹۸/۸±۹/۱	۲۰٦/۸±۱۱/٤
	هفته‌ی دوم	۱۹۸/۰±۱۰/۲	۱۹٦/۱±۱۲/۲	۲۰۳/۳±۸/۷	۱۹٤/۵±۱۳/۵	۲۱٤/٦±۱۱/۱
	هفته‌ی چهارم	۱۸۵/۵±۱۰/٤	۱۸۵/٦±۱۲/۱	۱۸۷/٤±٦/۹	۱۸٤/٤±۷/۳	۲۲۹/۳±۹/۱
	هفته‌ی ششم	۱٦۰/۱±۸/۱*	۱۸۸/۵±۱۱/۳*	۱۸٦/۰±٦/٤*	۱٦۸/۰±۷/۹*	۲٤۲/۸±۸/۱
	هفته‌ی هشتم	۱٤۱/۰±۷/٤*	۲۰٦/٤±۱۰/۷*	۲۱۰/٤±۹/۸*	۲۰۱/۸±۱۰/۹*	۲۵۸/۵±۹/۸
گلوکز خون (میلی گرم/دسی لیتر)	القاء دیابت	٤۲۱/۹±۱۱۳/۱*	٤٦۳/۹±۹٤/۲*	٤۹۵/۱±۷۱/٦*	٤۵٤/۵±۱۱۰/۸*	۱۰٦/۸±۱۳/۸
	هفته‌ی دوم	٤٦۵/٤±۸۱/۱	۵۲۳/٦±۷۵/۱	۵۲۲/٤±۵۷/۹	۵۲۹/۳±۸۳/۱	۱۰۸/۱±۱۳/۸
	هفته‌ی چهارم	۵۱۵/۹±٦۱/۳	۵۱۹/۵±٦۷/۳	۵۲۲/٤±۳٤/۸	٤۹۵/۵±۹٤/۹	۱۰۲/۱±۱٤/۱
	هفته‌ی ششم	۵٦۳/٤±٤۱/۰	٤٦۹/٤±٦۱/۳	٤۳٤/۵±۵۵/۱	٤۰۳/٦±۵٦/۵	۱۰۱/٦±۱۳/۳
	هفته‌ی هشتم	٦۰۱/۹±۲٤/۱†	٤۳۰/۹±۸۹/۲†	۳۵۵/۳±٦۰/۸†	۳٦۷/۹±۷۳/۹†	۱۰٤/۳±۱۷/۷

کلیه‌ی مقادیر جدول به‌صورت انحراف استاندارد ± میانگین هستند. * اختلاف معنی‌دار با گروه سالم کنترل (P<0.05). † اختلاف معنی‌دار با گروه نوروپاتی دیابتی (P<0.05).

پس از القاء دیابت، سطوح گلوکز خون به‌صورت معناداری در گروه‌های نوروپاتی دیابت افزایش یافت (P<0.05)، و این اختلاف تا پایان دوره‌ی پژوهش در مقایسه با گروه کنترل سالم همچنان معنی‌دار بود (P<0.05)، همچنین، در پایان‌برنامه تمرینی و مکمل‌دهی، غلظت گلوکز خون گروه نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی دیابت تمرین و نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابت به‌صورت معناداری پایین‌تر بود (P<0.05) (جدول ۱).

میانگین مدت زمان تأخیر در پس کشیدن پنجه (Paw withdrawal latency) در آزمون هات‌پلیت دو هفته پس از القاء دیابت در گروه‌های نوروپاتی دیابت نسبت به گروه‌های سالم به‌طور معنی‌داری کمتر بود (P<0.05). همچنین در هفته های پایانی اجرای پروتکل تمرین هوازی و مکمل ملاتونین، میانگین مدت زمان تأخیر در پس کشیدن پنجه در آزمون هایپرآلژزیای حرارتی در گروه نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی دیابت تمرین و نوروپاتی ملاتونین و تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابت به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<0.05) (نمودار ۱).

