

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۱۸، اسفند ۱۳۹۸، ۱۱۵۴-۱۱۴۳

تأثیر تمرین شنا بر جمعیت سلول‌های گانگلیونی و پروتئین بتاتوبولین III در گانگلیون ریشه خلفی موش‌های صحرايي: یک مطالعه تجربی

زهرا مردانی‌پور^۱، محمد فتحی^۲، وحید ولی‌پور دهنو^۳، زینب گرگین کرچی^۴

دریافت مقاله: ۹۸/۲/۲۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۸/۴/۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۸/۹/۱۷ پذیرش مقاله: ۹۸/۹/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: پروتئین بتاتوبولین در فرآیندهای مرتبط با شکل‌پذیری و نورون‌زایی در نورون‌های بالغ نقش کلیدی دارد. از طرفی تمرین استقامتی بر حیات و بقاء نورون مؤثر است. هدف از اجرای این پژوهش تعیین اثر ۲۰ روز فعالیت استقامتی شنا بر پروتئین بتاتوبولین و تعداد سلول‌های گانگلیونی در ریشه خلفی نخاع در موش‌های صحرايي نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۱۶ سر موش صحرايي ۶ هفته‌ای نر ویستار (سالِم) با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم، به طور تصادفی به گروه‌های کنترل و فعالیت ورزشی تقسیم شدند. در گروه فعالیت ورزشی، ۲۰ روز فعالیت شنا انجام شد. در گروه کنترل هیچ فعالیتی ورزشی انجام نشد. در ادامه با استفاده از روش ایمنوهیستو فلورسنت میزان پروتئین بتاتوبولین و با کمک روش رنگ‌آمیزی کریزیل ویوله تعداد سلول‌های گانگلیونی در ریشه خلفی نخاع ارزیابی شد و در پایان با استفاده از آزمون t مستقل اطلاعات آنالیز شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد فعالیت شنا موجب افزایش معنی‌دار پروتئین بتاتوبولین ($p=0/0001$) در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل می‌شود. همچنین افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های گانگلیونی در ریشه خلفی نخاع در گروه ورزشی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p=0/0001$).

نتیجه‌گیری: فعالیت استقامتی شنا ممکن است با افزایش نورون‌زایی بر نورون‌های گانگلیونی ریشه خلفی نخاع اثر محافظتی و ترمیمی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: بتاتوبولین، گانگلیون، ریشه خلفی نخاع، شنا، موش صحرايي

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشکده علوم انسانی دانشگاه لرستان

۲- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشکده علوم انسانی دانشگاه لرستان

تلفن: ۰۶۶-۳۳۱۲۰۰۰۲، دورنگار: ۰۶۶-۳۳۱۲۰۰۰۳، پست الکترونیکی: fathi.mQlu.ac.ir

۳- استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشکده علوم انسانی دانشگاه لرستان

۴- دانشجوی دوره دکترای فیزیولوژی ورزش گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشکده علوم انسانی دانشگاه لرستان

مقدمه

میکروتوبول‌ها از اجزای آلی اسکلت سلولی هستند که از زیر واحدهای پروتئینی آلفاتوبولین (α -tubulin) و بتاتوبولین (β -tubulin) تشکیل شده‌اند [۱] و برای بسیاری از اعمال سلولی نظیر رشد سلول و حرکات مختلف سلولی، انتقال وزیکول‌ها و ذرات پروتئینی در داخل سلول، انتقال آکسونی، حفظ هموستازی سلولی و پاسخ به استرس سلولی ضروری‌اند [۲]. مطالعات نشان داده‌اند که هرگونه دگرگونی میکروتوبول‌ها که از توبولین (tubulin) منشأ می‌گیرد، از جمله تغییر در ایزومر و یا پلیمریزاسیون، بر حساسیت عوامل متصل به توبولین تأثیر می‌گذارد [۳]. میکروتوبول‌ها چندین نقش در نورون‌ها دارند و برای طویل شدن نورون‌ها در هنگام رشد و توسعه ضروری هستند که به صورت داربست‌هایی برای نگهداری نورون‌ها پس از طویل شدن هستند و به حفظ یکپارچگی بخش‌های داخل سلولی کمک می‌کنند [۴-۵]. یکی از عناصر میکروتوبول بتاتوبولین III (β -tubulin) است و در میکروتوبول‌های بالغ در فرآیند پلاستیسیته نورونی شرکت داشته و شاخص خوبی از وجود و عملکرد میکروتوبول‌ها است [۶]، مشخص شده که آکسونومی بیان ژن توبولین III در نورون‌ها گانگلیون ریشه خلفی (DRG؛ Dorsal root ganglion) را کاهش می‌دهد. DRG به مجموعه‌ای از نورون‌ها گفته می‌شود که در ریشه پشتی اعصاب نخاعی بوده و اولین ایستگاه دریافت پیام حسی ارگان‌ها هستند [۷]. گانگلیون‌ها به توده‌ای از یاخته‌های عصبی اطلاق می‌شود. در گانگلیون خلفی نخاع، جایگاه جسم سلولی نورون‌های حسی قرار دارد که سلول

