

Original Article

The Effect of 4-Week Voluntary Wheel Running on Hippocampus Levels of Semaphorin 3B and Hydrogen peroxide and Apoptosis in Diabetic Rats

Mohammad Fazelzadeh¹, Mohammad Ismail Afzalpour^{1*}, Ziya Fallah Mohammadi²

¹Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, Birjand University, Birjand, Iran

²Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, Mazandaran University, Bobolsar, Iran

*Corresponding author; E-mail: mafzalpour@birjand.ac.ir

Received: 12 May 2018 Accepted: 24 June 2018 First Published online: 19 May 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 June- July; 42(2):215-221

Abstract

Background: One of the complications of diabetes is the occurrence of apoptosis in the brain that can lead to cognitive impairment. The aim of this study was to investigate the effect of 4 weeks of voluntary wheel running on hippocampus semaphorin 3B, hydrogen peroxide, and apoptosis in streptozotocin-diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 32 male Wistar rats weight 235 ± 10 gr were assigned randomly to 4 groups (n=8): healthy control (C), healthy exercise (E), control-diabetic (D) and diabetic-exercise (ED). Rats were diabetic by intra-peritoneal injection of STZ dissolved in citrate buffer. The experimental groups ran voluntarily in the wheel running for 4 weeks. The subjects were sacrificed 48 hours after the last training session, then hippocampus tissue was extracted from the brain, and ELISA measurements were performed after homogenization and centrifugation of the tissue. One-way ANOVA and independent t-test were used to evaluate the data.

Results: The levels of semaphorin 3B, hydrogen peroxide and apoptosis in D group were significantly higher than C group ($P \leq 0.05$). In the ED group, semaphorin 3B, hydrogen peroxide and apoptosis levels were significantly lower than D group ($P \leq 0.05$). Semaphorin 3B and apoptosis levels in the E group were significantly lower than C and ED groups ($P \leq 0.05$).

Conclusion: The results showed that experimental diabetes induction increases semaphorin 3B, hydrogen peroxide and apoptosis rate in the brain hippocampus. Four weeks of voluntary running was associated with a decrease in the hippocampus levels of semaphorin 3B, hydrogen peroxide and apoptosis.

Keyword: Streptozotocin, Apoptosis, Semaphorin 3B, Hydrogen Peroxide, Rats, Hippocampus, Voluntary exercise

How to cite this article: Fazelzadeh M, Afzalpour M I, Fallah Mohammadi Z. [The Effect of 4-Week Voluntary Wheel Running on Hippocampus Levels of Semaphorin 3B and Hydrogen peroxide and Apoptosis in Diabetic Rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 June- July; 42(2):215-221. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر ۴ هفته دویدن اختیاری روی چرخ دوار بر میزان سمافورین B^۳، پراکسید هیدروژن و آپوپتوز هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده

محمد فاضل زاده^۱، محمد اسماعیل افضل پور^{۱*}، ضیاء فلاح محمدی^۲

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
^۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: mafzalpour@birjand.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۲ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۲/۳۰
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. خرداد و تیر ۱۳۹۹؛ ۴۲(۲): ۲۱۵-۲۲۱

چکیده

زمینه: یکی از عوارض بیماری دیابت وقوع آپوپتوز در مغز می باشد که می تواند منجر به اختلالات شناختی گردد. هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر ۴ هفته دویدن اختیاری روی چرخ دوار بر میزان سمافورین B^۳، پراکسید هیدروژن و آپوپتوز سلول های هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به وزن 235 ± 10 گرم، به طور تصادفی در ۴ گروه کنترل سالم (C)، تمرین سالم (E)، کنترل دیابت (D) و تمرین دیابت (ED) تقسیم شدند. موش های صحرایی با تزریق استرپتوزوسین محلول در بافر سیترات به صورت درون صفاقی، دیابتی شدند. آزمودنی های گروه های تمرینی به مدت ۴ هفته در قفس های مجهز به چرخ دوار و به صورت اختیاری به فعالیت پرداختند و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی قربانی شدند، سپس بافت هیپوکامپ از مغز استخراج و پس از هموژنایزاسیون و سانتریفیوژ به روش الیزا اندازه گیری متغیرها انجام گرفت. از آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه و t مستقل برای ارزیابی اطلاعات، استفاده شد.

یافته ها: میزان سمافورین B^۳، پراکسید هیدروژن و آپوپتوز در گروه D به صورت معنی دار بیشتر از گروه C بود ($P \leq 0.05$). در گروه ED میزان سمافورین B^۳، پراکسید هیدروژن و آپوپتوز به صورت معنی دار کمتر از گروه D بود ($P \leq 0.05$). میزان آپوپتوز و سمافورین B^۳ در گروه E به صورت معنی دار کمتر از گروه C و ED بود ($P \leq 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان داد القای دیابت تجربی موجب افزایش میزان سمافورین B^۳، پراکسید هیدروژن و آپوپتوز در هیپوکامپ مغز می شود. دویدن اختیاری در مدت ۴ هفته با کاهش سطوح سمافورین B^۳ و پراکسید هیدروژن و آپوپتوز هیپوکامپ همراه بود.

