Sport Physiology **Volume 13, No 49, 2021, Page 169-198**

Research Paper

The Effect of 4 Weeks Aerobic Exercise on Gene Expression of Glial Cell_Derived Neurotrophic Factor, TNF-α add Cognition iR Ra''s ii ooo aamsss ii hh Alzheimer's Disease Induced by Amyloid Beta

P. Ghasemi[1], R. Gharakhanlo[2], M. Molanouri Shamsi[3], D. Khodadadi[4]

1. Ph.D. student of Sport physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Professor of Sport physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (Corresponding Author)
3. Associate professor of Sport physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
4. Ph.D. of Sport physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 2019/10/13 **Accepted: 2020/02/05**

Abstract

Alzheimer's disease is the most common form of dementia and amyloid peptides play a prominent role in its pathogenesis. Recently, regular exercise has been considered as one of the most important non-pharmacological mechanisms in contrast with Alzheimer's disease. The aim of this study was to investigate the effect of four weeks' aerobic exercise on gene expression of Glial cell_drived neurotrophic factor and tumor necrosis factor in rat's hippocampus with Alzheimer's disease induced by Amyloid beta. 56 8-weeks-old male rats with mean±SD weight of 190±20 g was randomly divided into four groups: training group. Amyloid beta + training group, Amyloid beta group and control group. Amyloid beta1-42injected into the hippocampus by Hamilton syringe. Seven days after surgery, rats of each groups were subjected to behavioral testing. Real-Time PCR were used for the measurement of gene expression of Glial cell_drived neurotrophic factor and TNF-α. There is a significant difference between the groups. GDNF Gene expression level in training group was higher and in the Amyloid beta-42 induction group was lower (P<0.001). There is a significant difference between the groups. TNF-α Gene expression level in training group was lower and in the Amyloid beta1-42 induction group was higher (P<0.001). Moreover, spatial learning and memory were significantly better in the exercise + Amyloid beta than Amyloid beta group (p<0.01). It seems that aerobic exercise can have significant role in improving spatial memory,

1. Email: peyman.gh1990@yahoo.com
2. Email: ghara_re@modares.ac.ir
3. Email: mahdieh_molanouri@yahoo.com
4. Email: davar.khodadadi@yahoo.com

learning and also increasing gene expression of Glial cell_drived neurotrophic factor and reduce inflammation in hippocampus that can help to improve memory and learning.

Key words: Alzheimer's Disease, Aerobic Exercise, Glial Cell_Drived Neurotrophic Factor, Inflammation.

Extended Abstract

Background and Purpose

Alzheimer's disease (AD) is one of the most common and devastating age-related neurodegenerative diseases. This disease is characterized by massive neuronal loss, cognitive dysfunction, and memory loss. The pathology in AD is well known. Amyloid Beta (Aβ) and tau depositions are the main pathological features. Aβ is associated with impaired learning and memory. Aβ deposition stimulates a local immune response. Neurotrophic factors may play a role in the exercise-induced neuroprotective effects. Glial cell line-derived neurotrophic factor is the most potent survival factor identified for motor neurons. Recent studies have shown that Aβ decreases trophic factors expression. On the other hand, it has been shown that Aβ clearance in AD increases the expression of neurotrophic factors, thereby maintaining neuron survival. Previously, it was demonstrated that chronic stimulation of the immune response induced pro-inflammatory cytokines IL-1β and TNF-α, which contributed to neurodegeneration. The aim of this study was to investigate the effect of 4-week aerobic exercise on gene expression of glial cell-derived neurotrophic (GDNF) and tumor necrosis factors in the hippocampus of rats with AD induced by Aβ1-42.

Methods

Totally, 56 8-week-old male rats with a mean±SD weight of 190±20 g were randomly divided into four groups including training group, Aβ + training group, Aβ group and control group. Aβ1-42 was injected into the hippocampus using a Hamilton syringe.

Morris's water maze test was used to test spatial memory. Next, 24 hours after the last training session, the animals' spatial memory was assessed using the Prob test. To examine the animal's sensorimotor coordination and motivation, the visible plate test was applied after reviewing the probe test.

Seven days after Aβ induction, rats in each group were subjected to behavioral and exercise tests. Forty-eight hours after the last training session, after anesthesia with ether, the animals' heads were severed with a guillotine, and the

entire brain was rapidly removed from the skull. Then the hippocampus was immediately removed from the brain.

Real-time PCR was used to measure the gene expression of GDNF and TNF-α. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post-hoc comparison to test for differences between groups. P values ≤ 0.05 were considered statistically significant.

Training protocol

Table1-Aerobic exercise protocol

Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
5 days in a week	5 days a week	5 days in a week	5 days in a week
Every day 2 sets of 15 minutes at a speed of 10 meters per minute	Every day 2 sets of 15 minutes at a speed of 10 meters per minute	Every day 3 sets of 15 minutes at 15 m / min	Every day 4 sets of 15 minutes at 15 m / min
5 minutes rest between each set	5 minutes rest between each set	5 minutes rest between each set	5 minutes rest between each set

Results

Cognitive result

The results of the one-way ANOVA indicated that there was a significant difference between the elapsed time and finding the platform in different groups on the second, third and fourth day. The time to find the platform was significantly longer in the Aβ+training and Aβ groups on the second to fourth day than in the other groups ($p \leq 0.05$). In addition, the Aβ + training group had less time to find the platform on the second to the fourth day than the Aβ ($p \leq 0.001$). The results of the one-way ANOVA demonstrated that there was no significant difference between the training group and control group on the time for finding the platform ($p > 0.05$).

Gene expression Results

There was a significant difference between the groups. In the present study, GDNF gene expression was significantly different in the training and AD+ training groups compared with the AD group. The GDNF gene expression level in the training group was higher, and it was lower in the Aβ-42 induction group ($P < 0.001$). TNF-α gene expression level in the training group was lower and in Aβ 1-42 induction group was higher ($P < 0.001$). TNF-α gene expression level in the training group was significantly lower than that in the AD group. TNF-α gene expression was significantly different in AD + training group compared

with the AD group. TNF-α gene was lower in the AD + training group than in the AD group. Moreover, spatial learning and memory were significantly better in the Aβ + training group than in the Aβ one ($p<0.01$).

Conclusion

There is evidence that increased inflammation in AD reduces trophic factor expression. Recent studies have shown that exercise can alter the expression of proinflammatory cytokines. In the current study, the expression level of TNF-α gene was significantly decreased in the training group compared with the AD group, indicating the anti-inflammatory effects of exercise. Furthermore, GDNF gene expression was significantly higher in the training and AD+ training groups compared with the AD group.