های گانگلیونی به عنوان محافظ این سلول‌ها در کنار نورون‌ها، نقش تنظیم‌کننده‌گی را به عهده دارند [۸]. بیان برخی پروتئین‌ها نظیر بتاتوبولین III و حتی تعداد سلول‌ها در DRG در برخی شرایط پاتولوژیک و فیزیولوژیک از جمله فعالیت بدنی دچار تغییر می‌شوند [۳]، مشخص شده فعالیت هوازی تأثیر مثبتی بر حیات و بقاء نورونی دارد به طوری که مقدار بتاتوبولین III محیط کشت DRG را افزایش می‌دهد [۹]. بنابراین به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی بقاء سلول‌های عصبی را بهبود می‌بخشد [۱۰]. در پژوهشی در موش‌های مدل آلزایمر، مشخص شد که مرگ سلول‌های عصبی وابسته به بتا آمیلوئید ($\text{A}\beta$ Amyloid) در هیپوکامپ موش آلزایمری به طور قابل ملاحظه‌ای پس از تمرین استقامتی (دویدن روی تردمیل) سرکوب شد [۱۰]. هم‌چنین Song و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند ۶ هفته فعالیت بدنی موجب کاهش اختلالات حرکتی ناشی از التهاب مغز با سرکوب مرگ سلول‌های عصبی آپوپتوز در قشر مغزی می‌شود [۱۱].

از آنجایی که فعالیت هوازی تأثیر مثبتی بر حیات سلول‌های عصبی دارد [۱۰] و از طرف دیگر پژوهشی که در آن تأثیر این عامل بر حیات و جمعیت سلول‌های گانگلیونی ریشه خلفی نخاع و مارکر تمایزی آن یعنی پروتئین بتاتوبولین سنجیده باشد یافت نشد، لذا، بررسی تأثیر ورزش بر عوامل مؤثر بر رشد سلول عصبی جهت ارائه ورزش به عنوان یک راهکار مناسب ضروری به نظر می‌رسد، بنابراین هدف مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرین شنا بر پروتئین

بتاتوبولین III و جمعیت سلول‌های گانگلیونی ریشه خلفی نخاع در موش‌های صحرایی نر ویستار است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود که بر روی موش‌های صحرایی سالم انجام شد. این پژوهش در سال ۱۳۹۷ با کد ۱۳۹۷۱۱۲۱۱۲۲ توسط کمیته اخلاق دانشگاه لرستان تأیید شده است. در این پژوهش اثر یک برنامه فعالیت استقامتی (۲۰ روز) بر تعداد سلول‌های گانگلیونی و پروتئین بتاتوبولین III در گانگلیون ریشه خلفی موش‌های نر ویستار ارزیابی شد.

ابتدا ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با ۶ هفته سن و وزن ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم از موسسه پاستور خریداری و در آزمایشگاه حیوانات در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۲۲-۲۴٪ و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و دسترسی آزاد به مواد غذایی مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب نگهداری شدند. حیوانات پس از دوره آشناسازی (دو روز تمرین شنا به مدت ۲ دقیقه) به دو گروه کنترل (۸ سر) و فعالیت ورزشی (۸ سر) تقسیم شدند. گروه فعالیت ورزشی به مدت ۲۰ روز یک دوره فعالیت بدنی شنا را به پایان رساندند. برنامه تمرینی به دو فاز ۴ روزه (تطبیقی) و ۱۶ روزه (اصلی) تقسیم شد. در دوره‌ی تطبیقی (با هدف آماده سازی و آشناسازی)، در روز اول، دو دوره‌ی ۳۰ ثانیه‌ای شنا با فاصله زمانی دو ساعته بین دوره‌های شنا؛ در روز دوم، دو دوره‌ی ۲ دقیقه‌ای شنا و یک فاصله دو ساعته؛ روز سوم، سه دوره‌ی ۱۰ دقیقه‌ای شنا با فاصله ۵ دقیقه؛ و روز چهارم، دو دوره‌ی ۱۵ دقیقه‌ای شنا با فاصله زمانی ۵ دقیقه اجرا شد.