کلید واژه ها: استرپتوزوسین (استرپتوزوسین)، آپوپتوز، سمافورین B^۳، پراکسید هیدروژن، موش های صحرایی، هیپوکامپ، تمرین اختیاری

نحوه استناد به این مقاله: فاضل زاده م، افضل پور م، فلاح محمدی ض. تاثیر ۴ هفته دویدن اختیاری روی چرخ دوار بر میزان سمافورین B^۳، پراکسید هیدروژن و آپوپتوز هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۲): ۲۱۵-۲۲۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی تو (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

شناخته شده است و باعث حذف یا غیرفعال کردن سرطان های سینه و ریه می گردد (۱۰). به نظر می رسد تاکنون مطالعه ای تغییرات Sema3B در افراد دیابتی شده را مورد بررسی قرار نداده باشد، اما افزایش سطوح دیگر سمافورین های طبقه ۳ از جمله Sema3A در نفروپاتی دیابتی (۱۱) و به علاوه Sema3E در افراد دیابتی چاق مشاهده شده است (۱۲). از سوی دیگر نشان داده شده است که تمرینات ورزشی جدا از مزایای بدنی که دارند، عملکرد شناختی را بهبود بخشیده و بازتوانی عصبی را بعد از آسیب مغزی، آسان تر می کنند (۱۳). چندین مطالعه گزارش کردند که تمرینات ورزشی منظم می تواند در برابر آپوپتوز مقابله نماید (۱۴، ۱۵). برخی مطالعات اظهار داشتند پاسخ سازگاری به ورزش منظم ممکن است شامل تنظیم افزایشی برخی از آنزیم های سیستم ضداکسایشی و کاهش تجمع برخی رادیکال های آزاد و تعدیل آسیب اکسایشی (۱۵، ۱۶) و یا افزایش برخی عوامل ضدآپوپتوزی و کاهش برخی عوامل آپوپتوزی (۱۴، ۱۷) باشد. با این حال ساز و کارهای دقیق سلولی و مولکولی اثر حفاظتی تمرین ورزشی در برابر آپوپتوز مشخص نمی باشد که این امر حاکی از ضرورت انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه می باشد (۱۴). با توجه به جستجویی که در این زمینه توسط ما انجام گرفته است به نظر می رسد تا کنون تغییرات سمافورین ها به ویژه Sema3B و نقش آن در آپوپتوز در شرایط دیابتیک و نیز به دنبال تمرینات ورزشی مورد بررسی قرار نگرفته است و مطالعه حاضر اولین تحقیق در این زمینه می باشد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر ۴ هفته تمرین اختیاری بر میزان Sema3B، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و آپوپتوز هیپوکامپ موش های دیابتی شده می باشد.

روش کار

در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ، ۸ الی ۱۰ هفته ای با محدوده وزنی 235 ± 10 گرم، پس از همسان سازی وزنی به طور تصادفی در گروه های ۸ تایی (کنترل سالم (C)، تمرین سالم (E)، کنترل دیابت (D) و تمرین دیابت (ED)) قرار داده شدند. دیابتی کردن موش های صحرایی از روش تزریق داخل صفاقی 50 mg/kg داروی استریتوزوسین (Streptozotocin) محلول در بافر سیترات ($\text{PH}=4/5$) به صورت تک دوز استفاده شد. طبق این شیوه ۷۲ ساعت پس از تزریق، دیابت در موش ها ایجاد شده و جهت تشخیص آن، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط تیغ جراحی در انتهای دم حیوانات، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفته و سپس توسط دستگاه تست قندخون اکیو چک اکتیو (ACCU-CHEK Active) اندازه گیری انجام شد. موش هایی که سطوح گلوکز خون آنها بالاتر از 250 mg/dL بود به عنوان دیابتی شناسایی شدند (۲، ۳). تمامی موش های صحرایی در حیوان خانه دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران در دمای محیطی 22 ± 3 درجه سانتی گراد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شده و محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند. در این مطالعه کلیه اصول اخلاقی

دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک پیشرفته و مزمن است که باعث مشکلات سلامت عمومی می شود. امروزه، اختلالات وابسته به دیابت یکی از مهمترین عوامل دخیل در مرگ و میر در جهان محسوب می شود (۱). در القای دیابت آزمایشگاهی در مدل حیوانی که از استریتوزوسین (STZ) استفاده می گردد پس از تزریق، STZ توسط ناقل گلوکز ۲ (GLUT_2) وارد سلول های بتا می شود و با افزایش تولید رادیکال های آزاد، آسیب DNA و تخریب بافتی پانکراس را ایجاد می کند، روندی که در نهایت با عدم ترشح و یا ترشح ناکافی انسولین، دیابت نوع ۱ را القا می نماید و بدین ترتیب هیپرگلیسمی رخ می دهد (۲). هیپرگلیسمی تحت شرایط دیابتیک، اغلب با عوارض جانبی از قبیل بیماری های قلبی عروقی، نارسایی کلیوی، رتینوپاتی و نوروپاتی مرتبط است. مطالعات متعددی نشان دادند که سیستم اعصاب محیطی (PNS) و نیز سیستم اعصاب مرکزی (CNS) در دیابتی ها دچار اختلال می گردند. در دیابت نوع ۱ اعصاب به ویژه اعصاب هیپوکامپ به طور قابل ملاحظه ای آسیب پذیر هستند (۲، ۳). هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک است که با یادگیری، حافظه و عملکرد شناختی در حیوانات و همچنین انسان ها مرتبط است (۲). در حالیکه ساز و کار تاثیر هیپرگلیسمی در دیابتی ها روی اعصاب کمتر شناخته شده، اما نشان داده شده است هیپرگلیسمی می تواند از طریق اختلال در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی طی فرآیند فسفریلاسیون اکسایشی، باعث تولید بیشتر میتوکندریایی رادیکال های آزاد (سوپراکساید، پراکسید هیدروژن) و گونه های فعال اکسیژن (ROS) و به نوبه خود ایجاد شرایط فشار اکسایشی شود (۴). افزایش التهاب و فشار اکسایشی ناشی از دیابت، می تواند موجب افزایش آپوپتوز سلول های عصبی هیپوکامپ شود، به گونه ای که شکل پذیری عصبی، تکثیر و بقا سلول های عصبی و در نهایت، نوروزنر هیپوکامپ کاهش می یابد (۵). آپوپتوز، مرگ سلولی برنامه ریزی شده است که برای تنظیم نمودن جمعیت سلولی به کار می رود و در بسیاری از بیماری ها تنظیم نادرست آپوپتوز اختلال اصلی به شمار می رود (۶). آپوپتوز نقش اساسی در مرگ عصبی ناشی از دیابت در هیپوکامپ ایفا می کند. در مقاله ای مروری اظهار شده است که دیابت از طریق ساز و کارهای متعددی از قبیل فشار اکسایشی، فعال سازی کاسپازها، اختلال در بیان ژن های تنظیم کننده آپوپتوز، و نیز نقص در عملکرد میتوکندری ممکن است باعث ایجاد آپوپتوز در اعصاب هیپوکامپ شود (۷). یکی از پروتئین هایی که در توسعه سیستم عصبی نقش دارند مولکول های هدایت کننده اکسون از جمله سمافورین ها (Semaphorin) می باشند. در سیستم عصبی، سمافورین ها می توانند نقش دفع و یا جذب کنندگی برای اکسون ها به بافت هدف داشته باشند (۸). علاوه بر مشخصات هدایت کنندگی سمافورین ها، آنها می توانند باعث مرگ سلولی نیز شوند. برای مثال، چندین سمافورین طبقه ۳ در کنترل آپوپتوز اعصاب و سلول های سرطانی دخیل می باشند (۹، ۱۰). سمافورین B³ (Sema3B) یکی از سمافورین های طبقه ۳ می باشد که نوروپیلین ها (NP) نیز به عنوان گیرنده آن شناخته می شود. Sema3B به عنوان سرکوب کننده تومور

ELISA و بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت (ZellBio GmbH, آلمان) با دامنه پراکندگی $400-500 \mu\text{M}$ و حساسیت کمتر از $5 \mu\text{M}$ اندازه‌گیری گردید. نتایج توسط دستگاه الایزا خوان (Biotech, آمریکا) قرائت شد. داده‌های بدست آمده از طریق نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل و به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شدند. در ابتدا به منظور تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برابری واریانس‌ها از آزمون لون (Levene) استفاده شد. تفاوت‌های آماری تغییرات متغیرهای وابسته در بین گروه‌های تحقیق با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA)، و آزمون تعقیبی LSD برآورد شد. از آزمون t مستقل نیز برای مقایسه مسافت پیموده شده بین دو گروه E و ED استفاده گردید. مقادیر $P \leq 0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار وزن و مسافت طی شده آزمودنی‌ها در جدول ۱ به تفکیک گروه‌ها آورده شده است. داده‌های جدول ۱ نشان می‌دهد که وزن آزمودنی‌های گروه‌های کنترل دیابت و تمرین دیابت هنگام کشتار نسبت به گروه کنترل سالم و تمرین سالم به طور معنی‌دار پائین‌تر بوده است ($P \leq 0.05$). همچنین به طور معنی‌داری مسافت پیموده شده توسط موش‌های دیابتی نسبت به سالم کمتر بود ($P \leq 0.05$). میانگین و انحراف معیار مقادیر متغیرهای تحقیق به تفکیک گروه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد میزان H_2O_2 و Sema3B و آپوپتوز هیپوکامپ در گروه D به طور معنی‌داری بیشتر از گروه C می‌باشد (به ترتیب $P=0.002$, $P=0.002$ و $P=0.001$) و اجرای تمرین اختیاری در گروه ED متغیرهای مذکور را نسبت به گروه D کاهش قابل توجهی داد (به ترتیب $P=0.002$, $P=0.002$ و $P=0.001$). بعلاوه، میزان Sema3B و آپوپتوز در گروه E به صورت معنی‌داری از گروه C کمتر بود (به ترتیب $P < 0.001$ و $P=0.031$). نتایج همچنین حاکی از سطوح پایین‌تر Sema3B و متغیر آپوپتوز در گروه E نسبت به گروه ED است (به ترتیب $P=0.001$ و $P=0.007$).

