مقاله پژوهشی

اثر کاهش فعالیت به روش لیگاتوربندی عصب نخاعی بر بیان ژن NT-4 در عصب سیاتیک رت‌های نر ویستار

مسعود رحمتی[1*]، عبدالرضا کاظمی[2]، محسن باقریان رفسنجانی[3]، سیدجلال طاهرآبادی[1]، مهدی مداحی[3]

۱- گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.
۲- گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران.
۳- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، کرمان، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۵/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: نوروپاتی دردناک حالتی است که از آسیب یا بیماری اعصاب حسی‌پیکری حاصل می‌شود. نوروتروفین‌ها از جمله NT-4 برای رشد و نمو نورونی حیاتی بوده و یکپارچگی عملکرد و ساختار سیستم عصبی را حفظ می‌کنند. با توجه به نقش و اهمیت فعالیت‌بدنی در ترمیم و شکل‌پذیری عصبی، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مزمن کاهش فعالیت به شکل لیگاتوربندی نخاع (SNL) بر بیان ژن NT-4 عصب سیاتیک رت‌های نر ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۱۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن ۳۰±۲۵۰ گرم به دوگروه کنترل سالم (C) و گروه کاهش فعالیت به روش SNL تقسیم شدند. طی شش هفته پس از آن آزمون‌های رفتاری درد نوروپاتیک در گروه‌های پژوهشی به طور مستمر انجام شد. در پایان هفته ششم تغییرات بیان ژن NT-4 در عصب سیاتیک با تکنیک Real time اندازه‌گیری شد.

نتایج: آزمون‌های رفتاری نشان دادند که کاهش فعالیت به شکل لیگاسیون نخاعی موجب آلودانیای (درد سوزشی) مکانیکی و پردردی حرارتی در گروه SNL می‌شود. کاهش آستانه درد تا تمام پروتکل مشاهده شد ($p<0.05$). همچنین، در مقایسه با گروه C میزان بیان ژن NT-4 در عصب سیاتیک گروه SNL بالاتر بود ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر نشان داد که کاهش فعالیت به شکل SNL با افزایش بیان ژن NT-4 در گروه تجربی همراه می‌باشد. با توجه به اعمال فیزیولوژیک NT-4در سیستم عصبی احتمالاً این افزایش سازوکاری جهت نوزایی عصبی در محل آسیب دیده می‌باشد. با توجه به تحقیقات انجام شده به نظر می‌رسد افزایش فعالیت بتواند افزایش بیان NT-4 را بهبود بخشیده و نوزایی عصبی را تسریع کند.

کلمات کلیدی: درد نوروپاتی، کاهش فعالیت بدنی، نوروتروفین ها، NT-4

مقدمه

نوروپاتی یا آسیب اعصاب محیطی حالتی است که به دنبال دلایل مختلفی نظیر: آسیب‌های جسمانی (Physical Trauma)، بیماری دیابت، اثر داروهای شیمیایی و برخی عفونت‌ها، رخ می‌دهد. درد نوروپاتی، نیز نوعی درد مزمن است که از آسیب یا بیماری اعصاب حسی‌پیکری (Somatosensory) حاصل شده و موجب اختلالات بسیار عملکردی در فرد شده و با علایمی همچون آلودانیا یا درد سوزشی، پردردی و درد خودبه‌خودی ظاهر می شود(۱). علاوه بر تغییرات در سیستم عصبی مرکزی و محیطی، درد نوروپاتیک موجب کاهش سطح فعالیت جسمانی و حرکتی بیماران شده و آن‌ها را در معرض کاهش فعالیت بدنی و عوارض ناشی از آن، همانند بیماری قلبی-عروقی و عضلانی قرار می دهد(۲, ۳). کنترل درد نوروپاتی، نیازمند مصرف دارو بوده و به علت مقاوم بودن این درد به برخی داروها، با رضایت‌مندی بیماران فاصله دارد(۴).