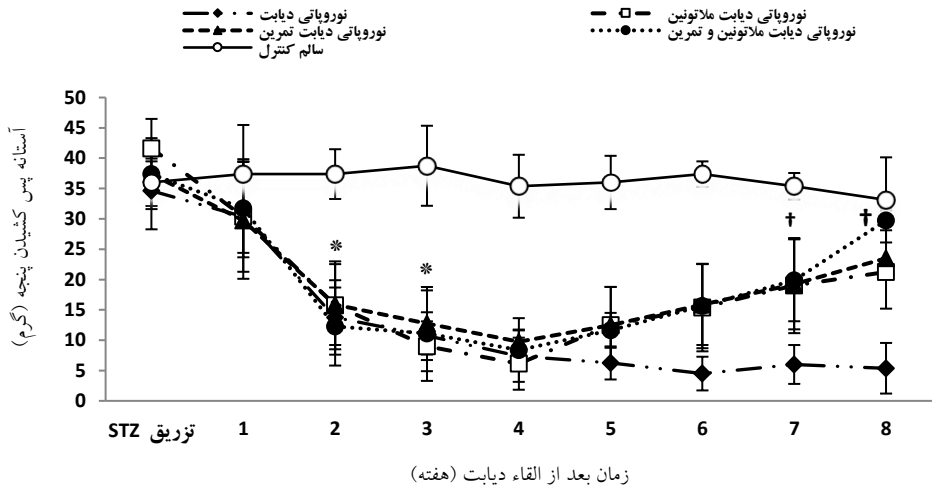


نمودار ۱- تغییرات زمان تأخیر در پس کشیدن پنجه در آزمون هایپرآلژزیای حرارتی گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم کنترل (P<0.05). † اختلاف معنی‌دار با گروه نوروپاتی دیابتی (P<0.05).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

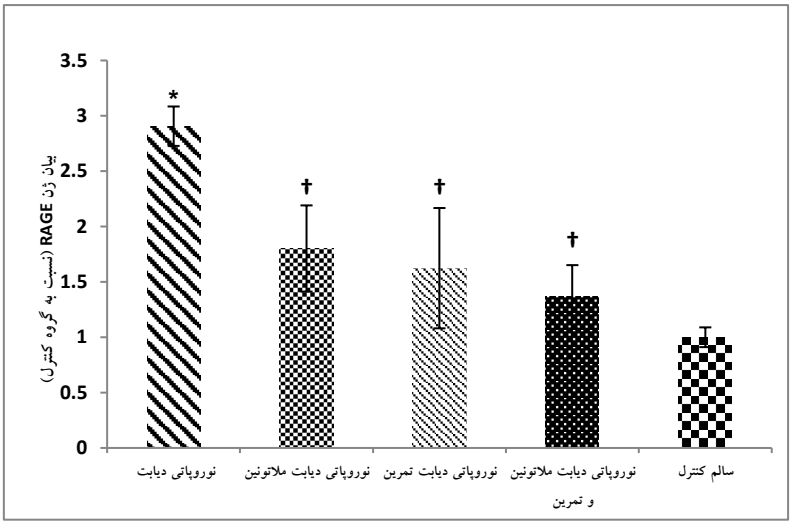
دو هفته بعد از القاء دیابت، میانگین تغییرات آستانه پس کشیدن پنجه در آزمون آلودینیای مکانیکی در گروه‌های نوروپاتی دیابت نسبت به گروه‌های سالم به‌طور معنی‌داری کمتر بود (P<0.05). از طرفی در هفته‌های پایانی اجرای پروتکل، میانگین تغییرات آزمون آلودینیای مکانیکی در گروه های نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی دیابت تمرین و نوروپاتی ملاتونین و تمرین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه نوروپاتی دیابت داشتند (P<0.05) (نمودار ۲).



نمودار ۲- تغییرات آستانه پس کشیدن پنجه در آزمون آلودینیای مکانیکی گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم کنترل (P<0.05). † اختلاف معنی دار با گروه نوروپاتی دیابتی (P<0.05).

با توجه به میانگین گروه‌ها، مشخص شد که القاء دیابت موجب افزایش معنادار در میزان بیان ژن RAGE موش‌های نوروپاتی دیابت در مقایسه با گروه سالم کنترل شد (P<0.05). همچنین میزان بیان ژن RAGE در گروه‌های نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی تمرین و نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین به‌طور معناداری نسبت به گروه نوروپاتی دیابتی پائین‌تر بود (P<0.05) (نمودار ۳).