پس از دوره تطبیقی، موش‌ها گروه فعالیت ورزشی وارد فاز اصلی تمرین شدند و روزانه به مدت ۳۰ دقیقه در گروه‌های جداگانه در استخر قرار گرفته و تا آخرین روز دوره تمرینی ملزم به انجام شنا می‌شدند [۱۲]. در گروه کنترل هیچ‌گونه فعالیت بدنی انجام نشد و هیچ مداخله‌ای بر آن‌ها صورت نگرفت.

۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین، با تزریق داخل صفاقی ماده بیهوشی، ترکیبی از کتامین (۹۰ میلی-گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی-گرم/کیلوگرم) موش‌ها بیهوش شدند و DRG مناطق اندام تحتانی آن‌ها تحت شرایط استریل از طریق شکاف بر پوست ناحیه ستون فقرات موش صحرایی (بین T10 و L3) جدا شد. پس از جداسازی نمونه‌های بافتی بلافاصله در فرمالین ۱۰ درصد (جهت فیکس شدن) به منظور مطالعه هیستولوژیکی قرار داده شدند. رنگ‌آمیزی ایمنوهیستو فلورسنت برای بررسی بیان پروتئین بتاتوبولین III انجام گرفت. بافت‌های DRG از موش صحرایی خارج شد و به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد به صورت اولیه فیکس شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها در درصد‌های مختلف الکل آگیری و توسط زایلین شست و شو داده شدند. پس از قالب‌گیری نمونه‌ها توسط پارافین، از تمام قالب‌ها به وسیله میکروتوم دوار، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون گرفته شد [۱۳]. لام‌ها پس از آب‌گیری در فرمامید ۵۰ درصد و بافر سدیم سترات X2 در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت انکوبه و سپس در بافر سدیم بورات $\mu\text{m} 100$ (PH = ۸/۵) دو بار شست و شو داده شدند. به منظور دنا توره کردن DNA، نمونه‌ها با HCL ۲ نرمال در

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس با محلول سدیم بافر فسفات (Phosphate Buffered Saline; PBS) شست و شو داده شدند. نمونه‌ها با تریتون x - ۱۰۰ (۰/۴ درصد) و سرم بز (۱۰ درصد) در PBS به مدت ۳۰ دقیقه بلوکه شدند [۱۳]. در نهایت نمونه‌ها با آنتی‌بادی اولیه بتاتوبولین III (مارکر آنتی‌بادی بتاتوبولین III (SC-5274, Abcam, secondary (mouse): ab6785 1:100, Cambridge, United Kingdom)) به مدت ۱ شب در دمای ۴ درجه انکوبه شدند. سپس لام‌ها با آنتی‌بادی ثانویه متصل به فلورسنت FITC، به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. در نهایت، برای رنگ‌آمیزی هسته‌ها، لام‌ها با ۴-۶ دی‌آمی‌دینو-۲-فنیل ایندول (DAPI) به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شدند. لام‌ها بعد از لامل‌گذاری، توسط میکروسکوپ فلورسنت (Labomed, USA) و دوربین عکس-برداری (Delta Pix) مورد بررسی قرار گرفتند. با استفاده از نتایج حاصل از نرم‌افزار Image J نسخه ۱٫۵، درصد سلول‌های مثبت به جمعیت کل سلول‌های تصویربرداری شده، گزارش شد [۱۳]. برای کنترل نتیجه ایمونو هیستوشیمی از کنترل منفی استفاده شده است. به این ترتیب که تمام مراحل ایمونو هیستوشیمی انجام شد، اما آنتی‌بادی اولیه گذاشته نشد و فقط از آنتی‌بادی ثانویه استفاده شد. همچنین برای شمارش تعداد نوروها، بعد از ثبوت بافتی، نمونه‌ها در پارافین (Merk, Germany) قالب‌گیری شده و سپس با استفاده از میکروتوم دوار (LickaT USA) برش-هایی با ضخامت ۵ میکرون گرفته شد. پس از آن برش‌های بافتی روی لام قرار گرفتند [۱۳]. بعد از آب‌گیری، لام‌ها با

کریستال ویوله ۱ درصد رنگ‌آمیزی شده و در نهایت با چسب آنتلان لامل‌گذاری شدند. نمونه‌ها با بزرگ‌نمایی ۱۰۰X توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از عکس‌برداری، سلول‌های نورونی و گانگلیونیک به وسیله نرم‌افزار Image J نسخه ۱٫۸، مورد شمارش قرار گرفته و هر مقطع در واحد سطح به ازای ۳۰۰۰۰ میکرومتر مربع گزارش شد [۱۳].