*نویسنده مسئول: مسعود رحمتی، گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
Email: rahmati.mas@lu.ac.ir

از سوی دیگر، شناخت بیشتر سازوکار عمل و تأثیر فاکتورهای نوروتروفیک (Neurotrophic factors) ممکن است راه حلی جدید جهت بهبود درد نوروپاتی به ما نشان دهد(۵). فاکتورهای نوروتروفیک شامل فاکتور رشد عصبی (nerve growth factor) (NGF)، فاکتور رشد عصبی مشتق از مغز (Brain-Derived Neurotrophic Factor) (BDNF)، نوروتروفین-۳ (Neurotrophin-3) (NT-3) و نوروتروفین-۴ (NT-4) هستند(۶). NT-4 یکی از این فاکتورهای رشدی است که برای رشد، نمو و حیات نورونی، ضروری است. همچنین یکپارچگی عملکرد و ساختار سیستم عصبی را حفظ کرده و میانجی شکل‌پذیری عصبی در پاسخ به آسیب یا بیماری است. بنابراین، مطالعه تغییرات NT-4 ممکن است ابزاری در جهت ترمیم بافت عصبی آسیب دیده و بهبود بیماری‌ها در اختیار ما قرار دهد. این در حالی است که مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین‌های ورزشی مختلف می‌توانند تنظیم افزایشی فاکتورهای نوروتروفیک و بهبود عملکرد عصبی را به همراه داشته باشند. برای مثال، رحمتی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند فعالیت افزایش یافته به شکل تمرین استقامتی موجب تعدیل موتورپروتئین کاینزین-۱ و بهبود درد نوروپاتیک در رت‌های دیابتی شده توسط STZ می‌گردد (۲۲).

با توجه به اهمیت فعالیت‌بدنی در شکل‌پذیری عصبی و تنظیم افزایشی فاکتورهای نوروتروفیک (۷)، اما هنوز مشخص نیست سطوح بیان ژن NT-4 در اثر کاهش فعالیت به شکل لیگاتوربندی عصب نخاعی (Spinal Nerve Ligation) (SNL) دچار چه تغییراتی می‌گردد. با توجه به اهمیت این موضوع، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مزمن کاهش فعالیت به شکل SNL بر بیان ژن NT-4 عصب سیاتیک رت‌های نر ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش تجربی بر روی ۱۰ سر موش صحرایی (Rat) نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰±۲۵۰ گرم انجام گرفت. جهت آشنایی با محیط حیوان‌خانه، حیوانات پس از خریداری در شرایط دمایی ۴±۲۲ درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس نگهداری و با غذای مخصوص و آب تغذیه شدند. قبل از شروع پروتکل، رت‌ها بر اساس همسان‌سازی وزن به دو گروه کنترل سالم (تعداد=۵) (C) و گروه لیگاسیون عصب نخاعی (تعداد=۵) (SNL) تقسیم شدند. در سراسر دوره پژوهش موش‌ها توسط دو نفر نیز جابه‌جا و دستکاری شدند و تمام فرآیندهای پژوهش حاضر مطابق با کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات که توسط کمیته اخلاق دانشگاه مورد بررسی و تأیید قرار گرفت بود، انجام گردید.

لیگاتوربندی نخاع: مدل SNL روشی است که به طور گسترده برای مطالعه مکانیسم‌های درد نوروپاتیک و تأثیر داروها و رفتارهای مرتبط با درد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸). جهت ایجاد مدل SNL، ابتدا رت‌ها با سدیم پنتوباربیتول (۶۰ میلی گرم در هر کیلوگرم به صورت درون صفاقی) بیهوش شدند و سپس عصب پنجم کمری نخاعی آن‌ها بر اساس روش کیم و چانگ (۹) به طور محکم گره زده شد. به طور خلاصه در این روش، پس از اطمینان از بیهوشی حیوان، عضلات بین مهره‌ای در سطح مهره چهارم کمری و دوم خاجی جدا گردید و زائده عرضی مهره ششم کمری نیز برداشته شد. پس از مشخص شدن عصب پنجم کمری سمت چپ نخاع، با ظرافت از اعصاب مجاور جدا گردید. عصب پنجم کمری به طور محکم با استفاده از نخ مخصوص Thread silk، دقیقاً در انتهای دیستال جهت اطمینان از ایجاد اختلال در تمام فیبرها گره زده شد. همچنین، جهت اجتناب از آسیب به عصب چهارم کمری، دقت بالایی مبذول گردید. در نهایت، تنها حیواناتی در ادامه آزمایش لحاظ شدند که درد نوروپاتی را در آزمون‌های رفتاری نشان دادند. در گروه C نیز پوست و عضله در ناحیه بالای ران برش داده شد و پس از نمایان شدن عصب سیاتیک، پوست و عضله بدون دستکاری عصب با نخ بخیه ۰/۴ سیلک بخیه زده شد. به منظور سازگاری جهت آزمایش‌های رفتاری نیز حیوانات پیش از لیگاتوربندی نخاع به مدت ۳ روز در معرض آزمون‌های رفتاری (۲ بار برای هر آزمایش) قرار گرفتند. بدین صورت که حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه رفتار درد، بدون اجرای واقعی آزمایش، به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در محیط اصلی آزمایش قرار می‌گرفتند. به طور کلی، آزمون‌های رفتاری درد، پیش از لیگاتوربندی و به طور هفتگی پس از انجام عمل لیگاسیون اجرا می‌گردید (۱۰).