It seems that aerobic exercise may play a significant role in improving spatial memory and learning, increases gene expression of GDNF and reduces inflammation in the hippocampus, which may help improve memory and learning.

Keywords: Alzheimer's disease, aerobic exercise, Glial cell-derived neurotrophic factor, Inflammation

References

1. Straten G, Saur R, Laske C, Gasser T, Annas P, Basun H, et al. Influence of lithium treatment on GDNF serum and CSF concentrations in patients with early Alzheimer's disease. Current Alzheimer Research. 2011;8(8):853-9 .https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21875410/
2. Airavaara M, Pletnikova O, Doyle ME, Zhang YE, Troncoso JC, Liu Q-R. Identification of novel GDNF isoforms and cis-antisense GDNFOS gene and their regulation in human middle temporal gyrus of Alzheimer disease. Journal of Biological Chemistry. 2011;286(52):45093-102 https://europepmc.org/article/pmc/pmc3247946
3. Heneka MT, O'Banion MK. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. Journal of neuroimmunology. 2007;184(1-2):69-91 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov17222916/.
4. Cunningham C. Microglia and neurodegeneration: the role of systemic inflammation. Glia. 2013;61(1):71-90. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22674585/
5. Marksteiner J, Kemmler G, Weiss EM, Knaus G, Ullrich C, Mechtcheriakov S, et al. Five out of 16 plasma signaling proteins are enhanced in plasma of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Neurobiology of aging. 2011;32(3):539-40. https://europepmc.org/article/med/19395124
6. Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation:

behavioral, electrophysiological and molecular evidence. Neurobiology of disease. 2012;45(3):1153-62. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2222745/

7. Sim Y-J. Treadmill exercise alleviates impairment of spatial learning ability through enhancing cell proliferation in the streptozotocin-induced Alzheimer's disease rats. Journal of exercise rehabilitation. 2014;10(2):81. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24877042/
8. Palasz E, Folcik R, Gasiorowska A, Niewiadomski W, Niewiadomska G. Treadmill training lessens dopaminergic deficiency, enhances BDNF and GDNF biosynthesis, and reduces brain inflammation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. Parkinsonism & Related Disorders. 2018 Jan1;46:e41.https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32050617/
9. Piotrowicz Z, Chalimoniuk M, Płoszczyca K, Czuba M, Langfort J. Acute normobaric hypoxia does not affect the simultaneous exercise-induced increase in circulating BDNF and GDNF in young healthy men: A feasibility study. PloS one. 2019;14(10). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6808427/
10. Cunningham C. Microglia and neurodegeneration: the role of systemic inflammation. Glia. 2013 Jan;61(1):71-90. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22674585/
11. Dobos N, Korf J, Luiten P, Eisel U. Neuroinflamma tion in Alzheimer's disease and Major Depression .BIOL PSYCHIATRY 2010; 67:503–504. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20185031/
12. Campos C, Rocha NB, Lattari E, Paes F, Nardi AE, Machado S. Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. Expert review of neurotherapeutics. 2016 Jun 2;16(6):723-34. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.go27086703/.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

فیزیولوژی ورزشی دوره ۱۳ ، شماره ۴۹ ،بهار ۱۴۰۰ .صص ۱۹۸-۱۶۹

مقالهٔ پژوهشی

تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر بیان ژن فاکتور تغذیه‌ای مشتق‌شده از سلول‌های گلیال، TNF-α و عوامل شناختی در هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر القاشده با آمیلوییید بتا

پیمان قاسمی[۱]، رضا قراخانلو[۲]، مهدیه ملانوری شمسی[۳]، داور خدادادی[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (نویسندهٔ مسئول)
۳. دانشیارفیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۶

چکیده

بیماری آلزایمر شایع‌ترین شکل زوال عقل است که پپتیدهای آمیلوئید بتا نقش برجسته‌ای در بیماری‌زایی آن ایفا می‌کنند. در سال‌های اخیر ورزش منظم به‌عنوان یکی از سازوکارهای غیردارویی مهم برای مقابله با بیماری آلزایمر مطرح شده است. مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر بیان ژن GDNF، TNF-α و عوامل شناختی در رت‌های مبتلا به آلزایمر القاشده با آمیلوییید بتا انجام شد. ۵۶ سر رت نر ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزن ۲۰ ± ۱۹۰ گرم به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: گروه ورزش، گروه آمیلوییدبتا + ورزش، گروه آمیلوییدبتا و گروه کنترل. آمیلوییدبتا با استفاده از سرنگ همیلتون به درون هیپوکمپ تزریق شد و هفت روز بعد از توسعهٔ بیماری آلزایمر در رت‌های هرگروه آزمون رفتاری و تمرین از آن‌ها گرفته شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن GDNF و TNF-α از روش کمّی Real time-PCR استفاده شد. براساس مقایسهٔ سطوح بیان ژن در چهار گروه مطالعه‌شده مشخص شد که بیان ژن GDNF در بین گروه‌های پژوهش تفاوت معناداری داشت؛ به‌طوری‌که ژن GDNF در گروه تمرین بیشترین و درگروه آمیلوییدبتا کمترین سطح بیان را داشت ($P < 0.001$). همچنین بیان ژن عامل تومور نکروز آلفا (TNF-α) در بین گروه‌های پژوهش تفاوت معناداری داشت؛ به‌طوری‌که ژن TNF-α در گروه آمیلوئید بتا بیشترین و در گروه تمرین کمترین سطح بیان را داشت ($P < 0.001$). به‌علاوه یادگیری و حافظهٔ فضایی در گروه ورزش به‌طور معناداری از گروه آلزایمری شده بهتر بود ($P < 0.001$). به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی می‌تواند نقش بسزایی در بهبود یادگیری و همچنین افزایش بیان ژن GDNF و کاهش التهاب از سلول‌های گلیال داشته باشد - که درنهایت به بهترشدن حافظه و یادگیری کمک می‌کند.

واژگان کلیدی: آلزایمر، فعالیت ورزشی، فاکتور تغذیه‌ای مشتق‌شده از سلول‌های گلیال، التهاب.

