

تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن $BDNF$ ، $PGC-1\alpha$ و اختلالات یادگیری در هیپوکمپ رت‌های سالمند

زینب رضایی^۱، سیدمحمد مرندی^۲، حجت‌اله علایی^۳، فهیمه اسفرجانی^۴

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان
۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان (نویسنده مسئول)
۳. استاد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۰۴

چکیده

سالمندی، دوره‌ای است که علاوه بر مشکلات جسمی با اختلالات رفتاری، شناختی و حرکتی همراه است و تمرین استقامتی می‌تواند این اختلالات را به وسیله افزایش بیان برخی فاکتورها بهبود بخشد. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی تأثیر ۱۲ هفته دویدن استقامتی روی نوارگردان (هفته‌ای پنج روز با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه) بر بیان ژن $BDNF$ ، $PGC-1\alpha$ ، یادگیری و حافظه در هیپوکمپ رت‌های سالمند بود. رت‌ها به صورت تصادفی به سه گروه سالمند، سالمند-تمرین و جوان تقسیم شدند. پس از پایان برنامه تمرینی، هیپوکمپ جدا شد و برای تخلیص RNA ، در فریزر $-80^{\circ}C$ نگهداری شد. بیان ژن از طریق آنوای یک‌طرفه و آزمون میز آبی موریس با استفاده از آنوای یک‌طرفه با اندازه‌های تکراری تحلیل شد. یافته‌ها نشان داد که یادگیری و حافظه فضایی در گروه سالمند نسبت به گروه جوان کاهش یافتند و تمرین این نقص را بهبود بخشید. همچنین، تمرین سبب شد که بیان $BDNF$ و $PGC-1\alpha$ در گروه سالمند افزایش یابد؛ به نحوی که بین گروه سالمند-تمرین و جوان در بیان این دو فاکتور تفاوت معنادار وجود نداشت ($P < 0.05$)؛ بنابراین، با توجه به نقش $BDNF$ و $PGC-1\alpha$ در محافظت از نورون‌ها، به نظر می‌رسد که فعالیت استقامتی بر اختلالات ناشی از سالمندی تأثیری پیشگیرانه داشته باشد.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، شناخت، سالمندی، $BDNF$.

1. Email: z.rezaee2009@yahoo.com
2. Email: smmarandi2001@yahoo.com
3. Email: alaei@med.mui.ac.ir
4. Email: f.esfarjani@yahoo.com

مقدمه

در طی سالمندی، کاهش فزاینده عملکردهای نورولوژیک مانند آسیب در یادگیری و حافظه، به دلایل مختلف شامل آسیب سلولی/ مولکولی ناشی از نقص در سیگنال‌های نوروتروفیک و ناکارآمدی سیناپسی اتفاق می‌افتد. هدف نهایی مطالعات در این زمینه، تشخیص روش‌های درمانی جدید و توسعه راهبردهای مراقبتی برای حفظ ساختار مغز طی تغییرات ناشی از سالمندی است (۱). در دهه اخیر، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تمرین می‌تواند ظرفیت حفظ نورونی را از طریق جلوگیری از کاهش نورون‌های سیستم عصبی مرکزی و همچنین، امکان بازسازی نورونی را از طریق پیشرفت نوروترانسمیترهای آن‌ها افزایش دهد؛ به این ترتیب، نقش بالقوه فعالیت بدنی به‌ویژه در تعدیل علائم پیش‌رونده بیماری‌هایی با منشأ نورونی در حیوانات و انسان‌ها مشخص می‌شود (۲). کاهش فعالیت و تعداد میتوکندری‌ها در سالمندی، از مهم‌ترین دلایل ایجاد بیماری‌هایی با منشأ تخریب نورونی، سرطان و دیابت است. در میان نظریه‌های مربوط به آسیب‌شناسی دوره سالمندی، نظریه نقص میتوکندریایی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، به‌عنوان یک مکانیسم مهم مربوط به سالمندی شناخته شده است (۳). $PGC-1\alpha^1$ یکی از فاکتورهای مهمی است که بیان آن در سنین سالمندی کاهش می‌یابد. از طرفی، $PGC-1\alpha$ به دنبال فعالیت استقامتی تحریک می‌شود و با تأثیر بر بیان آنزیم‌های پاک‌کننده ROS، سبب حفاظت از سلول‌های نورونی در برابر استرس اکسیداتیو و کاهش مرگ سلولی می‌شود؛ بنابراین، $PGC-1\alpha$ به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در حفاظت میتوکندریایی شناخته شده است؛ با این حال، به تازگی پژوهش‌هایی نشان داده‌اند که افزایش بیش از حد بیان $PGC-1\alpha$ ، سبب آسیب فعالیت میتوکندریایی و افزایش تولید ROS می‌شود (۴). فاکتور مهم دیگری که تحت تأثیر فرایندهای فیزیولوژیک سالمندی قرار می‌گیرد و کاهش می‌یابد، نوروتروفین‌ها (NT) هستند که از دوره جنینی تا سنین بزرگسالی بر رشد، تکثیر، بقا، تمایز و مرگ سلول‌ها مؤثرند و برای حفظ سلامت دستگاه عصبی ضروری هستند (۵). امروزه، به‌طور قطعی پذیرفته شده است که نوروتروفین‌ها نقشی حیاتی در انتقال سیناپسی و شکل‌پذیری نورونی دارند؛ اما نامشخص بودن مکانیسم‌های زیربنایی به بروز زمینه‌های پژوهشی جدیدی منجر شده است (۶). عامل عصبی تغذیه‌ای