آزمون‌های رفتاری: به منظور اندازه‌گیری آلودینیای مکانیکی، حیوان بر روی یک شبکه سیمی و در داخل یک محفظه پلکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی متر قرار می‌گرفت. جهت عادت کردن حیوانات به محیط جدید، ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش، درون محفظه شفاف و بر روی صفحه مشبک قرار گرفتند. به منظور سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای مختلف Von Ferryدر محدوده ۲ تا ۶۰ گرم (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۵، ۲۶ و ۶۰) ساخت شرکت USA، Stolting جهت سنجش حساسیت پوست به تحریکات تماسی استفاده شد. هر آزمایش با تار دارای کمترین وزن شروع شد و در صورت عدم ایجاد پاسخ، به ترتیب از تارهای با وزن بالاتر استفاده گردید. چنانچه ۲ بار متوالی، پاسخ (بلند کردن پا توسط حیوان) مشاهده می‌گردید، همان وزنه به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه (Paw Withdrawal Threshold) (PWT) ثبت می‌شد و آزمون خاتمه می‌یافت. چنانچه حیوان به هیچ یک از تارها، از جمله تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی‌داد، عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد. همچنین، هر آزمایش ۳ بار و به تناوب حداقل ۳ دقیقه تکرار شد و میانگین آن‌ها به عنوان آستانه پس کشیدن پنجه منظور گردید (۱۱).

جهت سنجش پردردی حرارتی از روش Hargreaves و همکاران (۱۲) با کمی تغییر استفاده گردید. به طور خلاصه در این روش با استفاده از دستگاه Radiant Heat Plantar Test (Ugo Bassil, Italy) حیوانات در سه اتاقک از جنس پلکسی گلاس (طول و عرض ۲۲ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر) و بر روی یک صفحه پلکسی گلاس تمیز قرار می‌گرفتند. پس از ۳۰ دقیقه سازگاری حیوان با محیط جدید، با جابه‌جایی منبع متحرک تابش نور حرارتی، بخش میانی کف پای حیوان از میان سطح پلکسی گلاس در معرض تشعشع ثابت حرارتی قرار می‌گرفت. پس از تابش نور حرارتی توسط دستگاه به کف پای حیوان، تایمر فعال می‌شد و با کشیدن پا، تابش نور قطع و تایمر متوقف می‌گردید و با ثبت زمان تأخیر در PWL میزان تحمل حیوان نسبت به محرک آسیب‌رسان حرارتی مورد سنجش قرار می‌گرفت. هر پا به طور متناوب و با فواصل ۵ تا ۱۰ دقیقه، برای سه بار آزمایش و میانگین آن‌ها به عنوان آستانه درد حرارتی ثبت می‌شد. همچنین، میانگین سه اندازه‌گیری اولیه به عنوان تأخیر پایه در نظر گرفته شد.

استخراج نمونه: ۴۸ ساعت پس از پایان دوره ۶ هفته‌ای، رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین (90mg/kg) و زایلازین (10mg/kg)بی‌هوش و سگمنت‌های نخاعی تشکیل دهنده عصب سیاتیک (L4-L6) که در رت، میان دنده‌های T10-T12 (mm 25-20) قرار گرفته‌اند (۲۳)، با برش در پایین‌ترین بخش ممکن بلافاصله استخراج شد. تمامی نمونه‌ها در نیتروژن منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی در دمای ۸۰- نگهداری شدند.