کار بر اساس قوانین بین المللی و پروتکل اخلاقی راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی منتشر شده توسط انیستیتو پاستور رعایت گردید. موش‌های گروه‌های تمرینی در قفس‌های مجهز به چرخ دوار به صورت انفرادی به مدت ۴ هفته نگهداری شدند و به طور آزادانه به چرخ دوار دسترسی داشتند. این دستگاه مجهز به شماره انداز می‌باشد که مسافت پیموده شده در طی شبانه روز را نشان می‌دهد. مسافت پیموده شده توسط هر یک از آزمودنی‌ها در راس ساعت مقرر به طور روزانه توسط محقق یادداشت می‌شد. موش‌های بی‌تحرك (گروه C، گروه D) نیز در طول دوره تحقیق به صورت گروه‌های ۴ تایی در ۴ قفس پلی‌کربنات شفاف بدون چرخ دوار قرار داده شدند.

در پایان هفته چهارم و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (80 mg/kg) زایلازین (8 mg/kg) بیهوش شدند. سپس با جدا کردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جدا کردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسه جمجمه، هیپوکامپ از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا و وارد تیوب‌های مخصوص گردیده و فوراً به ازت مایع منتقل شد. پس از منجمد شدن بافت در یخچال مخصوص در دمای منفی 80°C درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. به منظور هموژنایزاسیون $100 \mu\text{L}$ میلی‌گرم از بافت هیپوکامپ را با ازت مایع در هاون پودر و سپس وارد میکروتیوب و به آن 1 mL میلی‌لیتر بافر PBS اضافه شد. در مرحله بعد، نمونه‌های هموژنیزه شده به مدت 15 دقیقه با دور 6000 rpm سانتریفیوژ شدند. سپس مایع‌رویی (سوپرناتانت) جداسازی و در میکروتیوب‌های جداگانه ریخته شد و برای سنجش متغیرهای مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. میزان آپوپتوز در بافت هیپوکامپ با استفاده از کیت الایزا (ELISA) تعیین مرگ سلولی به روش تعیین میزان قطعات DNA همراه با هیستون سیستولیک (cytosolic histone-associated DNA fragmentation)، بر اساس شیوه توضیح داده شده در دستورالعمل کارخانه سازنده کیت (Roche Molecular Biochemicals، آلمان) اندازه‌گیری گردید. اندازه‌گیری Sema3B با روش ELISA و با استفاده از کیت مخصوص نمونه‌های حیوانی بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده (ZellBio GmbH، آلمان) با دامنه پراکندگی $20-50 \text{ ng/mL}$ و درجه حساسیت $> 0.03 \text{ ng/mL}$ انجام گرفت. سطوح H_2O_2 بافت هیپوکامپ نیز با استفاده از کیت آزمایشگاهی حیوانی به روش

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار وزن و مسافت پیموده شده در گروه‌های مختلف تحقیق

متغیر	گروه کنترل سالم (C)	گروه تمرین سالم (E)	گروه کنترل دیابت (D)	گروه تمرین دیابت (ED)
وزن (گرم)	$315/75 \pm 28/34$	$340/75 \pm 39/10$	$202/25 \pm 21/43$	$221/87 \pm 34/50$
مسافت دویدن (متر)	-	$37396/87 \pm 12710/55$	-	$12331/50 \pm 5803/41$

* اختلاف معنی‌دار با گروه C و E ($P \leq 0.05$)، * اختلاف معنی‌دار با گروه D ($P \leq 0.05$).

جدول ۲: نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و تعقیبی LSD برای مقایسه میانگین اختلاف بین گروه‌ها

متغیر	گروه کنترل سالم (C)	گروه تمرین سالم (E)	گروه کنترل دیابت (D)	گروه تمرین دیابت (ED)
آپوپتوز ($\text{OD}_{405}/\text{mg protein}$)	0.98 ± 0.08	0.88 ± 0.09	1.17 ± 0.11	1.10 ± 0.04
Sema3B (ng/mL)	0.47 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.55 ± 0.08	0.44 ± 0.02
$\text{H}_2\text{O}_2 (\mu\text{M})$	$27/28 \pm 7/52$	$24/24 \pm 7/83$	$42/70 \pm 16/45$	$26/96 \pm 3/87$

* اختلاف معنی‌دار با گروه C ($P \leq 0.05$)، اختلاف معنی‌دار با گروه D ($P \leq 0.05$)، * اختلاف معنی‌دار با گروه E ($P \leq 0.05$).