-
1. Transcriptional Coactivator Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Coactivator- 1α
 2. Neurotrophin

مشقت از مغز (BDNF)^۱ مهم‌ترین نوروتروفین است که به‌عنوان ژن پایین‌دست PGC-1 α شناخته شده است و بر رشد، بقا و سلامت انواع گونه‌های نورونی اثر می‌گذارد. همچنین، BDNF یک فاکتور مهم در شکل‌پذیری مغز است که رهاسازی آن در سیناپس‌ها، انتقال سیناپسی و تحریک‌پذیری نورونی را افزایش می‌دهد. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که در اثر تمرین، تغییراتی در نواحی خاصی از مغز رخ می‌دهند که نسبت به یادگیری، حافظه و دیگر نقش‌های شناختی حساس هستند. از طرفی، محرک‌های رفتاری و یادگیری می‌توانند بیان ژن BDNF را که مولکول اصلی درگیر در حافظه و یادگیری است، افزایش دهند (۷). در ابتدا، تصور بر این بود که پاسخ‌های نوروتروفین‌ها به فعالیت بدنی، محدود به سیستم‌های حسی- حرکتی مغز مانند مخچه و نواحی ابتدایی کورتیکال می‌شود (۵)؛ اما در پژوهش‌های بعدی گزارش شد که در مدل‌های حیوانی، بیان BDNF به‌طور متوسط در بیشتر نواحی مغز و حتی نخاع، پس از فعالیت روی چرخ‌گردان افزایش یافت و بیشترین تغییر در سطوح BDNF همان‌طور که انتظار می‌رفت، در هیپوکمپ بود که یک ساختار مهم برای عملکردهای شناختی به‌ویژه یادگیری و حافظه است (۸). با توجه به تأثیرات محافظتی BDNF از نورون‌ها، به‌ویژه در بیماری‌های ناشی از اختلالات نورونی و شناختی مانند پارکینسون، آلزایمر، صرع و افسردگی، هر روشی که بتواند سبب افزایش بیان این ژن گردد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۹)؛ با این حال، تعدادی از پژوهش‌ها افزایش بیش‌ازحد بیان آن را عامل اصلی بروز بیماری‌هایی با اختلالات نورونی گزارش کردند (۱۰). در واقع، فعالیت ورزشی با تنظیم BDNF ممکن است در بهبود و سلامت ذهن مؤثر باشد و سبب پیشرفت عملکرد شناختی شود (۸)؛ هرچند بعضی از مطالعات چنین ارتباطی را گزارش نکرده‌اند (۱) که این نتایج متناقض می‌تواند به‌دلیل روش‌های استفاده‌شده متفاوت باشد که اهمیت تلاش برای دستیابی به شدت مناسب فعالیت ورزشی متناسب با سن افراد را مشخص می‌کند. با توجه به افزایش بروز بیماری‌های ناشی از اختلالات نورونی و عصبی و بروز مشکلات در عملکرد شناختی و یادگیری در سنین سالمندی، هر روشی که بتواند سبب افزایش بیان فاکتورهای مؤثر در این زمینه شود، اهمیت ویژه‌ای دارد (۱۱)؛ بنابراین، در مطالعه حاضر، ما بررسی کردیم که آیا فعالیت ورزشی استقامتی می‌تواند روش مناسبی برای افزایش شکل‌پذیری هیپوکمپ در حیوانات سالمند باشد؟

روش پژوهش

برای انجام این پژوهش از ۲۱ سر رت نر نژاد ویستار که در آغاز پژوهش در سنین جوانی (تعداد = هفت، دو ماهه) و سالمندی (تعداد = ۱۴، ۲۰-۱۸ ماهه) بودند، استفاده شد. در طی دوره پژوهش، رت‌ها به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند و توسط یک نفر جابه‌جا می‌شدند. آن‌ها در چرخه روشنایی- تاریکی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) با رطوبت هوا 2 ± 50 درصد و درجه حرارت 3 ± 22 درجه سانتی‌گراد، در لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری شدند.

پس از آشناسازی رت‌ها با نوار گردان به مدت یک هفته (۵ متر/دقیقه و ۱۰ متر/دقیقه)، رت‌های سالمند به صورت تصادفی به دو گروه تمرین و بدون تمرین تقسیم شدند؛ بدین ترتیب، سه گروه هفت‌تایی شامل گروه سالمند، گروه سالمند-تمرین و گروه جوان تشکیل شد (۳). گروه سالمند-تمرین به مدت ۱۲ هفته تمرین استقامتی روی نوار گردان را شروع کردند. هر جلسه شامل پنج دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر/دقیقه و ۱۵ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵ متر/دقیقه در هفته اول بود که به ۴۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر/دقیقه در انتهای هفته دوم رسید و با همین مدت و شدت تا پایان جلسه آخر ادامه یافت. گروه‌های دیگر برای مدت یکسانی روی نوار گردان خاموش قرار گرفتند (۳، ۱۲، ۱۳).