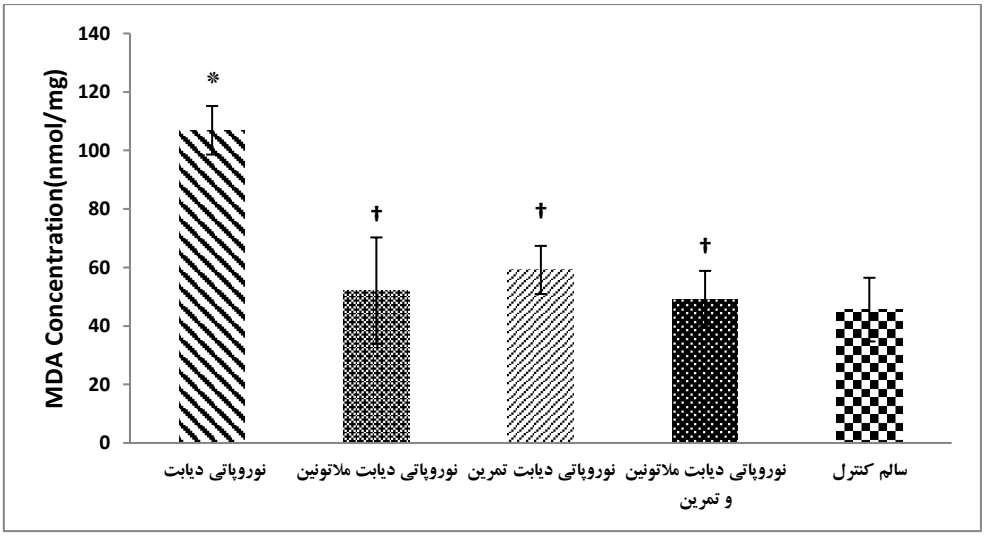
نمودار ۳- میزان بیان ژن RAGE در بخش خلفی نخاع گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی دار با گروه سالم کنترل (P<0.05). † اختلاف معنی دار با گروه نوروپاتی دیابتی (P<0.05).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

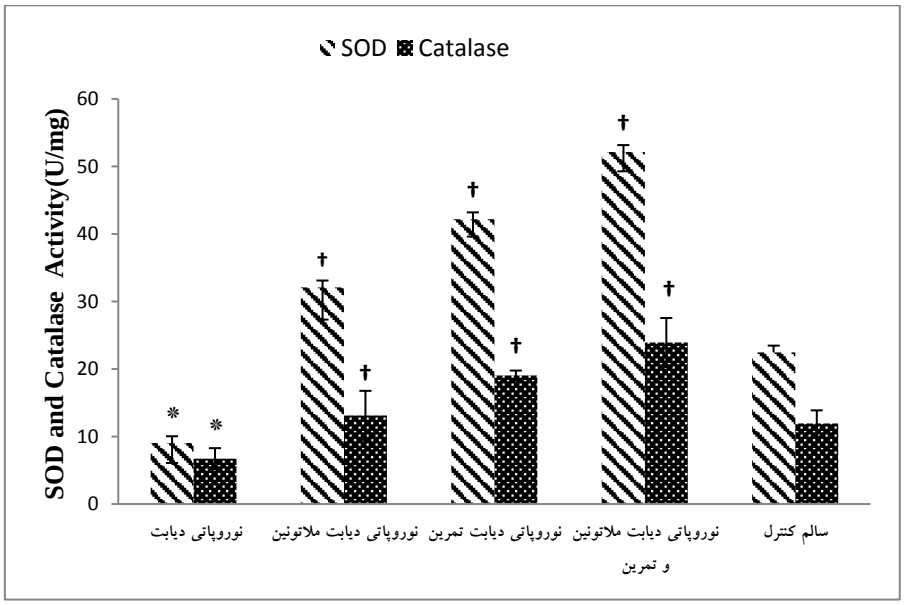
افزایش معنی‌داری در میزان غلظت محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدی مالون دی آلدهید در بخش خلفی نخاع گروه نوروپاتی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم مشاهد شد (P<0.05). همچنین کاهش معنی‌داری در گروه نوروپاتی ملاتونین، نوروپاتی دیابت تمرین و نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین نسبت به با گروه نوروپاتی دیابت وجود داشت (P<0.05) (نمودار ٤).

میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بخش خلفی نخاع گروه نوروپاتی دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معنی داری کمتر بود(P<0.05). همچنین افزایش معنی‌داری در بین گروه نوروپاتی دیابت ملاتونین، نوروپاتی دیابت تمرین و نوروپاتی دیابت ملاتونین و تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابت مشاهده شد(P<0.05)(نمودار ٥)



نمودار ۴- میزان غلظت مالون دی آلدهید در بخش خلفی نخاع گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی دار با گروه سالم کنترل (P<0.05). † اختلاف معنی دار با گروه نوروپاتی دیابتی (P<0.05).