1. Email: peyman.gh1990@yahoo.com
2. Email: ghara_re@modares.ac.ir
3. Email: mahdieh_molanouri@yahoo.com
4. Email: davar.khodadadi@yahoo.com

مقدمه

بیماری آلزایمر[1] (AD) یک اختلال تخریب نورونی تدریجی است که با مشخصه‌های ازدست‌رفتن حافظه و مشکلات شناختی توصیف می‌شود. بیماری آلزایمر شایع‌ترین شکل زوال عقل است که باعث اختلالات شناختی در بین ۳۷ تا ۴۴ درصد از جمعیت افراد مسن می‌شود. عوامل پاتولوژی بیماری آلزایمر عبارت‌اند از: پلاک‌های آمیلوییدی بتا[2]، تانگل‌های تار عصبی[3] که درنهایت به مرگ سلول‌های عصبی منجر می‌شود. Aβ توسط پروتئین پیش‌ساز آمیلویید[4] (APP) ساخته می‌شود (۱) و در سیستم عصبی مرکزی به شکل پلاک درمی‌آید و باعث پاسخ التهابی می‌شود (۲). کانیهام[5] (۳) نشان داده است که تکرار این التهاب سیستمی باعث التهاب نورونی و درنهایت مرگ سلول عصبی می‌شود. چندین مطالعه نشان داده‌اند که این التهاب ممکن است بر عوامل پاتولوژی بیماری آلزایمر نقش داشته باشند. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد التهاب می‌تواند در توسعهٔ بیماری آلزایمر نقش داشته باشد. سطوح سرمی بالای عوامل التهابی مانند TNF-α[6] و IL-6 به التهاب هیپوکمپی بزرگ‌تر و شناخت ضعیف‌تر در جوندگان و مادهٔ خاکستری کمتر در انسان‌ها منجر می‌شوند (۴). مشخص شده است که کاهش بیان TNF-α باعث کاهش التهاب محیطی و هیپوکمپی در جوندگان می‌شود (5). نشان داده شده است که TNF-α همراه با اینترفرون گاما باعث افزایش بیان بتا سکرتاز می‌شود؛ هرچند دیده شده است که TNF-α و IL-1β گسستگی APP ناشی از گاما سکرتاز را فعال می‌کنند. همچنین مشخص شده است که مقادیر زیاد TNF-α سرمی با کاهش حجم هیپوکمپ افراد مبتلا به سرطان پستان در ارتباط است (۶)؛ بنابراین، مقادیر زیاد TNF-α محیطی و مرکزی می‌توانند یک عمل مضر و مخرب در تخریب سلول‌های عصبی قلمداد شوند.

التهاب CNS، سیگنالینگ نورونی انسولین و اختلال عصبی در بیماری آلزایمر ممکن است فرایندهای التهابی سیستمیک بعدی را ایجاد کند (۷،۸). التهاب عصبی نقش مهمی در بیماری آلزایمر و نیز در افسردگی دارد. بیماری آلزایمر اغلب با علائم افسردگی، اضطراب، تحریک‌پذیری و بی‌ثباتی خلقی همراه است. درنهایت این امر می‌تواند بروز علائم بالینی بیماری آلزایمر را تسریع کند (۹، ۱۰).

1. Alzheimer's Disease
2. Beta amyloid Plaque
3. Neurofibrillary Tangles
4. Amyloid Precursor Protein
5. Cunningham
6. Tumor Necrosis Factor Alpha

اختلالات شناختی و دمانس اثرهای مخرب اجتماعی، اقتصادی و انسانی به‌جا می‌گذارند. هیچ مطالعه‌ای تاکنون نتوانسته است یک سازوکار قطعی برای درمان بیماری آلزایمر ارائه دهد، اما چندین روش برای کندکردن سیر پیشرفت بیماری ارائه شده است. دارودرمانی و ورزش از مهم‌ترین مداخلات توصیه‌شده برای درمان AD و متوقف‌کردن روند پیشرفت این بیماری هستند؛ با وجوداین، هیچ شواهدی وجود ندارد که مدت زمان درمانی مناسب و پیشرفت AD را پس از قطع دارو مشخص کند. هزینهٔ زیاد دارودرمانی نیز همیشه به‌عنوان یک چالش مطرح شده است. از طرف دیگر، مطالعات جدید نشان می‌دهند که مداخلات ورزشی باعث بهبود عملکردهای شناختی، افزایش فعالیت مغزی و کاهش علائم روان‌شناختی می‌شوند. سازوکارهای ورزش که به بهبود شناخت منجر می‌شوند، پیچیده و نامشخص‌اند که این مکانیسم‌ها شامل افزایش حجم خون و عروق‌زایی، کاهش گونه‌های استرس اکسایشی، کاهش بار $A\beta$ و فسفوریلاسیون پروتئین تاو[1]، تعدیل در سیستم کولینرژیک و بیان نروتروفیک فاکتورها می‌شوند (۱۱). فعالیت ورزشی یکی از کم‌هزینه‌ترین و مؤثرترین روش‌های غیردارویی است که خطر ابتلا به AD و همچنین پیشرفت بیماری را کاهش می‌دهد (۱۲). فعالیت ورزشی منظم نقش حفاظت نورونی دارد و بر شناخت، حجم مغز و فعالیت شبکهٔ عصبی در مطالعات کنترل‌شده بر افراد مسن که از لحاظ ادراکی سالم هستند و همچنین بر بزرگسالان مبتلا به اختلال حافظه مؤثرند (۱۳). علاوه‌براین، فعالیت ورزشی با کاهش خطر اختلال ادراکی و زوال عقل همراه است (۱۴). تزریق Aβ1-42 به درون هیپوکمپ موش و رت به‌عنوان یک مدل حیوانی مناسب برای القای بیماری آلزایمر است که پلاک‌های مرتبط با کاهش حافظهٔ مداوم و درخور توجهی را ایجاد می‌کند (۱۵). در پژوهش‌های بسیار اندکی به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر عوامل التهابی در بیماری آلزایمر پرداخته شده است.

یکی از مکانیسم‌های فعالیت ورزشی که به بهبود عملکرد مغز منجر می‌شود، عوامل تغذیه‌ای عصب[2] است. عوامل تغذیه‌ای نورون نقش مهمی در زنده‌ماندن نورون‌هایی دارند که تحت‌تأثیر فرایندهای تخریب نورونی قرار می‌گیرند. عوامل نوروترفیک از مرگ سلول جلوگیری می‌کنند، از تکثیر و بلوغ عصبی حمایت می‌کنند و رشد و عملکرد نورون‌های آسیب‌دیده را افزایش می‌دهند (۱۶). GDNF یکی از نروتروفیک فاکتورهای قوی نورون‌های مغز میانی است که باعث افزایش بقای نورونی و نورون‌زایی می‌شود. پیشنهاد شده است که GDNF می‌تواند نقش ضدالتهابی و ضدسمیت نورونی داشته باشد (۱۷). گزارش شده است که افزایش بیان GDNF در عضلهٔ اسکلتی به افزایش شاخه‌های آکسونی[3] و همچنین افزایش سایز واحد حرکتی منجر می‌شود (۱۸). مشاهده شده است