جدول ۱- پروتکل برنامه فعالیت استقامتی

گرم کردن هر جلسه	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم تا آخر
پنج دقیقه	۱۵ دقیقه	افزایش تا ۴۰ دقیقه	۴۰ دقیقه
۱۰ متر/دقیقه	۱۵ متر/دقیقه	افزایش تا ۲۰ متر/دقیقه	۲۰ متر/دقیقه

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، از میز آبی موریس برای آزمون یادگیری و حافظه فضایی استفاده شد. این دستگاه شامل یک مخزن فلزی (قطر ۱۸۰ و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر) بود که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری از آب (2 ± 22 درجه سلسیوس) پر شد. یک سکوی مدور (سکوی پنهان) به قطر ۱۰ و ارتفاع ۲۸ سانتی‌متر، در حدود دو سانتی‌متری زیر سطح آب در ربع جنوب شرقی مخزن قرار داده شد. رایانه، نرم‌افزار و شکل‌های راهنمای خارج از میز درسراسر آزمایش ثابت بودند و از طریق یک دوربین در بالای مخزن مسیر حرکت رت ثبت شد. برای عادت کردن به محیط آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمون، رت‌ها به مدت دو دقیقه در مخزن فاقد سکوی پنهان شنا کردند (۱۴، ۱۵). مرحله

یادگیری بدین صورت انجام شد که هر سه گروه رت به مدت چهار روز متوالی و هر روز برای یافتن سکوی پنهان، در چهار گروه کارآزمایی جداگانه قرار گرفتند. در شروع هر کارآزمایی، هر رت به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه روی سکوی مستقر می شد تا فرصت داشته باشد با علائم و نشانه‌های محیط اطراف آشنا شود. سپس، هر بار به طور تصادفی از یکی از چهار ربع حوضچه رها شد و متغیرهای موردنظر شامل مدت زمان و مسافت طی شده تا رسیدن به سکوی پنهان بررسی شدند. اگر در مدت ۶۰ ثانیه قادر به پیدا کردن سکوی نبود، با راهنمایی دست به سمت هدف هدایت می شد و پس از آخرین مرحله و خروج از حوضچه، با حوله خشک می شد و به قفس بازمی گشت. آزمون پروب^۱ یا انتقال نیز ۲۴ ساعت بعد از آخرین کارآزمایی (روز پنجم) انجام شد. در این مرحله، سکوی داخل حوضچه برداشته شد و مدت زمان شنا کردن حیوان در ربع هدف که قبلاً سکوی در آن قرار داشت، ثبت شد (۱۶، ۱۵).

۲۴ ساعت پس از آزمون رفتاری، رت‌ها با استفاده از تزریق درون صفاقی کلرال هیدرات (۴۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) بی هوش شدند. پس از جدایی سر حیوانات با استفاده از دستگاه گیوتین، هیپوکمپ آن‌ها جدا شد، بلافاصله از طریق نیتروژن مایع منجمد شد و در دمای ۸۰- فریزر نگهداری گردید. بافت هیپوکمپ از طریق هموژنیزه کردن (۱۱۰۰۰ rpm، ۴۰ دقیقه) برای استخراج RNA آماده شد و طبق دستورالعمل کیت (شرکت سیناژن)، جداسازی RNA انجام شد. برای پاک‌سازی محلول RNA استخراج شده از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های مخرب RNA، از کیت DNaseI (شرکت فرمنتاز آلمان) استفاده شد. از هر نمونه، دو میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA با استفاده از کیت سنتتاز شرکت فرمنتاز به کار گرفته شد. جدول شماره یک، پرایمرهای لازم برای ژن‌های مدنظر و همچنین، ژن خانه‌دار^۲ را نشان می دهد. برای انجام Real-time PCR از دو میکرولیتر cDNA استفاده شد. این واکنش با استفاده از کیت سایبر گرین مستر میکس^۳ (تاکارا ژاپن)^۴ و دستگاه بایورد^۵ آلمان انجام شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) برای هر نمونه مشخص شد و با استفاده از روش $\Delta\Delta CT$ ، سطح بیان mRNA ژن‌های موردارزیابی نسبت به بیان ژن خانه گردان محاسبه شد.

-
1. Probe
 2. Housekeeping Gene
 3. SYBR Green PCR Master Mix
 4. TaKaRa, Japan
 5. BioRad

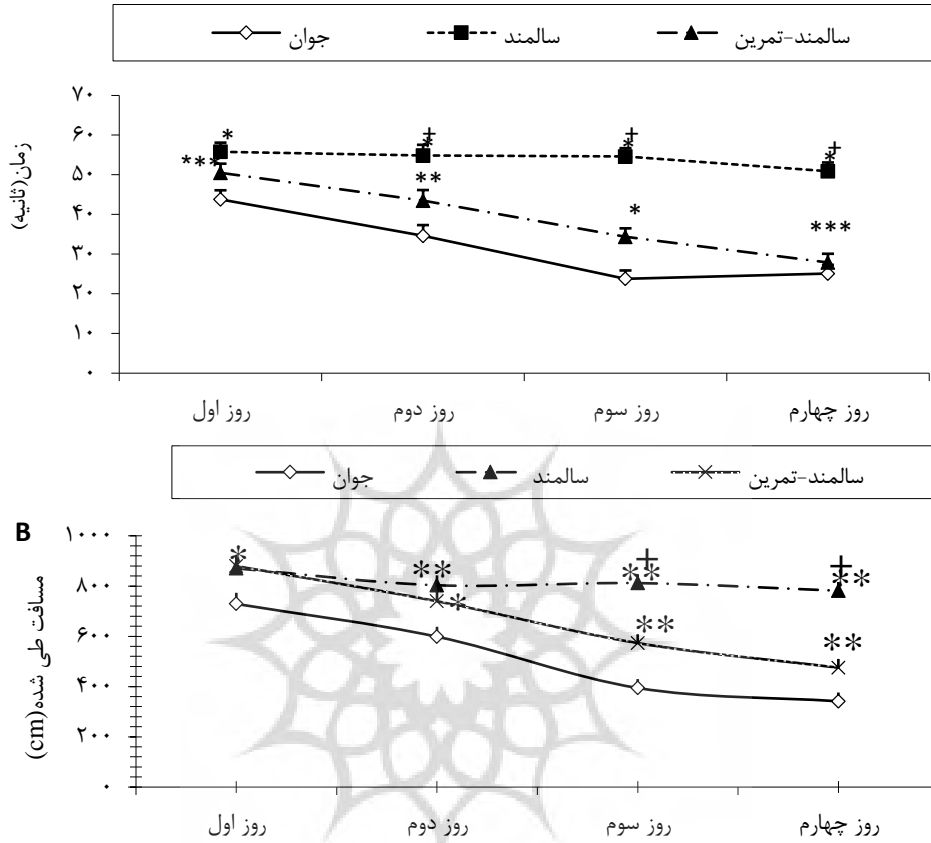
جدول ۲- آغازگرهای اختصاصی برای بررسی بیان ژن