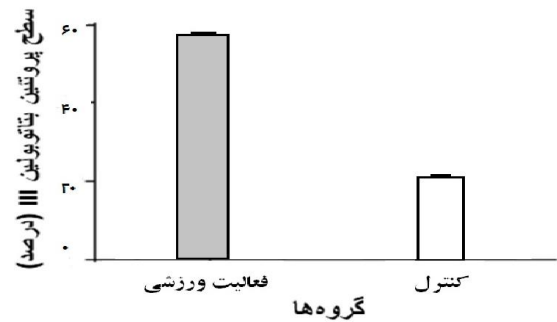
آزمون آماری: ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و با استفاده از آزمون Shapiro-Wilks ارزیابی شد. در پایان برای بررسی اثر متغیر مستقل بر متغیر وابسته از آزمون t مستقل استفاده شد. عملیات آماری تحقیق از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و نرم‌افزار Graphpad Prism نسخه ۸ استفاده شد. سطح معنی‌داری $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

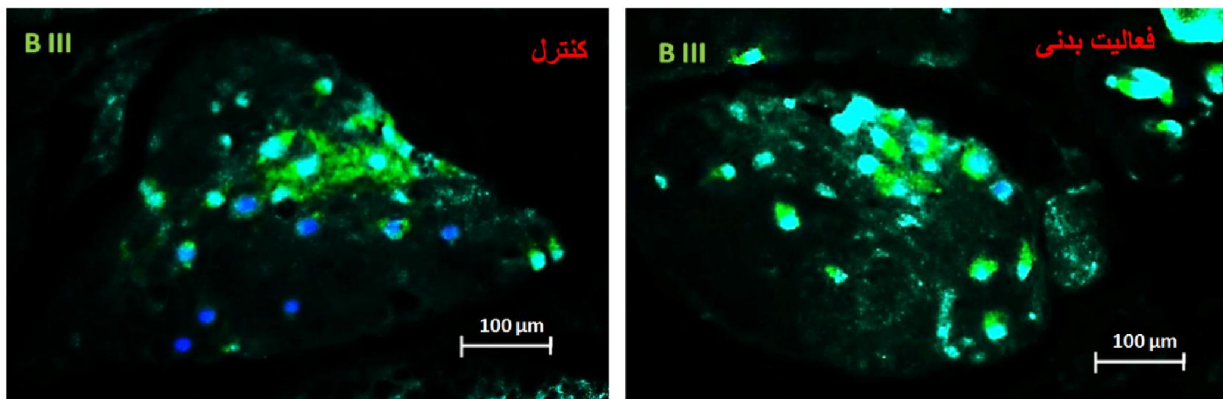
نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی ایمونو هیستو فلورسنت پروتئین بتاتوبولین III نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری از نظر میزان تظاهر پروتئین بتاتوبولین III در ناحیه DRG بین گروه فعالیت ورزشی و کنترل وجود دارد ($p = 0/0001$) (شکل ۱ و ۲).

بناتوبولین III در DRG موش صحرائی پس از ۲۰ روز فعالیت ورزشی افزایش یافت. ** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p=0/0001$) ($n=7$)، آزمون t مستقل.

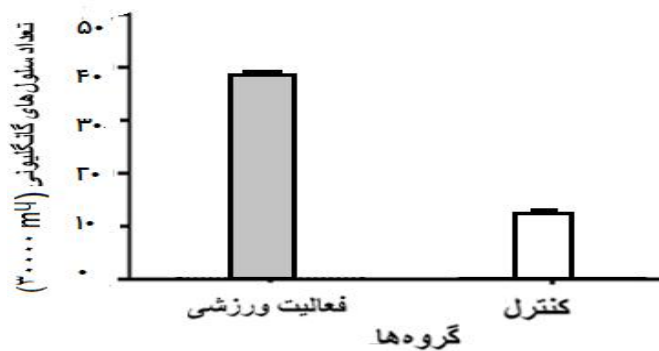
هم‌چنین نتایج رنگ‌آمیزی کریزیل ویوله برای ارزیابی جمعیت سلول‌های گانگلیون نشان داد که تعداد این سلول‌ها در DRG پس از ۲۰ روز فعالیت استقامتی شنا در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ($p=0/0001$) (شکل ۳ و ۴).