بحث

پژوهش حاضر به بررسی تاثیر ۴ هفته تمرین ورزشی اختیاری بر غلظت H_2O_2 ، $Sema3B$ و میزان آپوپتوز بافت هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده پرداخته است. در این مطالعه ما نشان دادیم که آپوپتوز در هیپوکامپ موش های صحرایی دیابتی شده با STZ بوجود آمده که با افزایش معنی دار در غلظت H_2O_2 و $Sema3B$ در این ناحیه همراه بوده است. Pamidi و Nayak، نیز نشان دادند که ۳۰ روز پس از تزریق STZ تعداد سلول های عصبی زنده هیپوکامپ مغز موش های صحرایی کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل پیدا می کنند و آسیب به این سلول ها افزایش قابل توجهی می یابند. افزایش در میزان آپوپتوز بدنال القای دیابت تجربی چنانچه در مطالعات قبلی نشان داده شده است نشان دهنده ی این است که در بیماری دیابت افزایش تولید رادیکال های آزاد و تولید فشار اکسایشی می تواند به عنوان یک عامل محرک در آپوپتوز مطرح باشد (۱۸،۱۵). مطالعات متعدد سطوح بالای H_2O_2 را در دیابتی ها همانند مطالعه حاضر گزارش نمودند (۱۹،۲۰). به نظر می رسد هیپرگلیسمی با فعالسازی NADPH اکسیداز موجب افزایش تولید H_2O_2 و فشار اکسایشی در شرایط دیابتیک می گردد (۴). دیابت به فشار اکسایشی و التهاب وابسته است، زیرا هر یک از آنها با تولید بالای مولکول های چسبان و سایتوکاین های پیش التهابی مانند IL-6 و $TNF-\alpha$ در ارتباط می باشند. دیابت یک وضعیت پیش التهابی مزمن است که به تدریج ذخایر ضد اکسایشی درون سلولی را کاهش می دهد و سلول ها را مستعد به آسیب می کند. در حقیقت، ROS در غلظت بالا می تواند از طریق اکسایش مستقیم و یا از طریق تداخل در ساز و کارهای ترمیم سلولی، باعث آسیب به DNA و مرگ سلول شوند (۲۱). فاکتور دیگر مطالعه ی حاضر که برای آن نقش آپوپتوزی در نظر گرفته شد سمافورین B۳ می باشد. تاکنون مطالعه ای یافت نشد که تغییرات $Sema3B$ در شرایط دیابتیک را مورد بررسی قرار داده باشد. اما افزایش سطوح دیگر سمافورین های طبقه ۳ از جمله $Sema3A$ در نفروپاتی دیابتی نشان داده شده است؛ ترکیبی که احتمالاً باعث مرگ سلول های پودوسیت کلیه ها می شود و پیشرفت نفروپاتی دیابتی را به دنبال دارد (۱۱). به علاوه افزایش $Sema3E$ در افراد دیابتی گزارش شده است که باعث کاهش آنژیوژنز و افزایش التهاب گردید (۱۲). در رابطه با عواملی که بر غلظت $Sema3B$ موثر می باشند اطلاعات بسیار محدود می باشد. تنها چند مطالعه نشان داده اند که التهاب و فشار اکسایشی عوامل تنظیم کننده سمافورین ها می باشند (۲۲). از طرفی مطالعه ای اظهار داشت که بین سمافورین های طبقه ۳ ($Sema3A$) و فشار اکسایشی تعاملاتی وجود دارد به طوری که نویسندگان فشار اکسایشی را مسئول آسیب رسانی $Sema3A$ به بافت های کلیه در موش های دیابتی پیشنهاد نمودند (۲۳). همچنین مطالعه ای نشان داد که علامت دهی $Sema3A$ موجب افزایش موضعی H_2O_2 در مخروط رشد پشتی ریشه گانگلیون اعصاب از طریق فعالسازی MICAL1 و MICAL3 می شود (۲۴). پروتئین دیگری که ممکن است نقش مهم در القاء سمافورین های طبقه ۳ به ویژه $Sema3B$ داشته باشد پروتئین سرکوب کننده تومور (p53) می باشد اگر چه