PGC-1 α -Fw	ACAACCGCAGTCGCAACA
PGC-1 α -Rv	AGGAGTCGTGGGAGGAGTTAG
BDNF-Fw	ACTCGCAATGCCGAACTACC
BDNF-Rv	CCTTATGAACCGCCAGCCAAT
GAPDH-Fw	CTAGAGACAGCCGCATCTTCTTG
GAPDH-Rv	AATCCGTTACACCGACCTTC

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس. نسخه ۲۱ تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی بیان mRNA از آنوای یک‌طرفه استفاده شد و آزمون رفتاری با استفاده از آنوای یک‌طرفه با اندازه‌های تکراری بررسی شد و از طریق آزمون تعقیبی توکی، معناداری اختلاف‌ها در سطح ۰.۰۵ بررسی شد.

نتایج

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس آزمون رفتاری میز آبی نشان می‌دهد که زمان سپری شده برای رسیدن به سکو در طی چهار روز، در رت‌های گروه جوان و گروه سالمند- تمرین کمتر بود که این نشان‌دهنده مثبت بودن روند یادگیری در این دو گروه است ($F(63,3) = 83.7, P < 0.001$) و گروه جوان ($31/8 \pm 0/8$ ثانیه) و گروه سالمند- تمرین ($39/08 \pm 0/8$ ثانیه) نسبت به گروه سالمند ($54/07 \pm 0/8$ ثانیه) به طور معناداری سریع‌تر به سکو رسیدند ($P < 0.001$; شکل شماره یک A). همچنین، کاهش معناداری در مسافت شناکردن تا سکو در طی چهار روز آموزش وجود داشت که این نتیجه نیز مثبت بودن روند یادگیری و حافظه فضایی را نشان می‌دهد ($F(63,3) = 72.7, P < 0.001$) براساس نتایج، تفاوت معناداری در مسافت شناکردن بین گروه جوان ($515/72 \pm 14/04$ سانتی‌متر) و گروه سالمند- تمرین ($666/8 \pm 14/04$ سانتی‌متر) با گروه سالمند ($816/6 \pm 14/04$ سانتی‌متر) وجود داشت ($P < 0.001$; شکل شماره یک B).



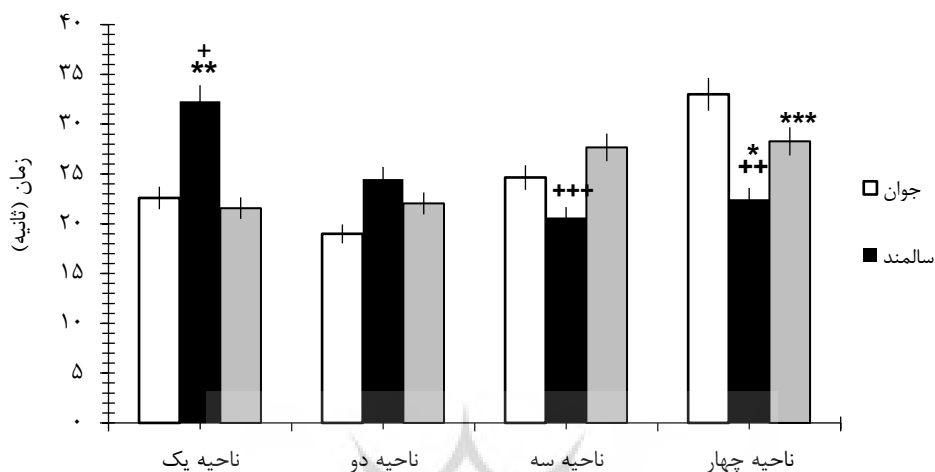
شکل ۱- مقایسه زمان (A) و مسافت (B) شناکردن تا سکو در طی چهار روز آموزش

هر نقطه میانگین ± انحراف استاندارد را نشان می‌دهد و اعداد کمتر عملکرد بهتر را نشان می‌دهند.