نمودار۵.-میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بخش خلفی نخاع گروه‌های مختلف

* اختلاف معنی‌دار با گروه سالم کنترل (P<0.05). † اختلاف معنی‌دار با گروه نوروپاتی دیابتی (P<0.05).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از مطالعه‌ی حاضر ارزیابی پتانسیل درمانی فعالیت هوازی به همراه مصرف ملاتونین برونزا در برابر آسیب‌های عصبی ناشی از التهاب و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دارای درد نوروپاتی دیابت است. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی استرپتوزوسین باعث تخریب سلول‌های بتای پانکراس و هایپر گلیسمی مزمن در موش‌های صحرایی می‌شود به‌طوری که سطوح گلوکز خون در گروه‌های دیابتی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل سالم بود. همچنین نتایج نشان داد که دو هفته بعد از تزریق STZ، حساسیت سیستم عصبی به محرک‌های دردناک (هایپرآلژزیا حرارتی) و بدون درد (آلودینیای مکانیکی) در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه سالم افزایش یافته بود. تحقیقات متعددی این موضوع را مورد تأیید و نشان داده‌اند که افزایش حساسیت نوسیسپتورها به‌عوامل دردزا در اندام‌های محیطی، نشان بر اختلال عملکرد ساختار فیبرهای حسی شامل آتروفی آکسونی و یا میلین زدایی در نتیجه‌ی هایپرگلیسمی مزمن است [۱۹، ۱۸]. اگرچه سازوکارهایی که منجر به این گونه اختلالات عصبی در دیابت می‌شوند به‌طور کامل درک نشده‌اند، با این وجود در طی سال‌های گذشته، آزمایش‌های حیوانی و مطالعات In Vitro مسیرهای بیوشیمیایی احتمالی مهمی در توسعه‌ی درد نوروپاتیک دیابتی شناسایی کرده‌اند [۱۹]. مدارک اخیر حاکی از آن است که التهاب عصبی و استرس اکسیداتیو مرتبط با مسمومیت گلوکز دو عامل اصلی و محوری در انحطاط آکسونی و تغییر ساختار غلاف میلین هستند [۲۰]. پژوهشگران این روند را در نتیجه‌ی تغییر در عروق خونی تأمین کننده‌ی اعصاب محیطی، شامل افزایش انقباض‌پذیری سلول‌های اندوتلیال عروقی و کاهش نفوذپذیری مویرگی و در نتیجه‌ی ایسکمی نورونی ناشی از کاهش جریان خون عروقی می‌دانند [۲۱]. پژوهش‌های ملکولی که بر اختلال در مسیرهای متابولیکی گلوکز متمرکز شده‌اند نشان داده‌اند که با افزایش قند خون، محصولات نهایی گلایسیون پیشرفته (AGEs) در سیستم عصبی تجمع می‌یابند، AGEs رسپتور RAGE را در سطح سلول فعال کرده، تعامل AGE-RAGE، موجب تنظیم مثبت فاکتور رونویسی NF-κB در ژن هدف شده و در نتیجه‌ی آن تولید سیتوکین‌ها، کموکاین‌ها و شروع پاسخ‌های التهابی در سیستم عصبی افزایش می‌یابد [۲۳، ۲۲]. شواهد زیادی حاکی از آن است که این گیرنده به‌عنوان وساطت کننده‌ی پاسخ‌های التهابی نقش مهمی در پاتوژنز درد نوروپاتی دیابت دارد [۲۵، ۲٤]. یافته‌های مطالعه‌ی حاضر این موضوع را مورد تأیید قرار داد و نشان داد که افزایش بیان ژن RAGE در نورون‌های حسی بخش خلفی نخاع در موش‌های نوروپاتی دیابت بیشتر از گروه کنترل سالم بود. از طرفی نشان داده شده است که در نوروپاتی دیابت، افزایش سطوح گیرنده RAGE از طریق بیان عامل رونویسی NF-κB یک شرایط التهابی در سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های شوان و همچنین نورون‌ها ایجاد و موجب تجزیه‌ی میلین و آسیب اکسایشی سلول‌های عصبی می‌شود [۲٦]. همچنین پژوهش‌ها نشان داده اند که AGE-RAGE تولید ROS را بالا برده و فشار استرس اکسیداتیو را از طریق سازوکار NADPH افزایش می‌دهد [۵]. تحقیق حاضر این موضوع را مورد تأیید قرار داد و نشان داد که گروه‌های نوروپاتی دیابت، میزان غلظت مالون دی آلدهید را افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را در بافت نخاع نسب به گروه کنترل سالم کاهش یافته بود. بنابراین با وجود اینکه التهاب و استرس اکسیداتیو نقش برجسته‌ای در رخداد بیماری‌های عصبی دارند ولی هنوز درمانی ایمن و کارآمد برای کنترل این عومل پاتولوژیکی تنظیم نشده است. لذا ترکیباتی که بتوانند از بیان ژن‌های دخیل در التهاب و استرس اکسیداتیو جلوگیری به‌عمل آورند، به‌عنوان راهکار درمانی به‌کار گرفته می‌شوند. ملاتونین یک مولکول لیپوفیلی است که توسط غده‌ی صنوبری ترشح می‌شود و تقریباً در تمامی بافت‌ها ترشح آن تشخیص داده شده است که نشان دهنده‌ی اهمیت آن در بدن انسان است [۲۷]. مطالعات اثرات محافظتی ملاتونین را در طی شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی از جمله تنظیم سیستم ایمنی، ضد التهابی و به‌عنوان آنتی اکسیدان قوی به خوبی به اثبات رسانده اند [۲۸]. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