1. Tau Proteins
2. Neurotrophic Factors
3. Axonal Branching

که میزان GDNF در هیپوکمپ و مغز میانی افراد مبتلا به آلزایمر کاهش می‌یابد که این کاهش با التهاب عصبی و مرگ نورونی همراه است (۱۹). همچنین نشان داده شده است که GDNF باعث کاهش عوامل التهابی ازجمله TNF-a و IL-1b می‌شود که به کاهش آپوپتوز منجر می‌شود و درنهایت باعث بقای سلولی نورون‌های عصبی می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که اجرای فعالیت ورزشی منظم سبب بهبود و افزایش میزان GDNF در بیماران مبتلا به پارکینسون (۲۰)، بیماران مبتلا به آلزایمر (۲۱) و افراد سالم می‌شود؛ برای نمونه، پالاز[1] و همکاران (۲۰) نشان دادند پنج هفته تمرین روی تردمیل کمبود دوپامینرژیک را کاهش می‌دهد، بایوسنتز BDNF و GDNF را افزایش می‌دهد و سبب کاهش التهاب مغزی موش‌های مبتلا به پارکینسون می‌شود. همچنین افضل‌پور و همکاران (۲۲) در مطالعه‌ای به مقایسهٔ دو نوع تمرین تداومی (۶۸ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و تناوبی شدید (۹۵ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) به‌مدت شش هفته (شش روز در هفته) بر عوامل نروتروفیک (BDNF و GDNF) مغز رت‌های سالم سه‌ماهه پرداختند. آن‌ها نشان دادند تمرین‌های تناوبی شدید و تناوبی هر دو در مقایسه با بی‌تمرینی سبب افزایش معنادار عوامل نروتروفیک یادشده در مغز رت می‌شوند؛ هر چند میزان تأثیر تمرین تناوبی شدید در مقایسه با تمرین تداومی بیشتر باشد. در سوی مقابل، به‌تازگی مطالعه‌ای نشان داد که هیپوکسی نورموباریک حاد بر افزایش BDNF و GDNF ناشی از فعالیت ورزشی اختیاری مردان جوان سالم تأثیر ندارد (۲۳). به‌طورکلی تغییر در سطوح نروتروفیک‌ها به‌خاطر افزایش سن، سابقهٔ ژنتیکی و عوامل دیگر در بیماری‌های تخریب نورونی گزارش شده است. با توجه به خاصیت تغذیه‌ای و محافظتی عوامل تغذیه‌ای عصب از جمله GDNF و کمک به بهبود عملکرد سیستم عصبی مرکزی ازجمله بهبود حافظه و یادگیری توسط این عوامل و نیز با توجه به کمبود مطالعات در زمینهٔ تأثیر ورزش و فعالیت بدنی بر GDNF در بیماری‌های تخریب نورونی ازجمله آلزایمر، ضرورت بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن نروتروفین GDNF در هیپوکمپ رت‌های آلزایمری‌شده احساس می‌شود؛ بنابراین، با توجه به مسئلهٔ مطرح‌شده، هدف از انجام‌دادن پژوهش حاضر بررسی اثر چهار هفته تمرین هوازی بر بیان ژن نروتروفین GDNF و TNF-a در هیپوکمپ و عوامل شناختی رت‌های نر نژاد ویستار بود.

1. Palasz

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی (مورد-شاهدی) است که به شیوهٔ آزمایشگاهی انجام شده است. آزمودنی‌های این پژوهش ۵۶ سر رت نر ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزن ۲۰ ± ۱۹۰ گرم بودند که از انستیتو پاستور تهیه شدند. رت‌ها در دمای محیطی ۳ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ درصد در حیوان‌خانهٔ دانشگاه تربیت مدرس نگهداری شدند؛ به‌طوری‌که در دسترسی به آب و غذای استاندارد محدودیتی نداشته باشند. بعد از یک هفته آشناسازی رت‌ها با محیط نگهداری، آن‌ها به‌طور تصادفی ساده به چهار گروه تقسیم شدند: گروه ورزش، گروه ورزش + آلزایمر، گروه آلزایمر و گروه کنترل. تمامی رت‌ها به‌منظور آشناسازی با نوار گردان به‌مدت یک هفته (با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و پنج روز در هفته) درمعرض آن قرار گرفتند. پروتکل تمرین هوازی به این صورت بود که رت‌ها روی نوار گردان با شیب صفر درجه و پنج روز در هفته به‌مدت چهار هفته به تمرین پرداختند. دلیل انتخاب این پروتکل ورزشی این بود که در بسیاری از مطالعات انجام‌شده روی حیوانات از مدل AD استفاده شده است و سازگاری‌های ورزشی و همچنین بهبود در عملکرد شناختی به‌دنبال آن گزارش شده است (۲۴). سرعت نوار گردان در هفته‌های اول و دوم تمرین، ۱۰ متر بر دقیقه بود که به‌صورت تناوبی در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفهٔ پنج‌دقیقه‌ای بین آن (به‌منظور جلوگیری از خستگی عضلانی در رت‌ها) اجرا شد. در هفتهٔ سوم، سرعت به ۱۵ متر بر دقیقه افزایش یافت که در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با دو وقفهٔ پنج‌دقیقه‌ای بین آن‌ها انجام شد. در هفتهٔ چهارم، رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با سه وقفهٔ پنج‌دقیقه‌ای بین آن‌ها به فعالیت پرداختند . رت‌های گروه‌های تمرینی در تمام جلسات تمرینی پایش شدند و با استفاده از یک شوک الکتریکی ضعیف (شدت ۰/۵ میلی‌آمپر) که در حیوان ایجاد استرس زیادی نمی‌کرد و دست‌کاری با یک اسفنج، به ادامهٔ دویدن تشویق شدند.