*** = $P < 0.001$, ** = $P < 0.01$, * = $P < 0.05$ در مقایسه با گروه جوان

+++ = $P < 0.001$, ++ = $P < 0.01$, + = $P < 0.05$ در مقایسه با گروه سالمند-تمرین

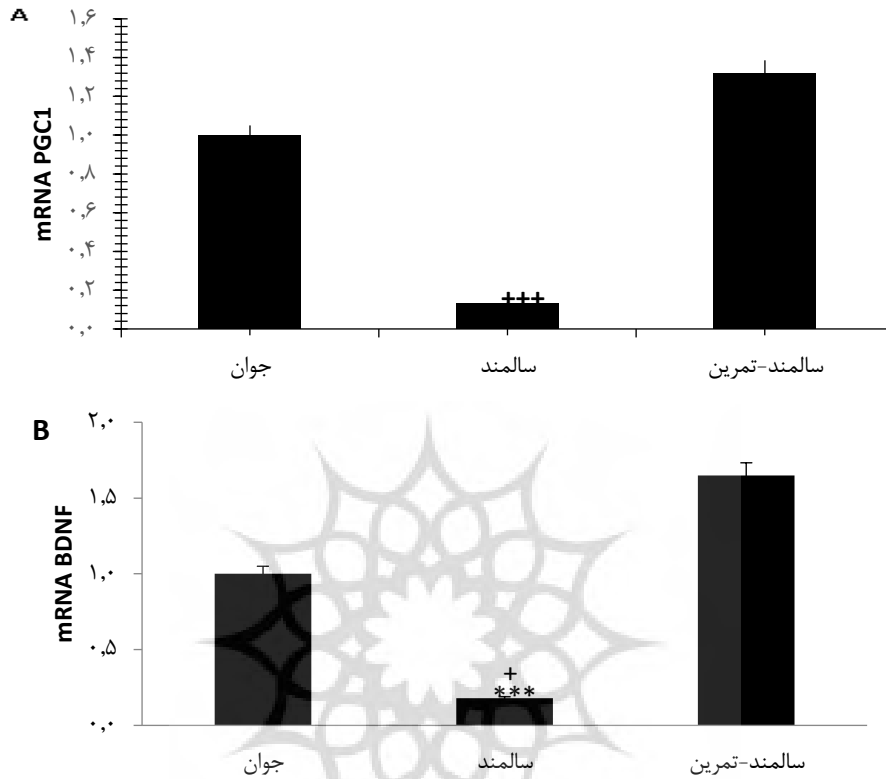
به‌علاوه، نتایج پژوهش در آزمون پروب، براساس درصد زمان سپری‌شده در ناحیه هدف نشان می‌دهد که بین گروه جوان ($32/99 \pm 2/7$ درصد) با گروه سالمند ($22/46 \pm 2/25$ درصد) ($P < 0.001$) و گروه سالمند-تمرین ($28/27 \pm 4/6$ درصد) ($P < 0.05$) اختلاف معنادار وجود دارد. نکته مهم اینکه، گروه سالمند-تمرین نسبت به گروه سالمند به‌طور معناداری زمان بیشتری را در ناحیه چهار سپری کرد ($P < 0.01$ ؛ شکل شماره دو).



شکل ۲- مقایسه زمان صرف شده در ناحیه هدف (ناحیه چهار) در گروه‌های مورد آزمایش در آزمون Probe. نتایج براساس میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش شده است و سپری کردن زمان طولانی‌تر در ناحیه هدف نشان‌دهنده حافظه بهتر است.

*** = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, * = $P < 0.001$ در مقایسه با گروه جوان
 +++ = $P < 0.05$, ++ = $P < 0.01$, + = $P < 0.001$ در مقایسه با گروه سالمند-تمرین

برای ارزیابی تغییر در یادگیری و حافظه فضایی ناشی از تمرین استقامتی و ارتباط آن با فاکتورهای فیزیولوژیک مؤثر، بیان mRNA برای PGC-1 α و BDNF در هیپوکمپ رت‌های سالمند نیز بررسی شد. یافته‌ها نشان می‌دهد که در گروه سالمند نسبت به گروه جوان، سطح PGC-1 α و BDNF به ترتیب ۸۶- درصد و ۸۱- درصد کاهش یافت و در گروه سالمند-تمرین نسبت به گروه سالمند، بیان آن‌ها به ترتیب ۹۰ درصد و ۸۷ درصد افزایش یافت (شکل شماره A و B).



شکل ۳- نتایج بیان mRNA برای PGC-1 α (A) و BDNF (B) از طریق real time PCR در هیپوکمپ نتایج براساس میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش شده است. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه جوان و $P < 0.001$ ، $+++ = P < 0.05$ در مقایسه با گروه سالمند-تمرین

بحث و نتیجه گیری

به طور کلی، به نظر می‌رسد که فعالیت بدنی یک فاکتور مهم و تأثیرگذار در افزایش سلامت و بهبود عملکرد شناختی در موش‌ها و انسان‌ها به‌ویژه در دورهٔ سالمندی است (۳) که این اثر می‌تواند ناشی از افزایش سطوح فاکتورهای مؤثر در بیوژنز میتوکندریایی، انعطاف نورونی و بهبود شناخت و یادگیری باشد (۱)؛ براین اساس، ما تأثیر ۱۲ هفته فعالیت ورزشی استقامتی و هفته‌ای پنج روز را بر برخی فاکتورهای مؤثر در این زمینه بررسی کردیم. در این پژوهش، یافته‌ها نشان داد که سالمندی سبب

نقص در حافظه فضایی و یادگیری و کاهش بیان PGC-1 α mRNA و BDNF mRNA در هیپوکمپ می‌شود که برنامه‌ی تمرینی طراحی شده به‌طور مشخص سبب بهبود اختلالات پدیدآمده شده است؛ به‌نحوی که بیان ژن‌ها و علائم شناختی در گروه سالمند- تمرین نسبت به گروه جوان افزایش یافت؛ هرچند این اختلاف معنادار نبود. مطالعات نشان می‌دهند که در دوران سالمندی، تعدادی مکانیسم-های جبرانی برای کاهش نوروتروفین‌ها و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی راه‌اندازی می‌شود (۵)؛ اما به‌دلیل کوچک‌بودن، این تغییرات نمی‌توانند کارایی لازم را در برابر آثار مخرب ناشی از سالمندی داشته باشند. در این میان، فعالیت ورزشی مناسب با تحریک فاکتورهای لازم زمینه را برای کاهش تخریب نورونی و اختلال در حافظه مهیا می‌کند (۱۸، ۱۷) که در یافته‌های این مطالعه نیز قابل‌مشاهده است.