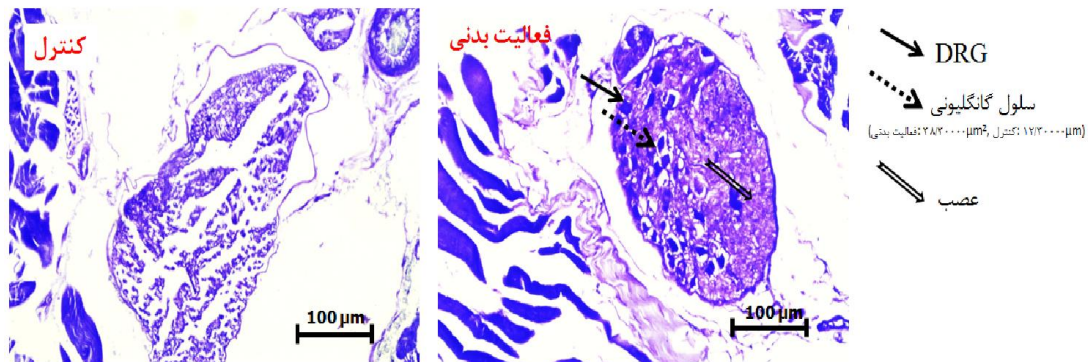
شکل ۱- نتایج آزمون t مستقل جهت تعیین تفاوت اندازه‌گیری‌های ایمنوهیستو فلورسنت درصد سلول‌های مثبت بیان کننده پروتئین



شکل ۲- فتومیکروگراف‌های رنگ آمیزی ایمنوهیستوشمی بناتوبولین III در DRG موش‌های صحرائی گروه کنترل و گروه فعالیت ورزشی. افزایش تراکم پلاک‌های سبز رنگ بناتوبولین III، نمایان‌گر واکنش مثبت به فعالیت ورزشی است.



شکل ۳- نتایج آزمون t مستقل جهت تعیین تفاوت جمعیت سلول‌های گانگلیونی در DRG موش‌های صحرائی پس از ۲۰ روز فعالیت ورزشی. فعالیت ورزشی موجب افزایش معنی‌دار در تعداد سلول‌های گانگلیونی در DRG موش صحرائی می‌شود. ** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p=0/0001$)، $n=8$ ، آزمون آماری t مستقل.



شکل ۴- فتوگراف‌های رنگ آمیزی کریزیل ویوله سلول‌های گانگلیونی. فعالیت ورزشی موجب افزایش در تعداد سلول‌های گانگلیونی در DRG موش صحرایی می‌شود.

بحث

سیگنالینگ درون سلولی است که اثرات گسترده‌ای بر بسیاری از فرآیندهای سلولی دارد. کلسیم بر شروع رونویسی تأثیر مهمی دارد که عمدتاً از طریق فعال‌سازی عوامل ژنی - رونویسی به وسیله آبخارهای سیگنالینگ ناشی از کلسیم است. در حقیقت کلسیم می‌تواند تمام مراحل رونویسی را تنظیم کند [۱۷]. در اثر فعالیت ورزشی کانال‌های کلسیم درون سلولی باز می‌شوند و غلظت سیتوزولی کلسیم به مقدار زیادی افزایش می‌یابد و در نتیجه احتمالاً بیان ژن برخی از پروتئین‌ها تغییر می‌یابد [۱۷].

یکی دیگر از نتایج مطالعه حاضر این بود که فعالیت ورزشی جمعیت سلول‌های گانگلیونی را افزایش می‌دهد. در چندین مطالعه مشخص شد که فاکتور نروتروفیکی مشتق از مغز (Brain-derived neurotrophic factor BDNF) نقش مهمی در بقاء و توسعه سلول‌های گانگلیون دارد [۱۸-۱۹] و آسیب عصبی (به صورت قطع عصب) موجب اختلال در جمعیت این سلول‌ها می‌شود [۸]. در مواردی نیز مشاهده