ساز و کار دقیق چگونگی تاثیر گذاری و تنظیم آن بر سمافورین ها مشخص نمی باشد (۲۵). در پژوهشی نشان داده شده است بیان بالای $Sema3B$ در حضور و حتی غیاب p53 نیز می تواند اثر آپوپتوزی بر سلول های سرطانی داشته باشد. این مطالعه که روی سلول های سرطانی کشت شده صورت پذیرفت نشان داد که $Sema3B$ از طریق فعالسازی آنزیم کاسپاز ۳ منجر به القاء آپوپتوز در این سلول ها گردید (۱۰). با اینکه نقش محوری سمافورین های مترشح در تنظیم مرگ سلول های عصبی به اثبات رسیده است (۹) اما مسیرهای متداول دخیل تاکنون مشخص نشده است. Moretti و همکاران، در پژوهشی اظهار داشتند که علامت دهی $Sema3A$ ، آپوپتوز به واسطه ی Fas (CD95) را از طریق انتقال Fas به درون قایق های لیپیدی (Lipid Raft) کنترل می نماید (۲۶). در مجموع در مطالعه حاضر شاید بتوان گفت از جمله عواملی که موجب افزایش آپوپتوز بواسطه القاء دیابت می گردد افزایش رادیکال آزاد H_2O_2 و $Sema3B$ می باشد. در مطالعه حاضر نشان داده شد که ۴ هفته تمرین اختیاری موجب کاهش معنی دار در غلظت H_2O_2 و $Sema3B$ و آپوپتوز هیپوکامپ موش های دیابتی گردید. همان گونه که در بخش مقدمه به آن اشاره شد تمرینات ورزشی، تاثیرات مثبتی بر عملکرد شناختی داشته و بازتوانی عصبی را پس از آسیب مغزی تسهیل می نماید (۱۳). Van Praag، در پژوهشی اظهار داشته است که دوییدن اختیاری روی چرخ دوار موجب افزایش ۳-۴ برابر و یا حتی بیشتر در تولید و بقای سلول های عصبی جدید در شکنج دندانه ای هیپوکامپ می شود (۲۷). ورزش منظم احتمالاً از طریق سازگاری هایی که بر فعالیت و بیان برخی عوامل موثر در تنظیم آپوپتوز ایجاد می نماید می تواند در این راستا نقش ایفا کند (۱۴،۱۵،۱۷). Mokhtari-Zaer و همکاران، طی مطالعه ای که بر روی موش های صحرایی معتاد به مورفرین انجام دادند، خاطر نشان ساختند که ۱۰ روز تمرین اختیاری روی چرخ دوار، باعث کاهش بیان پروتئین پیش آپوپتوزی (Bax) افزایش یافته و افزایش بیان پروتئین ضد آپوپتوزی (Bcl-2) ثابت مانده در هیپوکامپ ناشی از مورفرین می گردد. به علاوه، اختلالات مربوط به عملکرد شناختی در این آزمودنی ها را سد می کند (۲۸). Mohammadi و همکاران، طی مطالعه ای نشان داده اند که تمرینات اختیاری منظم از القای آپوپتوز ناشی از تزریق ماده سمی OHDA-۶ از طریق افزایش عوامل نوروتروفیک در قشر مخ موش ها می کاهد و به نوبه خود موجب بالا رفتن طول عمر نوروها در برابر تخریب اکسایشی ناشی از سمیت OHDA-۶ می گردد (۲۹). نتیجه گیری کلی در مورد تاثیر دوییدن اختیاری روی چرخ دوار بر آپوپتوز دشوار می باشد و ممکن است عوامل دیگری در تنظیم آپوپتوز به دنبال دوییدن اختیاری دخیل باشند. طبق بررسی های انجام شده به نظر می رسد تنها یک پژوهش به تاثیر تمرینات ورزشی بر سمافورین ها ($Sema3A$) پرداخته است. نتایج این پژوهش نشان داد که تمرینات تناوبی شدید بیان افزایش یافته ی $Sema3A$ را در عضلات اسکلتی موش های پیر کاهش داده است و بدین طریق احتمالاً از دست رفتن عصب و آتروفی عضلانی در پیری را به تاخیر می اندازد (۳۰). همان گونه که نتایج مطالعه حاضر نشان داد ۴ هفته تمرین اختیاری

مطالعه آپوپتوز ناشی از القای دیابت تجربی با افزایش میزان Sema3B و H_2O_2 در هیپوکامپ مغز همراه است و دوییدن اختیاری در مدت ۴ هفته توانست میزان Sema3B و H_2O_2 و آپوپتوز را کاهش دهد. برای توصیه این شیوه به عنوان یک راهکار درمانی در مقابله با عوارض این بیماری نیاز به مطالعات بیشتر می باشد.

قدردانی

از همکاری دانشجویان دکتری دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران صمیمانه تشکر می نمایم.

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی شامل این مقاله نمی شود.

منابع مالی

حمایت مالی از بخش خاصی وجود نداشت و هزینه شخصی انجام شد.

منافع متقابل

منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله نداریم.

مشارکت مولفان

طراحی اجرا، تحلیل نتایج، تالیف مقاله توسط م ف، و خواندن و تایید نسخه نهایی آن توسط ض ف و م ا صورت پذیرفت.