بیان ژن NT-4: سنجش حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagentهموژن گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سانتی‌گراد، 10min، 12000g سانتریفوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در در۴ درجه سانتی‌گراد، 15min، 12000g سانتریفوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی‌گراد، 10min، 12000 g سانتریفوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شستشو و در 20Lµ آب-RNAS Freeحل گردید. غلظت RNA مورد سنجش قرار گرفت (Eppendorff, Germany)و نسبت جذبی ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از1gµ از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Mmulv Reverse transcriptase انجام گرفت. اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA NT-4 از روش کمی-Real time PCRبا استفاده از Primix syber green II انجام شد (USA Applied Bio systems). مخلوط واکنش در حجم نهایی 20Lµ و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های NT-4 و GAPDH در بانک ژنی NBCIو توسط شرکت ماکروژن (Macrogen Inc., Seoul, Korea) انجام شد. از GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های موردنظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری : جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (KS) استفاده شد. جهت تعیین معناداری تفاوت بین متغیرهای رفتاری از تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌های تکراری و از آزمون T جهت تعیین معنی‌داری تفاوت بیان ژن استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS-20 انجام و سطح معنی-داری ۰/۰۵ (α=۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

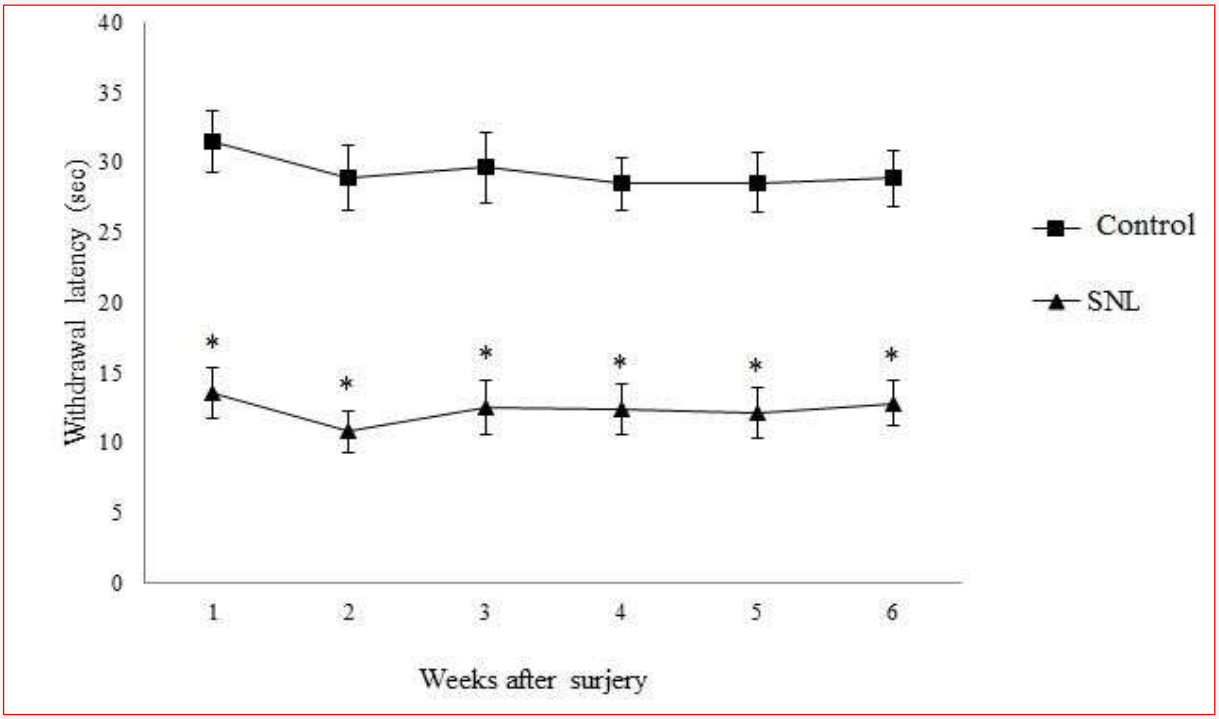
نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد که ۶ هفته لیگاتوربندی عصب نخاعی (SNL) موجب آلوداینیای مکانیکی (نمودار ۲) و پردردی حرارتی (نمودار۱) در رت‌های گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل (C) می‌شود. همچنین میزان بیان ژن **NT-4** نیز در رت‌های گروه SNL در مقایسه با گروهC بالاتر بود.

نتایج نمودار ۱ نشان می‌دهد که رت‌های گروه SNL در طول شش هفته لیگاتوربندی، از آستانه پایین‌تری در آزمون پردردی حرارتی نسبت به حالت طبیعی برخوردار بوده‌اند (p<۰/۰۵).