یکی از مهم‌ترین یافته‌های این پژوهش این بود که میزان پروتئین بتاتوبولین به طور معنی‌داری در گروه فعالیت ورزشی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. تغییر در سنتز بتاتوبولین نوروها در بیماری‌ها و شرایط مختلفی مشاهده شده است [۳]. هم‌راستا با یافته‌های این پژوهش، Ding و همکاران (۲۰۰۶) افزایش معنی‌داری را در میزان بتاتوبولین هیپوکمپ پس از تمرین اختیاری دویدن روی چرخ دوار در موش‌های صحرایی نر بالغ مشاهده کردند [۱۵]. هم‌چنین نتایج مطالعه Allen و همکارش (۲۰۱۳) نشان دادند که ۴۸ ساعت دویدن اختیاری بر روی چرخ کارسنج، موجب افزایش پروتئین مرتبط با پلاستیسیته بتاتوبولین III در مغز موش‌ها می‌شود. احتمالاً افزایش سطوح پروتئین بتاتوبولین در پاسخ به ورزش هوازی را می‌توان به افزایش مسیرهای سیگنالینگ ناشی از کلسیم مرتبط دانست که منجر به تغییر در بیان برخی ژن‌ها می‌شود [۱۶]. یون کلسیم یک مولکول

تحقیق ذکر شده Liao و همکاران اثر شنا بر نوسازی عصب و بیان پپتید وابسته به ژن کلسی-تونین (Calcitonin gene-related peptide; CGRP) مورد ارزیابی قرار دادند، در این تحقیق موش‌ها بر اساس مدت شنا، به چهار گروه طبقه‌بندی شده و گروه‌های تمرینی ۲۱ روز شنا کردند (۱۰ دقیقه / ۳ بار در هفته، ۲۰ دقیقه / ۳ بار در هفته و ۳۰ دقیقه / ۳ بار در هفته). در این تحقیق نوسازی عصب و افزایش بیان CGRP در تمام گروه‌های تحقیقی گزارش شد [۲۲]. در تحقیق حاضر نیز موش‌های صحرایی، ۲۰ روز و روزانه به مدت ۳۰ دقیقه شنا کردند که نسبت به هر سه گروه تمرینی در تحقیق یاد شده، حجم تمرینی بالاتری داشت، با توجه به این‌که Liao و همکاران حتی در حجم‌های پایین نیز نوسازی عصبی را مشاهده کردند، می‌توان گفت تمرین می‌تواند به سرعت بر نوسازی عصبی موثر باشد.

احتمالا فعالیت ورزشی با افزایش نوسازی عصبی تأثیر مطلوبی بر جمعیت سلول‌های گانگلیون دارد اگرچه تعیین مکانیزمی که موجب می‌شود تعداد این سلول‌ها در اثر فعالیت ورزش افزایش یابد نیاز به پژوهش‌های بیش‌تری دارد. همچنین به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی شنا با افزایش پروتئین بتاتوبولین III موجب افزایش نورون‌زایی در سلول‌های گانگلیون شده و جمعیت آنان را افزایش می‌دهد و با افزایش نورون‌زایی می‌تواند در شرایط پاتولوژیکی تأثیر مثبتی بر حیات و جمعیت سلول‌های عصبی در DRG داشته باشد. با توجه به این‌که این تحقیق در گروه‌های سالم انجام شده و با توجه به نتایج حاصل از تحقیق، پیشنهاد می‌شود

شده که فعالیت ورزشی نوسازی آکسونی را در نورون‌های حسی پس از آسیب عصبی افزایش می‌دهد [۹]. همچنین انجام فعالیت استقامتی در موش‌های صحرایی که دچار آسیب نخاعی شده بودند بیان ژن‌های BDNF و فاکتور نروتروفیک مشتق از سلول گلیال (Glial cell line-derived neurotrophic factor; GDNF) و نروتروفین-۴ (Neurotrophin4; NT-4) در DRG را افزایش داد. در این مطالعه آسیب نخاعی پس از بیهوش کردن موش صحرایی و قطع طناب نخاعی در T10 ایجاد شد، سپس گروه تمرین از روز پنجم جراحی، ۵ روز در هفته، به مدت ۳۰ دقیقه و برای ۴ هفته تمرین مقاومتی انجام دادند. این تحقیق نشان داد که بیان mRNA کاسپاز توسط آسیب افزایش و توسط ورزش کاهش می‌یابد. این تحقیق چنین نتیجه‌گیری کرد که ورزش بر بیان ژن‌های در آپوپتوز در سلول موثر است و این تغییر با افزایش فواصل بعد از جراحی و یا دوره‌های طولانی مدت ورزش مرتبط است [۲۰]. به‌علاوه در مطالعات متعددی گزارش شده‌است که تمرینات شنا قادر به افزایش نوسازی عصبی در عصب سیاتیک حیوانات آکسونوتومی شده بود [۲۱-۲۲]. افزایش نوسازی عصب متعاقب تمرین شنا در تحقیق حاضر نیز دیده شد. در همین راستا در یک تحقیق موش‌ها بلافاصله پس از آسیب عصب سیاتیک موش‌ها وارد فاز ورزش شدند، تمرین شنا به مدت ۵۰ روز انجام شد و مدت تمرین به تدریج از ۱۰ دقیقه در روز به ۶۰ دقیقه در روز افزایش یافت. در این تحقیق تمرین باعث تسریع احیای عصب پس از آسیب عصبی شد [۲۱]. در تحقیقی مشابه با