ملاتونین اختلال عملکرد سیناپسی، ROS، استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و باسازی سلول‌های عصبی را از طرق مسیر سیگنالینگ RAGE/NF-κB/JNK کاهش می‌دهد [۳۰، ۲۹]. مطالعات نشان داده اند که سازوکارهای محافظتی ملاتونین در برابر رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو شامل مهار مستقیم رادیکال‌ها و محصولات رادیکالی، القاء بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، کاهش فعال‌سازی آنزیم‌های پراکسیداسیون و حفظ هموستاز میتوکندری است [۳۱]. از طرفی نشان داده شده است که ملاتونین از مسیرهای دیگری از جمله مهار سیکلواکسیژنازها و مهار تولید رادیکال‌های آزاد باعث سرکوب التهاب در سیستم عصبی شده و از این طریق در کاهش درد های نوروپاتیک دخالت می‌کند [۳۱، ٦]. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، گروه نوروپاتی دیابتی که ملاتونین مصرف کرده بودند، کاهش معنی‌داری در میزان بیان ژن RAGE و غلظت MAD و افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT نسبت به گروه نوروپاتی دیابت داشتند. از طرفی برخی معتقدند که فعالیت‌های ورزشی ممکن است به‌عنوان راهبرد موثر درمانی غیردارویی برای تعدیل عوامل التهابی و استرس اکسیداتیو نقش داشته باشند [۳۲]. نتیجه‌ی تحقیق حاضر نشان داد که شش هفته تمرین هوازی، میزان بیان ژن RAGE در بخش خلفی نخاع گروه نوروپاتی دیابت تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابتی کمتر بود. همچنین در این مطالعه، کاهش معنی‌داری در غلظت مالون آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در گروه نوروپاتی تمرین نسبت به گروه نوروپاتی دیابت دیده شد. از طرفی نتایج آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک نشان داد که تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش زمان تأخیر در عقب کشیدن پا در هایپرآلژزیای حرارتی و افزایش آستانه‌ی پاسخ به آلودینیای مکانیکی می‌شود. به‌نظر می‌رسد که تمرین هوازی به تنهایی و به همراه مصرف مکمل ملاتونین پتانسیل درمانی مؤثر در مقابل درد نوروپاتی ناشی از دیابت از طرق سرکوب التهاب با کاهش بیان ژن RAGE، کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی غشای سلول های عصبی باشد. در ارتباط با شناسایی سازوکارهای درگیر در اثرات تجویز فعالیت‌های هوازی به همرا مصرف مکمل ملاتونین بر کاهش بیان ژن گیرنده‌ی التهابی RAGE و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در نخاع موش‌های مدل درد نوروپاتی دیابت و بهبود عملکرد نورون های حسی و کاهش درد نوروپاتی می‌توان استدلال کرد که تمرین هوازی و ملاتونین با افزایش سطوح پروتئین‌های شوک گرمایی [۳۳]، افزایش سطوح سایتوکین‌های ضد التهابی و کاهش سطوح رادیکال‌های آزاد توانسته‌اند، سطوح نشانگرهای التهابی را کاهش دهند و از تخریب پیشرونده‌ی نرون‌های حسی جلوگیری کنند و حساسیت نوسیسپتورها به عوامل دردزا را کاهش دهند [۲]. از طرفی، فعالیت ورزشی و همچنین ملاتونین ظرفیت سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی را بالا می‌برد [۳٤]، بنابراین این احتمال وجود دارد که فعالیت هوازی و ملاتونین برونزا به‌واسطه‌ی فعال کردن فاکتور رونویسی NRF2، تولید پروتئین‌های آنتی اکسیدان را تنظیم مثبت و از این طریق سطوح لیگاندهای AGEs و HMGB1 گیرنده‌ی RAGE را مهار کنند [۳۵]. شواهد گواه بر این است که سطوح گیرنده RAGE توسط سایتوکین‌های ضد التهابی IL-10 تعدیل می‌شود [۳٦]. از طرفی غلظت گردش خون سیتوکین‌های ضد التهابی بعد از ورزش افزایش می‌یابد به‌طوری که گزارش شده فعالیت‌های هوازی غلظت IL-10 به‌عنوان یک مهار کننده‌ی طبیعی مسیر سیگنالینگ NF-κB افزایش می‌دهند [۳۷]. محققین بر این باورند که سایتوکین ضد التهابی IL-10 تنظیم کننده‌ی سیستم ایمنی و مهارکننده میانجی‌های التهابی نظیر سایتوکین‌های پیش التهابی است [۳۸]. از طرفی شواهد حاکی از آن است که هایپرگلیسمی باعث کاهش سطوح HSP ها می‌گردد [۳۹].کاهش سطوح HSPها باعث افزایش فعال شدن سایتوکین های التهابی می‌شود [۳۹]. Tang و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش سطح HSP70 و منجر به مهار فعال‌سازی P38MAPK می‌شود [٤۰]. بنابراین به‌نظر می‌رسد که فعالیت‌های هوازی از طریق افزایش سطوح پروتئین‌های شوک گرمایی باعث مهار گیرنده‌ی RAGE و کاهش سطوح سایتوکین‌های التهابی شود. با این وجود پیشنهاد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