جدول ۱- پروتکل تمرین هوازی

Table 1-Aerobic exercise protocol

هفتهٔ اول Week 1	هفتهٔ دوم Week 2	هفتهٔ سوم Week 3	هفتهٔ چهارم Week 4
5 روز در هفته 5 days/week	5 روز در هفته 5 days/week	5 روز در هفته 5 days/week	5 روز در هفته 5 days/week
هر روز 2 ست 15 دقیقه‌ای با سرعت10 متر بر دقیقه 2 times* 15 min 10 meter/min	هر روز 2 ست 15 دقیقه‌ای با سرعت10 متر بر دقیقه 2 times* 15 min 10 meter/min	هر روز 3 ست 15 دقیقه‌ای با سرعت15 متر بر دقیقه 3 times* 15 min 15 meter/min	هر روز 4 ست 15 دقیقه‌ای با سرعت15 متر بر دقیقه 4 times* 15 min 15 meter/min
5 دقیقه استراحت بین هر ست 5 min Rest	5 دقیقه استراحت بین هر ست 5 min Rest	5 دقیقه استراحت بین هر ست 5 min Rest	5 دقیقه استراحت بین هر ست 5 min Rest

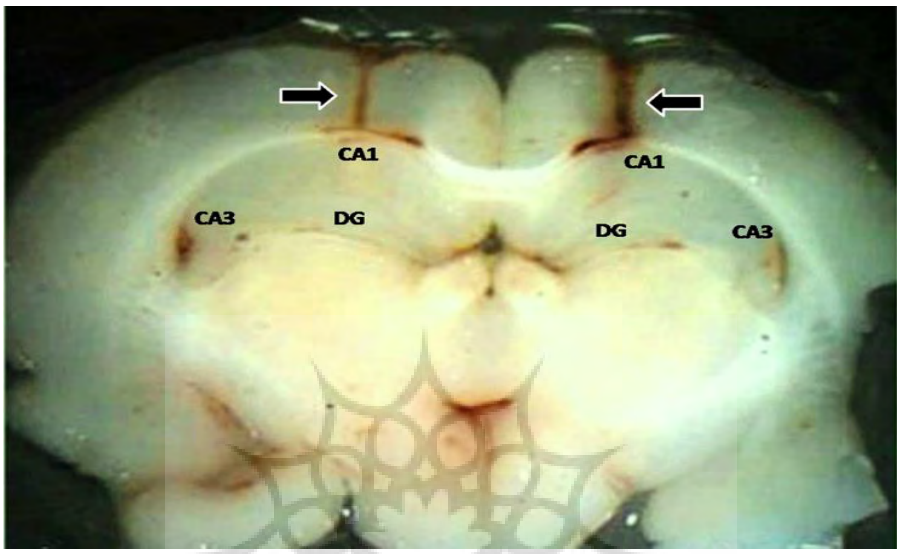
به‌منظور آماده‌سازی آمیلوییدبتا، پپتاید Aβ1-42 (Abca, USA) در محلول بافر DMSO سه درصد (Sigma, Aldrich, USA) با غلظت پنج میکروگرم بر میکرو لیتر حل شد و سپس در مقادیر ۳۰ میکرو لیتر به ازای هر ویال تقسیم شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول آمیلوییدبتا به‌مدت هفت روز در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد تا آمیلوییدبتا به شکل فیبریل درآید (۲۵).

ملاحظات اخلاقی

از نظر اخلاقی این پژوهش به تأیید پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی رسیده است و دارای کد اخلاق به شمارهٔ ۶۴۴۰ است برای القای آلزایمر به مغز رت‌ها، حیوانات با تزریق درون‌صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس سر حیوانات در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و با ایجاد شکاف طولی در بخش خلفی جمجمه، براساس اطلس پاکسینوس و واتسون[1] (۲۶)، حفره‌هایی در موقعیت ۳/۸ عقب برگما (AP)، ۲/۲ میلی‌متر در دو طرف شکاف طولی و ۲/۷ میلی‌متر پایین‌تر از سطح جمجمه ایجاد شد و Aβ1-42 با استفاده از سرنگ همیلتون به درون هیپوکمپ تزریق شد (هر طرف یک میکرولیتر). برای اطمینان از محل درست تزریق در مغز، ابتدا به دو حیوان خارج از مطالعه جوهر تزریق شد و پس از کشتار محل

1. Paxinos & Watson

تزریق بررسی شد. هفت روز بعد از جراحی (برای تأیید آلزایمری‌شدن) و توسعهٔ بیماری آلزایمر (۲۷) رت‌های هر گروه تحت آزمون رفتاری و تمرین هوازی قرار گرفتند.



شکل ۱ - برش کرونال بافت مغز برای اطمینان از صحت محل تزریق
(پیکان‌ها نشان‌دهندهٔ مسیر عبور سوزن در مغز هستند. نوک سوزن درست در بالای ناحیهٔ CA1 قرار گرفته است.)

Figure 1 - Coronal incision of brain tissue to ensure the accuracy of the injection site
(Arrows indicate the passage of the needle in the brain. The tip of the needle is located just above the CA1 region.)

چهل‌وهشت ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، پس از بی‌هوشی با اتر، سر حیوان به‌وسیلهٔ دستگاه گیوتین جدا شد و مغز کامل به‌سرعت از جمجمه بیرون آورده شد. سپس بلافاصله هیپوکمپ روی یخ از مغز استخراج شد. هیپوکمپ برای سنجش Real Time-PCR در واکنشگر تریزول قرار داده شد و تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد ذخیره شد.

حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت هیپوکمپ راست با روش هاون‌کوبی پودر شد و برای استخراج total RNA در یک میلی‌لیتر Isol RNA-Lysis reagent هموژن شد. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی، محصول حاصل در چهار درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته شد و به‌مدت پنج دقیقه در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نگه‌داری شد. سپس با نسبت یک به پنج، کلروفرم با Isol اولیه مخلوط شد و به‌مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول به‌مدت دو تا سه دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری شد. سپس میکروتیوب در دمای

چهار درجهٔ سانتی‌گراد، به‌مدت ۱۵ دقیقه، با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و بخش‌های معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت یک به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها شد و سپس در چهار درجهٔ سانتی‌گراد، به‌مدت ۱۰ دقیقه، با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. پلیت حاوی RNA در اتانول شست‌وشو شد و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-Free حل شد. تمام مراحل استخراج زیر هود و با مواد و وسائل کاملاً استریل انجام گرفت. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانو دراپ سنجیده شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۲/۱ -۱/۸ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. به‌منظور اطمینان بیشتر از صحت تخلیص RNA، تعدادی از RNAs تخلیص‌شده به‌طور تصادفی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند. سنتز cDNA به‌وسیلهٔ high-capacity cDNA reverse transcription kit و مطابق با دستورالعمل آن انجام شد. تمام مراحل انجام‌شدن کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase free صورت گرفت. برای اندازه‌گیری بیان ژن GDNF و TNF-α با استفاده از پروتکل لیواک و همکارن (۲۷)، روش کمّی Real time-PCR در ابتدای کار میزان غلظت بهینهٔ cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هرکدام به‌طور جداگانه مشخص شد؛ به‌طوری‌که کمترین میزان دایمر و بهترین Ct مشاهده شود. Real time-PCR با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green شرکت AMPLIQON و با استفاده از غلظت 250 ng از cDNA انجام گرفت. برنامهٔ Real time-PCR شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه و واسرشت در هر سیکل PCR در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه بود. با توجه به دمای انلینگ پرایمرها هر سیکل به‌مدت ۳۰ ثانیه (۴۰ سیکل) درنظر گرفته شد. از ژن گلیسرآلدهید سه-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد و میزان بیان ژن مدنظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد (۲۸، ۲۷) و داده‌های بیان ژن با استفاده از از نرم‌افزار GraphPad PRISM 6 بررسی و تحلیل شدند.