دادن نورون‌زایی می‌تواند در شرایط پاتولوژیکی تأثیر مثبتی بر حیات و جمعیت سلول‌های عصبی در DRG داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه نتیجه پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه لرستان بود. از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان به خاطر تامین منابع مالی این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود.

که مشابه تحقیق حاضر بر گروه‌هایی دارای شرایط پاتولوژیک انجام شود، هم‌چنین مطالعه مدل‌های مختلف تمرینی نیز می‌تواند مفید باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی شنا با افزایش پروتئین بتاتوبولین III موجب افزایش نورون‌زایی در سلول‌های گانگلیون شده و جمعیت آنان را افزایش می‌دهد و فعالیت شنا با افزایش

References

- [1] Kellogg EH, Hejab NMA, Howes S, Northcote P, Miller JH, Diaz JF, et al. Insights into the Distinct Mechanisms of Action of Taxane and Non-Taxane Microtubule Stabilizers from Cryo-EM Structures. *J Mol Biol* 2017; 429(5): 633-46.
- [2] Brouhard GJ, Rice LM. Microtubule dynamics: an interplay of biochemistry and mechanics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19(7): 451-63.
- [3] English DP, Roque DM, Santin AD. Class III b-tubulin overexpression in gynecologic tumors: implications for the choice of microtubule targeted agents? *expert rev anticanc* 2013; 13(1): 63-74.
- [4] Liu Y, Wang C, Destin G, Szaro BG. Microtubule-associated protein tau promotes neuronal class II beta-tubulin microtubule formation and axon elongation in embryonic *Xenopus laevis*. *Eur J Neurosci* 2015; 41(10): 1263-75.

- [5] Conde C, Caceres A. Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10(5): 319-32.
- [6] Guo J, Qiang M, Luduena RF. The distribution of beta-tubulin isotypes in cultured neurons from embryonic, newborn, and adult mouse brains. *Brain Res* 2011; 1420(54): 8-18.
- [7] Haberberger RV, Barry C, Dominguez N, Matusica D. Human Dorsal Root Ganglia. *Front Cell Neurosci* 2019; 13(199): 1-17.
- [8] Shi TJ, Tandrup T, Bergman E, Xu ZQ, Ulfhake B, Hokfelt T. Effect of peripheral nerve injury on dorsal root ganglion neurons in the C57 BL/6J mouse: marked changes both in cell numbers and neuropeptide expression. *Neuroscience* 2001; 105(1): 249-63.
- [9] Molteni R, Zheng JQ, Ying Z, Gomez-Pinilla F, Twiss JL. Voluntary exercise increases axonal regeneration from sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(22): 8473-8.
- [10] Um HS, Kang EB, Koo JH, Kim HT, Jin L, Kim EJ, et al. Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2011; 69(2): 161-73.
- [11] Song SH, Jee YS, Ko IG, Lee SW, Sim YJ, Kim DY, et al. Treadmill exercise and wheel exercise improve motor function by suppressing apoptotic neuronal cell death in brain inflammation rats. *J Exerc Rehabil* 2018; 14(6): 911-9.
- [12] Cardoso GH, Petry DM, Probst JJ, de Souza LF, Ganguilhet G, Bobinski F, et al. High-Intensity Exercise Prevents Disturbances in Lung Inflammatory Cytokines and