همچنین، نمودار ۲ نشان می‌دهد که در طول ۶ هفته لیگاتوربندی، رت‌های گروه SNL از آستانه درد پایین‌تری نیز در آزمون آلوداینیای مکانیکی در مقایسه با گروه C برخوردار بوده‌اند (p<۰/۰۵).

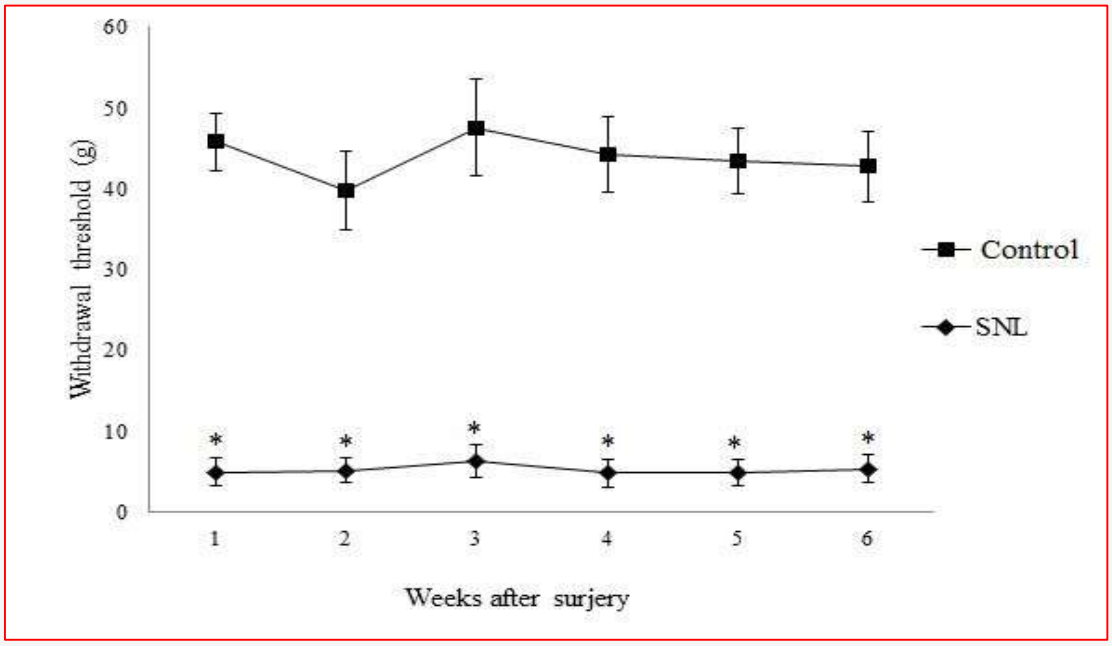
به علاوه، نتایج پژوهش حاضر نشان داد پس از ۶ هفته لیگاتوربندی، بیان ژن NT-4 درگروه لیگاتوربندی (SNL) نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش می‌یابد (p<۰/۰۵) (نمودار۳).



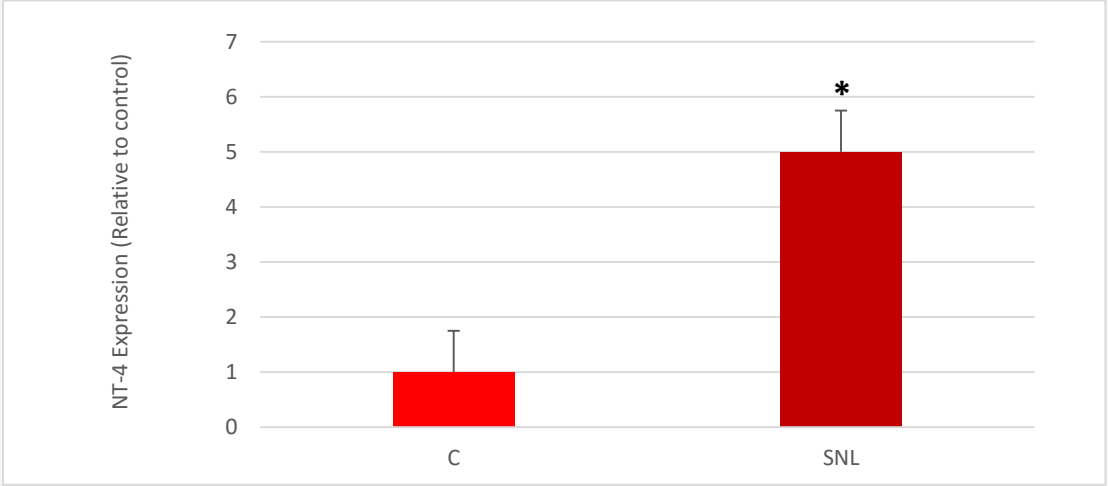
نمودار۱. میزان درد نوروپاتیک به شکل پردردی حرارتی در دو گروه کنترل (C) و فعالیت کاهش یافته (SNL) نشان داده شده است.
* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر مشاهده شد که ۶ هفته کاهش فعالیت به شکل SNL موجب افزایش بیان ژن NT-4 در عصب سیاتیک رت-های نر ویستار شده است. همچنین این افزایش بیان ژن با درد