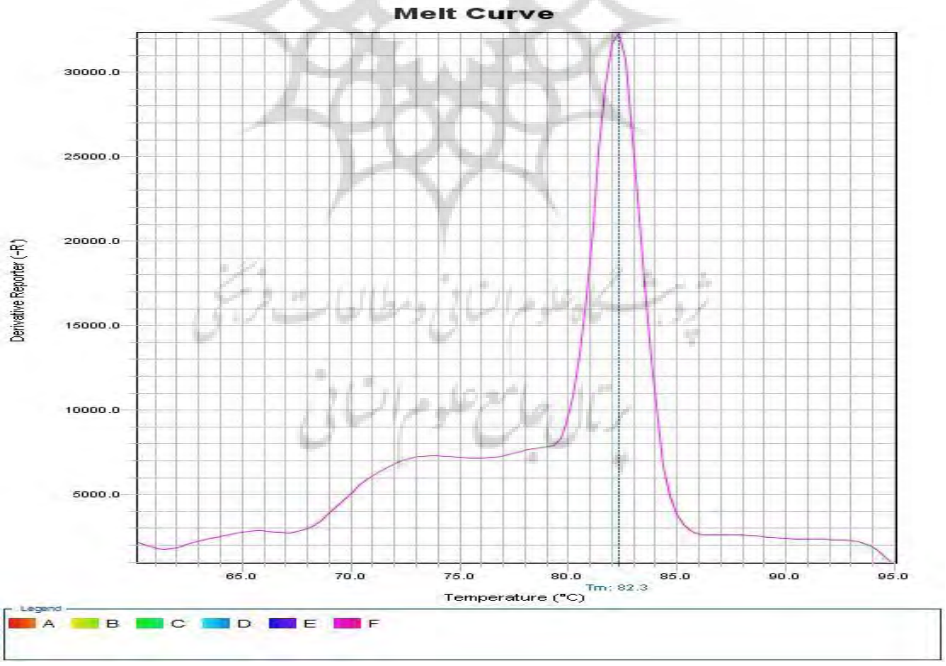
پرتال جامع علوم انسانی

جدول ۲- توالی پرایمرهای مطالعه‌شده در پژوهش

Table 2- Sequence of primers studied in the study

Gene	Forward/Reverse	Pii mrr (5'⟶ 3')	Accession Number
MME	F	GCCTCAGCCGAAACTACAAG	XM_017590630.1
	R	ATAAAGCCTCCCCACAGCAT	
IDE	F	AACACTCTGCGTACCAAGGA	XM_017588831.1
	R	AGAAGGCTTCCACTCTGCTT	
LRP-1	F	CTACAACGAGTTTGCCAGCC	XM_008765393.1
	R	GTTTCCCAGTCGGTCCAGTA	
GAPDH	F	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	XM_017593963.1
	R	CATACTCAGCACCAGCATCACC	

MME: membrane metallo-endopeptidase (Neprilysin); IDE: insulin degrading enzyme; LRP-1: low density lipoprotein receptor-related protein 1; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; F: forward primer; R: reverse primer



شکل ۲- نمونه نمودار منحنی دمای ذوب ژن IDE

(وجود یک انحنا در این نمودار نشان‌دهندهٔ دمای ذوب منحصر است که نبود آلودگی در نمونه و عملکرد اختصاصی پرایمرها را نشان می‌دهد.)

Figure 2 - Sample diagram of the melting temperature curve of IDE gene
(The presence of a curvature in this diagram indicates the unique melting temperature, which indicates the absence of contamination in the sample and the specific performance of the primers.)

برای ژن‌های مطالعه‌شده در نمونه‌های بررسی‌شده، کارایی واکنش تکثیر بیان ژنی با استفاده از نرم‌افزار LinRegPCR al et Ruijter ۲۰۰۹ تعیین شد. سپس با استفاده از برنامهٔ اکسل، میزان نسبت بیان زنجیره‌های تاخورده بررسی و بر طبق فرمول فافل محاسبه شد:

$$Fola\ change = \frac{\left(E_{target}\right)^{\Delta Ct_{target(contorol-sample)}}}{\left(E_{ref}\right)^{\Delta Ct_{ref(contorol-sample)}}}\ )$$

برای آزمون حافظهٔ فضایی از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. دستگاه رفتاری شامل یک مخزن فلزی حلقوی با دیوارهٔ مشکی (به قطر ۱/۵ و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر) بود که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری آن از آب ۲ ± ۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد پر شده بود. یک سکوی مدور به قطر ۱۰ و ارتفاع ۲۸ سانتی‌متر، حدود دو سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز یکی از ربع دایره‌های ازپیش‌تعیین‌شده قرار داده شد. آزمایش‌کننده، رایانه و شکل‌های راهنمای خارج از ماز در سراسر آزمایش ثابت بودند. حرکت و رفتار حیوان به‌وسیلهٔ نرم‌افزار اتو ویژن [1]۷ و یک دوربین که در بالای مخزن قرار می‌گرفت، ردیابی و ثبت می‌شد؛ بدین‌ترتیب مسیر شنای موش در هر بار آموزش ثبت شد و مدت زمانی که طول کشید تا حیوان سکوی پلکسی گلاس (سکوی پنهان) را پیدا کند و مدت زمانی که حیوان در ربع دایرهٔ هدف گذراند، اندازه‌گیری شدند.

روش آموزش ماز آبی موریس برای بررسی یادگیری و حافظهٔ فضایی بدین‌صورت بود:

الف- سازش‌یافتن: به‌منظور عادت‌کردن به ماز، ۲۴ ساعت قبل از آموزش، رت‌ها به مدت دو دقیقه در مخزن فاقد صفحهٔ پلکسی گلاس شنا کردند.