سالمندی با کاهش حافظه و یادگیری در گونه‌های مختلف انسان و حیوان همراه است. بین نواحی مختلف مغز، به‌نظر می‌رسد که هیپوکمپ به‌دلیل تغییر در ارتباطات و انعطاف سیناپسی، به‌طور ویژه مستعد نشان‌دادن نقص یادگیری ناشی از افزایش سن است (۱۷). یکی از آثار طبیعی ناشی از افزایش سن، اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها و افزایش استرس اکسیداتیو است که موجب افزایش مرگ نورونی و کاهش بیان فاکتورهای ضروری می‌شود. از آنجایی که بسیاری از این فاکتورها با عملکرد حافظه و بقای نورونی مرتبط هستند، کاهش بیان آن‌ها نقص در حافظه و یادگیری ایجاد می‌کند (۱۹). در مطالعه حاضر نیز نتایج حاصل از گروه‌های موردبررسی در حافظه، شناخت و بیان فاکتورهای مرتبط، اختلالات ناشی از سالمندی و تأثیر تمرین بر آن را تأیید می‌کند.

میز آبی یکی از بهترین روش‌ها برای تعیین سطح یادگیری و شناخت در حیوانات است (۲۰). براساس نتایج این آزمون در پژوهش حاضر، دریافتیم که افزایش سن سبب نقص در حافظه فضایی و یادگیری می‌شود؛ درحالی‌که فعالیت استقامتی تأثیری مثبت بر این روند دارد و اثرهای منفی ناشی از سالمندی را کاهش می‌دهد (شکل‌های شماره ۱ یک و شماره ۲ دو). نکته جالب اینکه، یافته‌های آزمون پروب نشان می‌دهد که در زمان سپری‌شده در ناحیه هدف بین گروه جوان و گروه سالمند- تمرین اختلاف معنادار وجود ندارد (شکل شماره ۲ دو). این یافته‌ها نقش مؤثر فعالیت ورزشی در بهبود اختلالات شناختی و یادگیری در سالمندان را تأیید می‌کند. تعدادی از مطالعات انجام‌شده در این زمینه گزارش‌های مشابهی را بیان کرده‌اند (۲۱، ۲۲)؛ هرچند بعضی مطالعات در زمینه میز آبی نیز تأثیر نداشتن دویدن روی نوار گردان را بر فاکتورهای شناختی گزارش کرده‌اند (۲۳). این تناقض در نتایج می‌تواند ناشی از

پروتکل‌های تمرینی متفاوت باشد و حاکی از آن است که به‌طور کلی، تأثیرات مثبت فعالیت بدنی بر نقص در یادگیری و شناخت پذیرفته شده است؛ اما درک مکانیسم‌های زیربنایی و ارزیابی پروتکل‌های تمرینی مختلف مؤثر، به پژوهش بیشتری نیاز دارد (۲۴).

به‌طور کلی، اثرهای تمرین برای کاهش اختلالات یادگیری ارتباطی مثبت با پاسخ‌های نوروشیمیایی به فعالیت بدنی دارد (۳) که در این مطالعه نیز مشاهده شد. براساس یافته‌ها، ۱۲ هفته فعالیت ورزشی استقامتی سبب تحریک بیش‌تنظیمی BDNF و ژن بالادست آن، یعنی $PGC-1\alpha$ در هیپوکمپ رت‌های سالمند شد (شکل شماره ۳ A و B). اختلالات میتوکندریایی یکی از مهم‌ترین مشکلات دوران سالمندی است و در دهه اخیر مطالعات زیادی گزارش کرده‌اند که تمرین مداخله قدرتمندی برای بیش‌تنظیمی بیوژنز میتوکندریایی است؛ باین‌حال، مطالعات پراکنده و اندکی نقش سیگنالینگ $PGC-1\alpha$ را در سازگاری بررسی کرده‌اند (۳). در سال ۲۰۱۳، ران و همکاران (۲۵) برای اولین بار گزارش کردند که افزایش $PGC-1\alpha$ در مغز سبب افزایش بیان BDNF می‌شود. پس از آن، مطالعات بیشتری در زمینه نمونه‌های مختلف انجام شدند تا مسیر سیگنالینگ این ارتباط مشخص شود. به گزارش این مطالعات، $PGC-1\alpha$ با تأثیر مثبت بر FNDC5، به عنوان یک مایوکاین جدید که در اثر تمرین تحریک شده است و نقش حفاظت نورونی دارد، BDNF را تنظیم می‌کند (۲۶) و به این ترتیب، سبب تنظیم بقا، تمایز و انعطاف نورونی می‌شود که نقش مهمی در فرایند یادگیری و حافظه دارد؛ باین‌حال، بیشتر پژوهش‌ها بر بیان BDNF در هیپوکمپ رت‌های جوان متمرکز شده‌اند و پژوهش در دوران سالمندی به این فاکتور محدود است (۱۹، ۱۷).