می‌شود در پژوهش‌های آتی، همراه با اندازه‌گیری گیرنده‌ی التهابی RAGE و شاخص‌های استرس اکسیداتیو، برای دستیابی به شرایط قطعی‌تر، سطوح لیگاندهای فعال کننده‌ی این رسپتور، فاکتور رونویسی NF-κB و سایتوکین‌های پیش التهابی که در مسیر پیام‌رسانی این گیرنده قرار دارند و همچنین عوامل مهارکننده این گیرنده همانند سطوح سایتوکین‌های ضد التهابی، پروتئین‌های شوک گرمایی را مورد بررسی قرار دهند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که گیرنده‌ی التهابی RAGE در نوروپاتی محیطی دیابتی دچار افزایش بیان شده و شرایط التهابی را به‌وجود می‌آورد. تصور بر این است که از عوامل احتمالی درگیر در درد نوروپاتی دیابتی، افزایش در شاخص‌های التهابی و استرس اکسیداتیو باشد. از سوی دیگر تمرین هوازی به تنهایی و به همراه مصرف مکمل ملاتونین میزان بیان ژن RAGE و شاخص‌های استرس اکسیداتیو را در بخش خلفی نخاع کاهش دادند و همچنین حساسیت نوسیسپتورها به‌عوامل دردزا که در نتیجه‌ی تخریب پیشرونده‌ی نرون‌های حسی رخ می‌دهد را بهبود بخشیدند. لذا به‌نظر می رسد، کاهش میزان بیان ژن RAGE می‌تواند یک پاسخ جبرانی برای کاهش سطح سایتوکین‌های پیش‌التهابی باشد و تمرین هوازی با مصرف مکمل ملاتونین به‌عنوان راهبردی مؤثر برای تعدیل این تغییرات و درد نوروپاتیک دیابتی ناشی از این عوامل باشد. لذا پیشنهاد می‌شود که از تمرین استقامتی به شکل هوازی با شدت متوسط و همراه با مصرف مکمل ملاتونین برای بیماران دیابتی به‌منظور کاهش درد نوروپاتیک به‌کار گرفته شود.

سپاسگزاری

مقاله‌ی حاضر برگرفته از یافته‌های پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد آقای امید دستگردی دانشجوی رشته‌ی فیزیولوژی ورزشی گرایش تغذیه ورزشی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز است. کلیه‌ی هزینه‌های این طرح شخصی تأمین شده است.