موجب کاهش غلظت افزایش یافته ی پروتئین Sema3B در هیپوکامپ موش های دیابتی گردید. نظر به محدود بودن مطالعات در زمینه تاثیر فعالیت ورزشی بر سمافورین ها و اینکه با توجه به جستجوهای به عمل آمده توسط محقق موردی در خصوص تاثیر تمرین ورزشی بر سطوح Sema3B یافت نگردید، ساز و کارهای احتمالی این تغییرات کاهش، مشخص نمی باشند ولی با توجه به تعامل مابین وضعیت اکسایشی و سمافورین ها این احتمال وجود دارد که در مطالعه حاضر، تمرینات ورزشی اختیاری از طریق کاهش فشار اکسایشی و رادیکال های آزاد همچون H_2O_2 که رخ داده است موجب تقلیل در سطوح Sema3B شده است. از آنجایی که در این مطالعه تجربی، اندازه گیری ها در مورد فشار اکسایشی جامع نبوده و اطمینان از وقوع آپوپتوز تنها به روش بکار رفته در این مطالعه، دشوار می باشد و همچنین با توجه به موارد فوق الذکر و اطلاعات در دسترس محدود در این زمینه نیاز به مطالعات بیشتر احساس می گردد. از این رو پیشنهاد می گردد در پژوهش های آینده تاثیر پروتکل های متنوع تمرینی بر سطوح سایر سمافورین ها و دیگر شاخص های فشار اکسایشی در بافت های مختلف مغز در سایر بیماری های دژنراتیو عصبی و بر روی نمونه های انسانی مورد بررسی قرار گیرند و همچنین جهت اطمینان بیشتر از وقوع آپوپتوز در کنار روش بکار رفته در این مطالعه از روش های ترکیبی معتبر دیگر (تغییرات مورفولوژی، تانل، فعالیت کاسپازها و ...) نیز استفاده گردد.

نتیجه گیری

نتیجه گیری نهایی به دلیل کمبود شواهد و تایید نشدن در نمونه های انسانی باید با احتیاط عنوان گردد. با توجه به نتایج حاصل از این

References

1. Dailey G. Overall mortality in diabetes mellitus: where do we stand today? *Diabetes technology & therapeutics* 2011; **13**(1): 60-65. doi: 10.1089/dia.2011.0019
2. Jafari Anarkooli I, Barzegar Ganji H, Pourheidar M. The protective effects of insulin and natural honey against hippocampal cell death in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of diabetes research* 2014; 2014: Article ID 491571, 8 pages. doi: 10.1155/2014/491571.
3. Jafari Anarkooli I, Sankian M, Ahmadpour S, Varasteh AR, Haghir H. Evaluation of Bcl-2 family gene expression and Caspase-3 activity in hippocampus STZ-induced diabetic rats. *Experimental diabetes research* 2008; **2008**: 638467. doi: 10.1155/2008/638467.
4. Koike N, Takamura T, Kaneko S. Induction of reactive oxygen species from isolated rat glomeruli By protein kinase C activation and TNF- α stimulation, and effects of a phosphodiesterase inhibitor. *Life sciences* 2007; **80**(18): 1721-1728. doi: 10.1016/j.lfs.2007.02.001.
5. Ho N, Sommers M S, Lucki I. Effects of diabetes on hippocampal neurogenesis: links to cognition and depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2013; **37**(8): 1346-1362. doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.03.010.
6. Kobayashi K, Nakano H, Hayashi M, Shimazaki M, Fukutani Y, Sasaki K, et al. Association of phosphorylation site of tau protein with neuronal apoptosis in Alzheimer's disease. *Journal of the neurological sciences* 2003; **208**(1): 17-24. doi: 10.1016/S0022-510X(02)00410-0.
7. Sadeghi A, Hami J, Razavi S, Esfandiary E, Hejazi Z. The effect of diabetes mellitus on apoptosis in hippocampus: cellular and molecular aspects. *International journal of preventive medicine* 2016; **7**(57). doi: 10.4103/2008-7802.178531.
8. Masuda T, Taniguchi M. Contribution of semaphorins to the formation of the peripheral nervous system in higher vertebrates. *Cell adhesion & migration* 2016; **10**(6): 593-603. doi: 10.1080/19336918.2016.1243644.
9. Gagliardini V, Fankhauser C. Semaphorin III can induce death in sensory neurons. *Molecular and Cellular Neuroscience* 1999; **14**(5): 301-316. doi: 10.1006/mcne.1999.0787
10. Castro-Rivera E, Ran S, Thorpe P, Minna JD. Semaphorin 3B (SEMA3B) induces apoptosis in lung