نمودار ۲. میزان درد نوروپاتیک به شکل آلودایینیای مکانیکی در دو گروه کنترل (C) و فعالیت کاهش یافته (SNL) نشان داده شده است.
* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد (p<۰/۰۵).



نمودار ۳.تغییرات NT-4 در دو گروه کنترل (C) و لیگاسیون عصب نخاعی (SNL) نمایش داده شده است.
* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد (p<۰/۰۵).

نوروپاتی به شکل آلودایینیا مکانیکی و پردردی حرارتی همراه بوده است. NT-4 به عنوان فاکتور حیاتی برای نورون‌های حرکتی عمل می‌کند (۱۳). به طور مثال، در موش‌های فاقد NT-4 نشان داده شده است که اختلالات مورفولوژیکی بسیاری از قبیل پراکندگی و انفصال گیرنده‌های استیل‌کولین از غشای پیش سیناپسی در پیوندگاه عصبی-عضلانی رخ می‌دهد (۱۴). مطالعات زیادی نشان

می‌دهندکه نوروتروفین‌ها، فرایند درد را به عنوان یک تنظیم‌گر، کنترل می‌کنند. با این حال نقش مشخص NT-4 در فیزیولوژی درد نوروپاتی نامشخص است (۱۵). در همین راستا نشان داده شده است که تزریق مکرر آنتی‌بادی ویژه NT-4 در برگشت پردردی حرارتی که به وسیله لیگاتوربندی عصبی نخاعی ایجاد شده بود، ناتوان بوده است (۱۶). با این حال گزارش شده است که اضافه کردن NT-4 به اعصاب آسیب دیده موجب بهبود ظرفیت نوزایی آن‌ها شده و به هدایت عصبی کمک شایانی کرده است (۱۷). با وجود این ممکن است افزایش بیان این نوروتروفین در مطالعه حاضر، سازوکاری جهت مقابله با آسیب‌های عصبی ناشی از SNL بوده باشد. در ارتباط با سازوکارهای مولکولی، نشان داده شده که NT-4 این نوزایی عصبی را احتمالاً از طریق تنظیم بیان گلیکوپروتئین‌های وابسته به میلین (Myelin-associated glycoprotein)، پروتئین‌های پایه میلین و پروتئین‌های نوروفیلامنت با وزن مولکولی پایین، میانجی‌گری می‌کند (۱۸).

از سوی دیگر در مطالعه حاضر، لیگاتوربندی عصب نخاعی با آلودینیا و پردردی همراه بوده است. یکی از پیامدهای شایع درد نوروپاتی فعالیت بدنی کاهش یافته است (۱۹). کاهش فعالیت-بدنی خود می‌تواند خلل بسیاری در عملکردهای فیزیولوژیک سیستم‌های مختلف بدن از جمله سیستم عصبی بگذارد (۲۰). در مقابل فعالیت بدنی افزایش یافته به شکل تمرینات استقامتی و قدرتی تأثیرات سودمند بسیاری بر سیستم‌های مختلف بدن دارد (۷). هر چند تأثیر تمرینات ورزشی بر میزان بیان و پروتئین NT-4 در حالت درد نوروپاتی در دسترس نمی‌باشد (۲۱)، به هر حال در مطالعه حاضر کاهش فعالیت به شکل SNL به همراه درد نوروپاتی موجب بیان افزایش یافته NT-4 در اعصاب سیاتیک رت-های نر ویستار شده بود. اینگلیش (English) و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که افزایش فعالیت به شکل راه رفتن روی نوارگردان موجب افزایش میزان نوزایی عصبی می‌شود که این پدیده با تغییر بیان میزان NT-4 در عصب آسیب دیده همراه بوده است (۲۱). این نتایج نشان می‌دهند تغییرات NT-4 فرایند متأثری از فرایند حس درد و نوزایی عصبی می‌باشد. با این حال مطالعات بیشتری برای درک نقش NT-4 در درد نوروپاتی مورد نیاز است.