ب- مرحلهٔ یادگیری: در این مرحله رت‌های هر سه گروه به‌مدت چهار روز متوالی و هر روز در چهار کارآزمایی جداگانه برای یافتن سکوی پنهان که در وسط ربع سوم (جنوب شرقی) قرار داشت، تحت آموزش قرار گرفتند. در شروع هر کارآزمایی، ابتدا به هر رت به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه اجازهٔ استقرار روی سکو داده شد تا حیوان فرصت داشته باشد با رؤیت علائمی از قبیل پنجره، میز و قفسه، توصیفی فضایی از محیط اطراف ماز به‌دست آورد. سپس حیوان به‌طور تصادفی از یکی از

1. Etho Vision 7

چهار جهت اصلی (شمال، جنوب، شرق و غرب) به‌نحوی داخل آب رها شد که سر حیوان به‌سمت دیوارۀ حوضچه قرار بگیرد. در این حالت حیوان شنا می‌کرد تا سکوی پنهان زیر آب را پیدا کند و روی آن قرار بگیرد. درصورتی‌که رت قادر به پیداکردن سکو در مدت ۹۰ ثانیه نبود، با دست به‌طرف آن هدایت می‌شد. پس از پیداکردن سکو، به حیوان اجازه داده می‌شد که به‌مدت ۲۰ ثانیه روی آن باقی بماند. مدت‌زمان پیداکردن سکو (تأخیر در رسیدن به سکو)، مسافت طی‌شده تا رسیدن به سکو و سرعت شناکردن (مسافت طی‌شده تقسیم بر زمان سپری‌شده) در هر بار آموزش اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. پس از آخرین کارآزمایی آموزش در هر روز، حیوان از حوضچه خارج می‌شد و با حوله خشک می‌شد و به قفس خود بازگردانده می‌شد.

آزمون پروب[1] (انتقال): یک روز بعد از آخرین روز آموزش، حافظۀ فضایی حیوانات ارزیابی شد. در این مرحله، رت‌ها در یک آزمون ۹۰ ثانیه‌ای که در طی آن سکو از داخل آب برداشته می‌شد، ارزیابی شدند و مدت زمان صرف‌شده در ربع دایرۀ هدف که قبلاً سکو در آن قرار داشت، اندازه‌گیری شد.

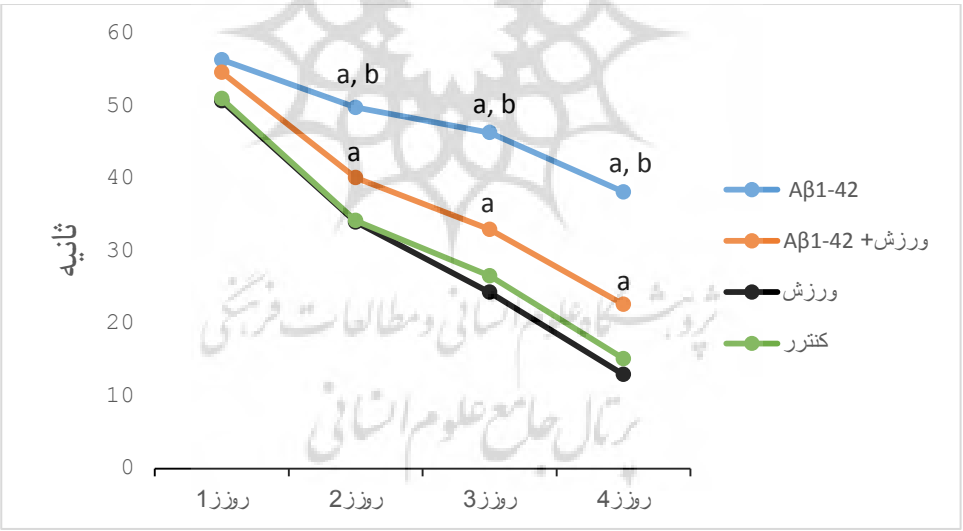
آزمون سکوی آشکار[2]: به‌منظور بررسی هماهنگی حسی-حرکتی و انگیزۀ حیوان، پس از انجام‌شدن آزمون پروب، سکو توسط یک صفحۀ سفیدرنگ مرئی شد و هم‌سطح با آب قرار گرفت تا به‌صورت واضح دیده شود. این سکو در وسط ربع دوم (منطقۀ شمال شرقی) قرار داشت و هر رت در چهار کارآزمایی به‌طور تصادفی از چهار جهت اصلی به داخل آب رها شد. سپس حیوان شنا کرد تا سکوی سفیدرنگ هم‌سطح آب را پیدا کند و روی آن قرار بگیرد. مدت زمان پیداکردن سکو در هر بار آزمون اندازه‌گیری می‌شد. درصورتی‌که حیوان در این چهار کارآزمایی قادر به پیداکردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود، از گروه خود حذف می‌شد (۲۹).

در این پژوهش برای بررسی طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف[3] استفاده شد. همچنین، آزمون لوین[4] برای بررسی برابری واریانس‌ها در گروه‌ها به‌کار رفت. به‌منظور تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه (آنوا) و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری کوچک‌تر از ۰/۰۵ به‌عنوان معناداری درنظر گرفته شد.

نتایج

1. Probe Test
2. Visible
3. Kolmogorov-Smirnov
4. Levine Test

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین گروه‌های مطالعه‌شده در اجرای آزمون سکوی آشکار تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p> 0.05$). نتایج آزمون اندازه‌گیری‌های مکرر نشان‌دهندهٔ معناداربودن روز ($F = 828.47, p < 0.001$)، گروه ($F = 76.730, P < 0.001$) و همچنین تعامل دو متغیر مستقل روز و گروه ($F = 8.265, p < 0.001$) بر زمان سپری‌شده برای یافتن سکو بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین زمان سپری‌شده برای یافتن سکو در گروه‌های مختلف در روزهای دوم ($f= 30.47, p < 0.001$)، سوم ($f = 39.924. p < 0.001$) و چهارم ($f= 96.196, p < 0.001$) تفاوت آماری معناداری وجود دارد. مدت زمان سپری‌شده بین گروه‌های آمیلوییدبتا + ورزش و گروه آمیلوییدبتا در روزهای دوم تا چهارم به‌طور معناداری از سایر گروه‌ها بیشتر بود ($p \leq 0.05$). همچنین در روزهای دوم تا چهارم گروه آمیلوییدبتا + ورزش در مقایسه با گروه آمیلوییدبتا در مدت زمان کمتری سکو را پیدا کردند ($p \leq 0.001$). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که مدت زمان سپری‌شده تا یافتن سکو بین گروه‌های ورزش و با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت ($p > 0.05$).