- and Breast cancer, whereas VEGF165 antagonizes this effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004; **101**(31): 11432-11437. doi: 10.1073/pnas.0403969101.
11. Aggarwal P K, Veron D, Thomas D B, Siegel D, Moeckel G, Kashgarian M, et al. Semaphorin3a promotes advanced diabetic nephropathy. *Diabetes* 2015; **64**(5): 1743-1759. doi: 10.1073/pnas.0403969101.
12. Shimizu I, Yoshida Y, Moriya J, Nojima A, Uemura A, KoBayashi Y, et al. Semaphorin3E-induced inflammation contributes to insulin resistance in dietary obesity. *Cell metabolism* 2013; **18**(4): 491-504. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.001.
13. Radak Z, Toldy A, SzaBo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat Brain. *Neurochemistry international* 2006; **49**(4): 387-392. doi: 10.1016/j.neuint.2006.02.004
14. Kwak H B. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *Journal of exercise rehabilitation*; **9**(2): 212. doi: 10.12965/jer.130002.
15. Alipour M, Salehi I, Soufi F G. Effect of exercise on diabetes-induced oxidative stress in the rat hippocampus. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2012; **14**(4): 222.
16. Radak Z, Suzuki K, Higuchi M, Balogh L, Boldogh I, Koltai E. Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. *Free Radical Biology and Medicine* 2016; **98**:187-196. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.01.024.
17. Siu P M, Bryner R W, Martyn J K, Alway S E. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *The FASEB Journal* 2004; **18**(10): 1150-1152. doi: 10.1096/fj.03-1291fj.
18. Pamidi N, Nayak S. Effect of environmental enrichment exposure on neuronal morphology of streptozotocin-induced diabetic and stressed rat hippocampus. *Biomedical journal* 2014; **37**(4): 225. doi: 10.4103/2319-4170.125651.
19. Yang H, Fan S, Song D, Wang Z, Ma S, Li S, et al. Long-term streptozotocin-induced diabetes in rats leads to severe damage of Brain Blood vessels and neurons via enhanced oxidative stress. *Molecular medicine reports* 2013; **7**(2): 431-440. doi: 10.3892/mmr.2012.1227.
20. Zabielski P, Lanza I R, Gopala S, Heppelmann C J, Bergen H R, Dasari S, et al. Altered skeletal muscle mitochondrial proteome as the basis of disruption of mitochondrial function in diabetic mice. *Diabetes* 2015; dB150823. doi: 10.2337/dB15-0823.
21. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *International Journal of Cancer* 2007; **121**(11): 2381-2386. doi: 10.1002/ijc.23192.
22. Joyal JS, Sitaras N, Binet F, Rivera J C, Stahl A, Zaniolo K, et al. Ischemic neurons prevent vascular regeneration of neural tissue By secreting semaphorin 3A. *Blood* 2011; **117**(22): 6024-6035. doi: 10.1182/Blood-2010-10-311589.
23. Mohamed R, Ranganathan P, Jayakumar C, Nauta F L, Gansevoort R T, Weintraub B, et al. Urinary semaphorin 3A correlates with diabetic proteinuria and mediates diabetic nephropathy and associated inflammation in mice. *Journal of Molecular Medicine* 2014; **92**(12): 1245-1256. doi: 10.1007/s00109-014-1209-3.
24. Morinaka A, Yamada M, Itofusa R, Funato Y, Yoshimura Y, Nakamura F, et al. Thioredoxin mediates oxidation-dependent phosphorylation of CRMP2 and growth cone collapse. *Sci. Signal* 2011; **4**(170): ra26. doi: 10.1126/scisignal.2001127.
25. Moriya J, Minamino T, Tateno K, Okada S, Uemura A, Shimizu I, et al. Inhibition of semaphoring as a novel strategy for therapeutic angiogenesis. *Circulation research* 2010; **106**(2): 391-398. doi: 10.1161/circresaha.109.210815.
26. Moretti S, Procopio A, Lazzarini R, Rippo M R, Testa R, Marra M, et al. Semaphorin3A signaling controls Fas (CD95)-mediated apoptosis By promoting Fas translocation into lipid rafts. *Blood* 2008; **111**(4): 2290-2299. doi: 10.1182/Blood-2007-06-096529.
27. Van Praag H. Exercise and the Brain: something to chew on. *Trends in neurosciences* 2009; **32**(5): 283-290. doi: 10.1016/j.tins.2008.12.007.
28. Mokhtari-Zaer A, Ghodrati-JaldBakhan S, Vafaei A A, Miladi-Gorji H, Akhavan M M, Bandegi A R, et al. Effects of voluntary and treadmill exercise on spontaneous withdrawal signs, cognitive deficits and alterations in apoptosis-associated proteins in morphine-dependent rats. *Behavioural Brain research* 2014; **271**: 160-170. doi: 10.1016/j.bbr.2014.05.061
29. Mohammadi F, Aslani J, Mohammadi R. Voluntary training increases the level of CDNF cortex in the experimental model of exposed 6-OHDA rats. *Applied Exercise Physiology Research* 2015; **4**(2): 97-104. (Persian).
30. Ghadirihormati L, Aminaie M, Bahadordakhili A, Asadishekaari M. The Effect of High-Intensity Exercise Training on Gene Expression of Semaphorin 3A in Extensor Digitorum Longus Muscles of Aged C57Bl/6 Mice. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences* 2017; **25**(1): 92-102. (Persian).