نظریهٔ رادیکال‌های آزاد در سالمندی نشان می‌دهد که افزایش رادیکال‌های آزاد، استرس اکسیداتیو و کاهش عملکرد آنتی‌اکسیدانی فاکتورهای اصلی هستند که به بروز فرایندهای سالمندی و حتی کاهش طول عمر منجر می‌شوند (۱۹). مغز مستعد مصرف اکسیژن و اکسیداسیون است؛ بنابراین، سطوح پایین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به متابولیسم اکسیداتیو آسیب می‌زنند. به‌علاوه، نبود تعادل در تولید و برداشت رادیکال‌های آزاد می‌تواند سبب استرس اکسیداتیو و کاهش سطوح BDNF شود (۲۷). هیپوکمپ که مرکز شناخت، حافظهٔ فضایی و یادگیری است، در این زمینه آسیب‌پذیرتر است و به آسیب مغز حساسیت بیشتری دارد (۲۸). در این مطالعه، بهبود شناخت و حافظه در گروه سالمند-تمرین نسبت به گروه سالمند، به‌وسیلهٔ افزایش در فاکتورهای بیوشیمیایی به‌ویژه BDNF تقویت

می‌شود. تمرین از طریق پتانسیل محافظت نورونی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر PGC-1 α تأثیر می‌گذارد و با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد سبب افزایش سطوح BDNF می‌شود (۱۸). علاوه بر اینکه افزایش سطوح BDNF یکی از مکانیسم‌های مهم ناشی از تمرین در افزایش یادگیری است، امکان دارد که تمرین، فاکتورهای دیگری که باعث فراگیری اطلاعات جدید می‌شوند، مانند افزایش نورونز در CNS را تحریک کند و سبب پیشرفت در عملکرد حافظه فضایی و افزایش تسلط حیوان به محیط پیرامون شود؛ به این ترتیب، تعدیل مکانیسم‌های مرکزی به وسیله فعالیت ورزشی، نه تنها برای یادگیری مهم است، بلکه در حفظ پیچیدگی آناتومیک هیپوکمپ و برخی دیگر از نواحی مغز نیز تأثیر دارد (۲۹).

پیام مقاله: پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت استقامتی یک فاکتور مهم و مؤثر در افزایش سلامت و بهبود عملکرد شناختی در رت‌ها، به ویژه در دوره سالمندی است که تأثیرات مفیدی بر عملکرد مغز ایجاد می‌کند؛ با این وجود، مطالعات در این زمینه در مراحل اولیه هستند (۷) و با توجه به شیوع بیماری‌های فیزیولوژیک و روانی در دوره سالمندی، انجام مطالعات بیشتر برای دستیابی به بهترین برنامه تمرینی مؤثر در فاکتورهای نورولوژیک و بهبود کیفیت زندگی سالمندان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

منابع

1. Aguiar AS, Castro AA, Moreira EL, Glaser V, Santos AR, Tasca CI, et al. Short bouts of mild-intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging rats: Involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling. *MECH AGEING DEV.* 2011;132(11):560-7.
2. Toy WA, Petzinger GM, Leyshon BJ, Akopian GK, Walsh JP, Hoffman MV, et al. Treadmill exercise reverses dendritic spine loss in direct and indirect striatal medium spiny neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) mouse model of Parkinson's disease. *NEUROBIOL DIS.* 2014;63(5):201-9.
3. Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: Role of PGC-1 α . *Exp Gerontol.* 2013;48(11):1343-50.
4. Corona J, Duchon M. PPAR γ and PGC-1 α as therapeutic targets in Parkinson's. *Neurochem Res.* 2016; 40(2):308-16.
5. Tapia-Arancibia L, Rage F, Givalois L, Arancibia S. Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *FRONT NEUROENDOCRIN.* 2004;25(2):77-107.
6. Lu B. BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *LEARN MEMORY.* 2012;10(2):86-98.

7. Petzinger GM, Walsh JP, Akopian G, Hogg E, Abernathy A, Arevalo P, et al. Effects of treadmill exercise on dopaminergic transmission in the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. *J Neurosci*. 2007;27(20):5291-300.
8. McGough E, Kirk-Sanchez N. Exercise interventions targeting neuroplasticity and neuroprotection in adults with neurodegenerative diseases. *Neurodegener Dis*. 2012;11(4):8-20.
9. Sleiman SF, Henry J, Al-Haddad R, El Hayek L, Haidar EA, Stringer T, et al. Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate. *Elife*. 2016;5:e15092.
10. Binder DK, Croll SD, Gall CM, Scharfman HE. BDNF and epilepsy: too much of a good thing? *TRENDS NEUROSCI*. 2001;24(1):47-53.
11. Barreto G, Huang T-T, Giffard RG. Age-related defects in sensorimotor activity, spatial learning, and memory in C57BL/6 mice. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2010;22(3):214-9.
12. Patki G, Lau Y-S. Impact of exercise on mitochondrial transcription factor expression and damage in the striatum of a chronic mouse model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2011;505(3):268-72.
13. Tuon T, Valvassori SS, Lopes-Borges J, Luciano T, Trom CB, Silva LA, et al. Physical training exerts neuroprotective effects in the regulation of neurochemical factors in an animal model of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 2012;227:305-12.
14. Frick KM, Kim JJ, Baxter MG. Effects of complete immunotoxin lesions of the cholinergic basal forebrain on fear conditioning and spatial learning. *Hippocampus*. 2004;14(2):244-54.
15. Reisi P, Alaei H, Babri S, Sharifi MR, Mohaddes G. Effects of treadmill running on spatial learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett*. 2009;455(2):79-83.
16. Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. *Journal of J Bodyw Mov Ther*. 2008;12(1):72-5.
17. Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Heo S, McLaren M, et al. Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume. *J Neurosci*. 2010;30(15):5368-75.
18. Freeman WM, VanGuilder HD, Bennett C, Sonntag WE. Cognitive performance and age-related changes in the hippocampal proteome. *Neuroscience*. 2009;159(1):183-95.
19. Fu Y, Zhang Y, Yuan Q, editors. Aerobic exercise ameliorates learning and memory deficits of aging rats induced by D-galactose via promoting SYP and BDNF expression in hippocampus. *BIO Web of Conferences*; 2017: EDP Sciences.
20. Sriraksa N, Wattanathorn J, Muchimapura S, Tiamkao S, Brown K, Chaisiwamongkol K. Cognitive-enhancing effect of quercetin in a rat model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *EVID-BASED COMPL ALT*. 2011;20(12):201-10.
21. Sim Y-J, Kim S-S, Kim J-Y, Shin M-S, Kim C-J. Treadmill exercise improves short-term memory by suppressing ischemia-induced apoptosis of neuronal cells in gerbils. *Neurosci Lett*. 2004;372(3):256-61.