- Antioxidant Defenses Induced by Lipopolysaccharide. *Inflammation* 2018; 41(6): 2060-7.
- [13] Abbasi Y, Shabani R, Mousavizadeh K, Soleimani M, Mehdizadeh M. Neuroprotective effect of ethanol and Modafinil on focal cerebral ischemia in rats. *Metab Brain Dis* 2019; 34(3): 805-19.
- [14] Karim S, Hession C, Marconi S, Gang DL, Otis CN. The identification of ganglion cells in Hirschsprung disease by the immunohistochemical detection of ret oncoprotein. *Am J Clin Pathol* 2006; 126(1): 49-54.
- [15] Ding Q, Vaynman S, Souda P, Whitelegge JP, Gomez-Pinilla F. Exercise affects energy metabolism and neural plasticity-related proteins in the hippocampus as revealed by proteomic analysis. *Eur J Neurosci* 2006; 24(5): 1265-76.
- [16] Allen A, Messier C. Plastic changes in the astrocyte GLUT1 glucose transporter and beta-tubulin microtubule protein following voluntary exercise in mice. *Behav Brain Res* 2013; 2 (40): 95-102.
- [17] Vilborg A, Passarelli MC, Steitz JA. Calcium signaling and transcription: elongation, DoGs, and eRNAs. *Receptors Clin Investig* 2016; 3(1): 1-17.
- [18] Ernsberger U. Role of neurotrophin signalling in the differentiation of neurons from dorsal root ganglia and sympathetic ganglia. *Cell Tissue Res* 2009; 336(3): 349-84.
- [19] Hoshi O, Sugizaki A, Cho Y, Takei N. BDNF Reduces eEF2 Phosphorylation and Enhances Novel Protein Synthesis in the Growth Cones of Dorsal Root Ganglia Neurons. *Neurochem Res* 2018; 43(6): 1242-9.

- [20] Keeler BE, Liu G, Siegfried RN, Zhukareva V, Murray M, Houle JD. Acute and prolonged hindlimb exercise elicits different gene expression in motoneurons than sensory neurons after spinal cord injury. *Brain Res* 2012; 1438(12): 8-21.
- [21] Teodori RM, Betini J, de Oliveira LS, Sobral LL, Takeda SY, de Lima Montebelo MI. Swimming exercise in the acute or late phase after sciatic nerve crush accelerates nerve regeneration. *Neural Plast* 2011; 783901: 1-8.
- [22] Liao CF, Yang TY, Chen YH, Yao CH, Way TD, Chen YS. Effects of swimming exercise on nerve regeneration in a rat sciatic nerve transection model. *BioMedicine* 2017; 7(1): 16-24.

The Effect of Swimming Training on Ganglionic Cells Population and Class III Beta-Tubulin Protein in Dorsal Root Ganglion of Wistar Male Rats: An Experimental Study

Z. Mardani Pour¹, M. Fathi², V. Valipour Dehnou³, Z. Gorgin Keraji⁴

Received: 12/06/2019 Sent for Revision: 22/06/2019 Received Revised Manuscript: 08/12/2019 Accepted: 17/12/2019

Background and Objectives: β -tubulin protein is the protein that has a key role in plasticity and neurogenesis in the mature neurons. On the other hand, endurance training is effective in neuron life and lifespan. The present study aimed to investigate the effect of 20 days swimming training on class III β -tubulin and the number of ganglion cells in DRG of Wistar male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 16 male Wistar rats (healthy) weighing 200-250 gr were randomly divided into control and exercise training groups. The exercise training group performed a swimming training program for 20 days, the control group did not participate in any activity. In the following, the ganglionic cells population and β -tubulin protein level in the posterior root of the spinal cord was measured by Cresyl violet staining method and immunofluorescence, respectively. Finally, data were analyzed using the independent t-test.

Results: The results showed that swimming activity significantly ($p=0.0001$) increased beta-tubulin protein in the experimental group. Also the a significant increase in the ganglion cells population was observed in the spinal cord posterior root of the experimental group compared to the control group ($p=0.0001$).

Conclusion: Swimming endurance activity may have a protective and restorative effect by increasing neurogenesis on dorsal root ganglion neurons.

Key word: Beta-tubulin, Ganglion, Spinal dorsal root, Swimming, Wistar male rats

Funding: This research was funded by Lorestan University.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Lorestan University approved the study (13971121122).

How to cite this article: Mardani Pour Z Fathi M, Valipour Dehnou V, Gorgin Keraji Z. The Effect of Swimming Training on Ganglionic Cells Population and Class III Beta-Tubulin Protein in Dorsal Root Ganglion of Wistar Male Rats: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2020; 18 (12): 1143-54. [Farsi]

1- MSc Student of Sport Physiology, Dept. of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: 0000-0002-6993-9783

2- Associate Prof., Dept. of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: 0000-0002-2113-365X

(Corresponding Author) Tel: (066) 33120002, Fax: (066) 33120003, E-mail: fathi.m@lu.ac.ir

3- Assistant Prof., Dept. of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: 0000-0001-7049-8164

4- PhD Student of Sport Physiology, Dept. of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: 0000-0003-3189-4011