مآخذ

1. Feldman EL, et al. New horizons in diabetic neuropathy: mechanisms, bioenergetics, and pain. *Neuron* 2017; 93(6):1296-1313.
2. Mee-Inta O, Zhao ZW, and Kuo YM. Physical exercise inhibits inflammation and microglial activation. *Cells* 2019; (7)8:691.
3. Juranek JK, et al. RAGE deficiency improves postinjury sciatic nerve regeneration in type 1 diabetic mice. *Diabetes* 2013; 62(3):931-943.
4. Hosseini A, and Abdollahi M. Diabetic neuropathy and oxidative stress: therapeutic perspectives. O*xidative medicine and cellular longevity* 2013.
5. Sandireddy R, et al. Neuroinflammation and oxidative stress in diabetic neuropathy: futuristic strategies based on these targets. *International journal of endocrinology* 2014.
6. Negi G, Kumar A, and Sharma SS. *Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF-κB and Nrf2 cascades.* Journal of pineal research, 2011. 50(2): p. 124-131.
7. Yan Je, et al. Streptozotocin-induced diabetic hyperalgesia in rats is associated with upregulation of Toll-like receptor 4 expression. *Neuroscience letters* 2012; 526(1):54-58.
8. Morrow TJ. *Animal models of painful diabetic neuropathy: the STZ rat model.* Current protocols in neuroscience, 2004. 29(1):9.18. 1-9.18. 11.
9. Wei M, et al., *T*he streptozotocin- diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. *Heart Lung & Circulation* 2003; 12(1):44-50.
10. Zangiabadi N, et al. Effects of melatonin in prevention of neuropathy in STZ-induced diabetic rats. *American Journal of pharmacology and toxicology* 2011; 6(2):59-67.
11. 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):8.9. 1-8.9. 15.
12. Chen YW, et al. Physical exercise induces excess hsp72 expression and delays the development of hyperalgesia and allodynia in painful diabetic neuropathy rats. *Anesthesia & Analgesia* 2013. 116(2):482-490.
13. Yoon H, et al. Moderate exercise training attenuates inflammatory mediators in DRG of Type 1 diabetic rats. *Experimental neurology* 2015. 267:107-114.
14. Rossi DM, Valenti VE, and Navega MT. Exercise training attenuates acute hyperalgesia in

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

streptozotocin-induced diabetic female rats. *Clinics* 2011; 66(9): 1615-1619.
15. Gong YH, et al., Antinociceptive effects of combination of tramadol and acetaminophen on painful diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica* 2011; 49(1): p. 16-20.
16. Chae, CH, 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): 235-241.
17. Gelderd JB, and Chopin SF. The vertebral level of origin of spinal nerves in the rat. *The Anatomical Record* 1977;188(1):45-47.
18. Kishore, L., N. Kaur, and R. Singh, Effect of Kaempferol isolated from seeds of Eruca sativa on changes of pain sensitivity in Streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *Inflammopharmacology* 2018; 26(4): 993-1003.
19. Bestall SM, et al. Sensory neuronal sensitisation occurs through HMGB-1–RAGE and TRPV1 in high-glucose conditions. *Journal of cell science* 2018; 131(14).
20. Wilson N; and Wright D. Inflammatory mediators in diabetic neuropathy. *J Diabetes Metab* 2011. 5(004).
21. Shi X, et al. Beneficial effect of TNF-α inhibition on diabetic peripheral neuropathy. *Journal of neuroinflammation* 2013; 10(1): 1-9.
22. Li X, et al. Enhanced RAGE expression in the dorsal root ganglion may contribute to neuropathic pain induced by spinal nerve ligation in rats. *Pain Medicine* 2016; 17(5): 803-812.
23. Tobon-Velasco C; Cuevas JE, and Torres-Ramos MA. Receptor for AGEs (RAGE) as mediator of NF-kB pathway activation in neuroinflammation and oxidative stress. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)* 2014; 13(9): 1615-1626.
24. Lam D, et al. RAGE-dependent potentiation of TRPV1 currents in sensory neurons exposed to high glucose. *PLoS One* 2018; 13(2):e0193312.
25. Le Bagge S, et al. Targeting the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in type 1 diabetes. *Medicinal Research Reviews*, 2020.
26. Sugimoto K, Yasujima M, and Yagihashi S. Role of advanced glycation end products in diabetic neuropathy. *Current pharmaceutical design* 2008; 14(10):953-961.
27. Zhang HM. and Zhang Y. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *Journal of pineal research* 2014. 57(2):131-146.
28. Mok JX, et al. A new prospective on the role of melatonin in diabetes and its complications. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation* 2019; 40(1).
29. Muhammad T, et al. Melatonin rescue oxidative stress-mediated neuroinflammation/neurodegeneration and memory impairment in scopolamine-induced amnesia mice model. J*ournal of Neuroimmune Pharmacology* 2019; 14(2):278-294.
30. Jin H, et al. Melatonin protects endothelial progenitor cells against AGE-induced apoptosis via autophagy flux stimulation and promotes wound healing in diabetic mice. *Experimental & molecular medicine* 2018; 50(11):1-15.
31. Metwally MM, Ebraheim LL, and Galal AA. *Potential therapeutic role of melatonin on STZ-induced diabetic central neuropathy: A biochemical, histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study.* Acta histochemica, 2018. 120(8):828-836.
32. Safakhah HA, et al. Forced exercise attenuates neuropathic pain in chronic constriction injury of male rat: an investigation of oxidative stress and inflammation. *Journal of Pain Research* 2017. 10:1457.
33. Khadir A, et al. Physical exercise enhanced heat shock protein 60 expression and attenuated inflammation in the adipose tissue of human diabetic obese. *Frontiers in endocrinology* 2018. 9:16.
34. Petersen AMW. and Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of applied physiology* 2005. 98(4):1154-1162.
35. Ali T, et al. Melatonin attenuates D- galactose-induced memory impairment, neuroinflammation and neurodegeneration via RAGE/NF- KB/JNK signaling pathway in aging mouse model. *Journal of pineal research* 201; 58(1): p. 71-85.
36. Noto MJ, et al. RAGE-mediated suppression of interleukin-10 results in enhanced mortality in a murine model of Acinetobacter baumannii sepsis. *Infection and immunity* 2017; 85(3)
37. Ortega E. The "bioregulatory effect of exercise" on the innate/inflammatory responses. *Journal of physiology and biochemistry*, 2016; 72(2):361-369.
38. Ip WE, et al. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science* 2017; 356(6337):513-519.
39. Hirsch GE, and Heck TG. Inflammation, oxidative stress and altered heat shock response in type 2 diabetes: the basis for new pharmacological and non-pharmacological interventions. *Archives of Physiology and Biochemistry* 2019; p.1-15.
40. Tang D. et al. Nuclear heat shock protein 72 as a negative regulator of oxidative stress (hydrogen peroxide)-induced HMGB1 cytoplasmic translocation and release. *The Journal of Immunology* 2007; 178(11):7376-7384.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]