به طور کلی در پژوهش حاضر مشخص شد که کاهش فعالیت به شکل SNL می‌تواند با اثرات مخرب عصبی همچون پردردی حرارتی، آلودینیا مکانیکی و بیان ژن افزایش یافته NT-4 همراه باشد. در این جا به نظر می‌رسد فعالیت بدنی افزایش یافته به شکل تمرینات استقامتی و قدرتی بتواند از تخریب عصب و اختلالات وابسته به آن جلوگیری کند، با این حال، تائید این فرضیه نیازمند مطالعات گسترده‌ای در این رابطه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی است. نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از آزمایشگاه گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Treede RD, Jensen TS, Campbell J, Cruccu G, Dostoevsky J, Griffin J, et al. Neuropathic pain redefinition and a grading system for clinical and research purposes. Neurology. 2008; 70 (18):1630-5.
2. Smith BH, Torrance N, Bennett MI, Lee AJ. Health and quality of life associated with chronic pain of predominantly neuropathic origin in the community. The Clinical journal of pain. 2007;23 (2):143-9.
3. Sato K, Johanek L, Sanada L, Sluka K. Spinal cord stimulation reduces mechanical hyperalgesia and glial cell activation in animals with neuropathic pain. Anesthesia and analgesia. 2014;118 (2):464.

4. Ossipov MH, Porreca F. Challenges in the development of novel treatment strategies for neuropathic pain. NeuroRx. 2005;2 (4):650-61.
5. Sah DW, Ossipov MH, Rossomando A, Silvian L, Porreca F. New approaches for the treatment of pain: the GDNF family of neurotrophic growth factors. Current topics in medicinal chemistry. 2005;5 (6):577-83.
6. Dai RP, Zhou XF. Neurotrophins and Pain. Handbook of Neurotoxicity. 2014;4 (30)1805-23.
7. Voss MW, Prakash RS, Erickson KI, Basak C, Chaddock L, Kim JS, et al. Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. Frontiers in aging neuroscience. 2010;2 (32):1-17.
8. Guan Y, Yuan F, Carteret AF, Raja SN. A partial L5 spinal nerve ligation induces a limited prolongation of mechanical allodynia in rats: An efficient model for studying mechanisms of neuropathic pain. Neuroscience letters. 2010;471 (1):43-7.
9. Ho Kim S, Mo Chung J. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain. 1992;50 (3):355-63.
10. Sharma NK, Ryals JM, Gajewski BJ, Wright DE. Aerobic exercise alters analgesia and neurotrophin-3 synthesis in an animal model of chronic widespread pain. Physical therapy. 2010;90 (5):714-25.
11. Calcutt NA, Jorge MC, Yaksh TL, Chaplan SR. Tactile allodynia and formalin hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin, aldose reductase inhibition and lidocaine. Pain. 1996;68 (2):293-9.
12. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain. 1988;32 (1):77-88.
13. Henderson CE, Camu W, Mettling C, Gouin A, Poulsen K, Karihaloo M, et al. Neurotrophins promote motor neuron survival and are present in embryonic limb bud. Nature. 1993: 263 (2): 266-270
14. Belluardo N, Westerblad H, Mudó G, Casabona A, Bruton J, Caniglia G, et al. Neuromuscular junction disassembly and muscle fatigue in mice lacking neurotrophin-4. Molecular and Cellular Neuroscience. 2001;18 (1):56-67.
15. Siniscalco D, Giordano C, Rossi F, Maione S, de Novellis V. Role of neurotrophins in neuropathic pain. Current neuropharmacology. 2011;9 (4):523.
16. Yajima Y, Narita M, Narita M, Matsumoto N, Suzuki T. Involvement of a spinal brain-derived neurotrophic factor/full-length TrkB pathway in the development of nerve injury-induced thermal hyperalgesia in mice. Brain research. 2002;958 (2):338-46.
17. Thornton MR, Shawcross SG, Mantovani C, Kingham PJ, Birchall MA, Terenghi G. Neurotrophins 3 and 4 differentially regulate NCAM, L1 and N-cadherin expression during peripheral nerve regeneration. Biotechnology and applied biochemistry. 2008;49 (2):165-74.
18. Yin Q, Kemp G, Yu L-G, Wagstaff S, Frostick S. Expression of Schwann cell-specific proteins and low-molecular-weight neurofilament protein during regeneration of sciatic nerve treated with neurotrophin-4. Neuroscience. 2001;105 (3):779-83.
19. van den Berg-Emons RJ, Schasfoort FC, de Vos LA, Bussmann JB, Stam HJ. Impact of chronic pain on everyday physical activity. European Journal of Pain. 2007;11 (5):587-93.
20. Blair SN, Brodney S. Effects of physical inactivity and obesity on morbidity and mortality: current evidence and research issues. Medicine & Science in Sports & Exercise. 1999 (31):S646-62.
21. English AW, Cucoranu D, Mulligan A, Rodriguez JA, Sabatier MJ. Neurotrophin-4/5 is implicated in the enhancement of axon regeneration produced by treadmill training following peripheral nerve injury. European Journal of Neuroscience. 2011;33 (12):2265-71.
22. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla SJ, Khazani A, Fouladvand M, et al. Treadmill Training Modifies KIF5B Motor Protein in the STZ-induced Diabetic Rat Spinal Cord and Sciatic Nerve. Archives of Iranian medicine. 2015;18 (2): 94-101.
23. Liu S, Bréjot T, Cressant A, Bacci J, Saïd G, Tadié M, et al. Reinnervation of hind limb extremity after lumbar dorsal root ganglion injury. Experimental neurology. 2006; 196 (2): 401-412.