22. Tillerson JL, Caudle WM, Reverón ME, Miller GW. Exercise induces behavioral recovery and attenuates neurochemical deficits in rodent models of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 2003;119(3):899-911.
23. Solari N, Bonito-Oliva A, Fisone G, Brambilla R. Understanding cognitive deficits in Parkinson's disease: lessons from preclinical animal models. *LEARN MEMORY*. 2017;20(10):592-600.
24. Braidly N, Poljak A, Grant R, Jayasena T, Mansour H, Chan-Ling T, et al. Differential expression of sirtuins in the aging rat brain. *FRONT CELL NEUROSCI*. 2015;8(9):167-73.
25. Wrann Christiane D, White James P, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway. *Cell Metab*. 2013; 18(5):649-59.
26. Farshbaf MJ, Ghaedi K, Megraw TL, Curtiss J, Faradonbeh MS, Vaziri P, et al. Does PGC1 α /FNDC5/BDNF elicit the beneficial effects of exercise on neurodegenerative disorders? *Neuromolecular medicine*. 2016;18(1):1-15.
27. Silhol M, Arancibia S, Perrin D, Maurice T, Alliot J, Tapia-Arancibia L. Effect of aging on brain-derived neurotrophic factor, proBDNF, and their receptors in the hippocampus of Lou/C rats. *Rejuvenation Res*. 2008;11(6):1031-40.
28. Noble EE, Billington CJ, Kotz CM, Wang CF. The lighter side of BDNF. *Am. J. Physiol*. 2011;300(5):R1053-R69.
29. Castren E, Pitkanen M, Sirvio J, Parsadanian A, Lindholm D, Thoenen H, et al. The induction of LTP increases BDNF and NGF mRNA but decreases NT-3 mRNA in the dentate gyrus. *Neuroreport*. 1993;4(7):895-8.

ارجاع دهی

رضایی زینب، مرندی سیدمحمد، علایی حجت‌اله، اسفرجانی فهیمه. تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن PGC-1 α ، BDNF و اختلالات یادگیری در هیپوکمپ رت‌های سالمند. *فیزیولوژی ورزشی*. پاییز ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۳): ۹۱-۱۰۴. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2018.5281.1701

Rezaee Z, Marandi S. M, Alaei H, Esfarjani F. The Effect of Endurance Training on Gene Expression of PGC-1 α , BDNF and Learning Disorders in the Hippocampus of Aging Rats. *Sport Physiology*. Fall 2019; 11(43): 91-104. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2018.5281.1701

The Effect of Endurance Training on Gene Expression of PGC-1 α , BDNF and Learning Disorders in the Hippocampus of Aging Rats

Z. Rezaee¹, S. M. Marandi², H. Alaei³, F. Esfarjani⁴

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2. Professor of Exercise Physiology, University of Isfahan, Isfahan, Iran (Corresponding Author)
3. Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4. Professor of Exercise Physiology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received: 2017/12/25

Accepted: 2018/02/17

Abstract

Aging is a period that in addition to physical disturbances is associated with behavioral, cognitive and motor disorders, and endurance exercise can improve these disorders by increasing expression in some factors. The aim of this study was to investigate the effect of 12 weeks endurance running on treadmill (5 days a week, 20 m/min) on gene expression of PGC-1 α , BDNF, learning and memory in the hippocampus of elderly rats. The rats were randomly divided into three groups: aging, aging- training and young. After the end of the protocol, hippocampus was excised and was frozen at -80 °C for mRNA condensation. Gene expression was compared by one-way ANOVA and Morris Water Maze test was analyzed through repeated measure ANOVA. The findings show that the learning and spatial memory decrease in aging group compression with young group and training improved this disorder. Also, training led to an increase in expression of PGC-1 α and BDNF in the aging group, so there was no significant difference in expression of these two factors between the aging-exercise and young group ($P < 0.05$). Therefore, considering the role of PGC-1 α and BDNF in protection of neurons, it seems that endurance training has a protective effect on aging disorders.

Keyword: Endurance Exercise, Cognition, Aging and BDNF.

-
1. Email: z.rezaee2009@yahoo.com
 2. Email: smmarandi2001@yahoo.com
 3. Email: alaei@med.mui.ac.ir
 4. Email: f.esfarjani@yahoo.com