THE EFFECT OF AEROBIC EXERCISE WITH MELATONIN ON RAGE GENE EXPRESSION AND SOME INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS IN MALE RATS WITH DIABETIC NEUROPATHIC PAIN

Omid Dastgerdi[1], Ahmad Kaki[2*]

1. Department of physical education, Ahvaz branch, Islamic Azad university, Ahvaz, Iran

ABSTRACT

Background: Neuroinflammation and oxidative stress play a pivotal role in the diabetic neuropathic pain. The aim of this study was to evaluate the effect of aerobic exercise with melatonin on RAGE gene expression and some indicators of oxidative stress in rats with diabetic neuropathic pain

Methods: Forty 8-week-old male Wistar rats (weight range 204 ± 11.3 g) were randomly divided into five of 8 groups including: diabetic neuropathy (50 mg / kg streptozotocin intraperitoneal injection), diabetic melatonin neuropathy (mg / kg 10 melatonin daily for 6 weeks), diabetic neuropathy exercise (30 minutes of aerobic exercise at 15 meters per minute, 5 days a week for 6 weeks), diabetes melatonin neuropathy and healthy exercise and control. After confirmation of diabetic neuropathy by behavioral tests, exercise protocol and supplementation were performed. RAGE gene expression was measured by real-time technique and oxidative stress indices in spinal cord tissue by spectrophotometer. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used for statistical analysis.

Results: Exercise and melatonin reduced the sensitivity of the nervous system to thermal hyperalgesia and mechanical allodynia. Aerobic exercise with melatonin significantly reduced RAGE gene expression and MAD concentration and increased the activity of SOD and CAT enzymes compared to the diabetic neuropathy group ($P < 0.05$).

Conclusion: Aerobic exercise with melatonin modulates the expression of RAGE gene and oxidative stress indices and improves the sensitivity of nociceptors to pain factors. It is recommended to use aerobic exercise with melatonin for diabetics to reduce neuropathic pain.

Keywords: Neuroinflammation, RAGE, Oxidative stress, Diabetic peripheral neuropathy

* Department of Sports Physiology, Islamic Azad University, Ahvaz Branch, Golestan Highway, Farhang Shahr, Ahvaz, Iran. Postal Code 61349-373333, PO Box 1915, Fax: 3329200, Phone: 00989166039439, Email: ahvaz.kaki@yahoo.com

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-11]