Original Article

NT-4 Gene Expression of Male Wistar Rat's Sciatic Nerve Fiber: The Effect of Decreased Activity on the Form of Spinal Nerve Ligation

Rahmati M[1*], Kazemi A[2], Bagherian Rafsanjani M[3], Taherabadi S.J[1], Madahi M[3]

1- Department of Physical Education, Faculty of Literature & Humanities, Lorestan University, Khoramabad, Iran.
2- Department of Physical Education, Faculty of Literature & Humanities, Vali-E-Asr University of Rafsanjan, Iran.
3- Department of Physical Education, Faculty of Literature & Humanities, Islamic Azad University, Kerman, Iran.

Received: 11 Apr 2015 Accepted: 11 Aug 2015

Abstract

Background & Objectives: Painful neuropathy is a state resulting from somatosensory disease or injury. Neurotrophins such as NT-4 are crucial for neural growth and development and protect the integrity of function and structure of nervous system. Paying heed to the importance of physical activity in neural plasticity, this study focuses on the investigation of chronic effect of decreased activity on the form of spinal nerve ligation on NT-4 gene expression of male Wistar rat's sciatic nerve fiber.

Materials & Methods: Ten adult male Wistar rats in the weight range of 250±30 gr were randomly divided into two groups, including one healthy control group (C) and one group with decreased physical activity (SNL). Over six weeks, neuropathic pain behavior tests were conducted continually in both groups. At the end of the sixth week, the changes in NT-4 gene expression in sciatic nerve were measured with Real time technique.

Results: The behavioral tests demonstrated that spinal nerve ligation induced thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in the SNL group. Decreased pain threshold was observed throughout the study period ($p<0.05$). Additionally, in comparison with the C group, NT-4 gene expression in sciatic nerve fiber was significantly higher in the SNL group ($p<0.05$).

Conclusion: In the present study, it was discovered that the decreased activity in the form of SNL is associated with increased NT-4 gene expression in the experimental group. With respect to the physiologic functions of NT-4 in nervous system, this elevation is probably a mechanism for neurogenesis in the injured area, and based on the previous studies, it seems that the increased activity could enhance the increased NT-4 gene expression and accelerate neurogenesis.

Keywords: **Neuropathic pain, Decreased physical activity, Neurotrophin, NT-4**

Corresponding author: Masoud Rahmati, Department of Physical Education, Faculty of Literature & Humanities, Lorestan University, Khoramabad, Iran.
Email: rahmati.mas@lu.ac.ir

Journal of Fasa University of Medical Sciences/ Autumn 2015/ Vol.5/ No.3/ P. 405-412