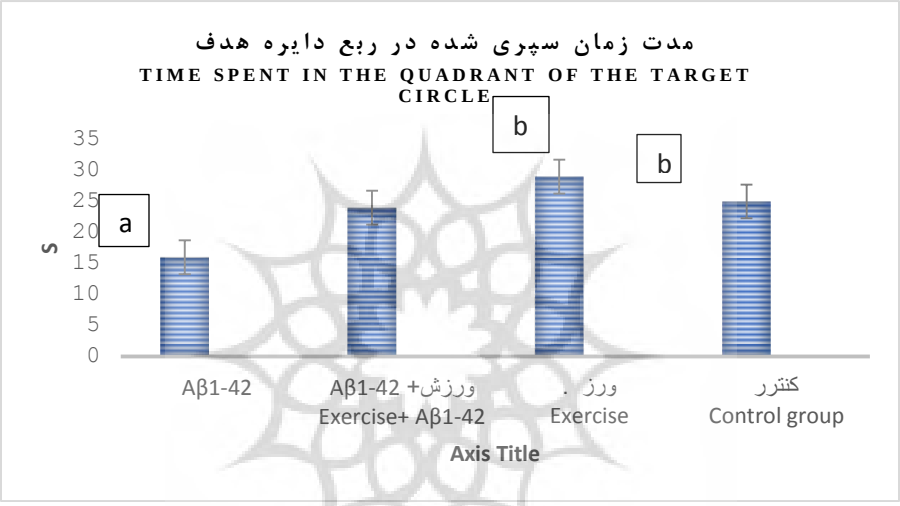
شکل ۳- میانگین زمان سپری‌شده برای یافتن سکو در گروه‌های مطالعه‌شده در مدت چهار روز آموزش ماز آبی موریس

a: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($p \leq 0.05$) ، b: تفاوت معنادار با گروه تزریق ββ ($p \leq 0.001$)

Figure 3. Average time spent finding platform in the studied groups during the four days of Mauritius water maze training.

a: sggaaaaaaa ffff rreeee ٠ tth oorrrog gopp (≤ ≤ 0.05), :: sggaaaaaaa ffff rrrrrr o dd ss sssstt oog goopp (≤ ≤ 0.001)

نتایج آزمون پروب برای بررسی حافظهٔ فضایی رت‌ها نشان داد که زمان صرف‌شده در ربع دایرهٔ هدف برای گروه‌های مختلف به‌طور معناداری متفاوت است ($f = 20.958, p \leq 0.001$). زمان سپری‌شده در ربع دایرهٔ هدف در گروه آمیلوییدبتا به‌طور معناداری از گروه‌های دیگر کمتر بود ($p \leq 0.01$).



شکل ۴- زمان سپری‌شده در ربع دایرهٔ هدف در گروه‌های مطالعه‌شده در آزمون پروب

a: تفاوت معنادار با گروه‌های دیگر ($p \leq 0.05$)، b: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($p \leq 0.05$)

Figure 4 - Time spent in the quadrant of the target circle in the groups studied in the probe test

a: ggaaaaaaa ffff rreeee wtto otrrr goopps (≤ ≤ 0.05), :: ggaaaaaaa ffff rreeee wtth oorrrog gopp (. . 0.05)

براساس نتایج مقایسهٔ سطح بیان ژن مطالعه‌شده در چهار گروه بررسی‌شده، بیان ژن GDNF در بین گروه‌های پژوهش اختلاف عینی دارند؛ به‌طوری‌که ژن GDNF در گروه تمرین بیشترین و در گروه استراحت-آمیلوئید بتا-استراحت کمترین سطح بیان را داشته است (جدول شمارهٔ سه).

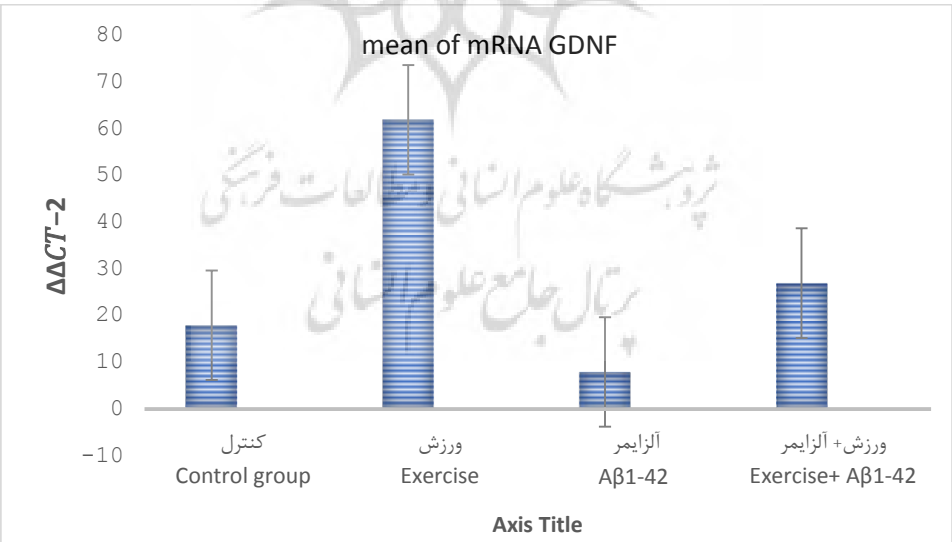
جدول ۳- بیان ژن GDNF در رت‌های نر ویستار در چهار گروه آمیلوئید بتا

Table 3. GDNF gene expression in male Wistar rats in four amyloid beta groups

نام گروه Groups	GDNF انحراف استاندارد SDstandard deviation	 میانگین Average

گروه کنترل Intact Intact control group	۰/۰۱۵۶	۰/۱۵۲
آمیلوئید بتا-(RAR) Beta-amyloid (RAR)	۰/۰۰۴۵	۰/۰۵۱
آمیلوئید بتا-تمرین (RAT) Amyloid Beta-Exercise (RAT)	۰/۰۱۳۶	۰/۲۶۴
گروه تمرین (T) Exercise group (T)	۰/۰۰۷۹	۰/۶۰۸

پس از بررسی طبیعی‌بودن داده‌های بیان ژن‌ها توسط آزمون کلموگروف اسمیرنوف، نتایج حاصل از بررسی تفاوت معنی‌دار با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که متغیرهای مستقل اعمال‌شده در این پژوهش که شامل القای آلزایمر، برنامهٔ تمرین و تزریق هستند، توانسته‌اند تأثیر معناداری بـه‌طور هـم‌زمان بر سطح بیان ژن GDNF در رت‌های چهار گروه پژوهش داشته باشند ($p < 0.001$) و ۸۸ درصد از تغییرپذیری نمرات متغیرهای بیوشیمیایی رت‌های بررسی‌شده تحت‌تأثیر اعمال متغیر مستقل قرار گرفته است. سپس برای بررسی تأثیر متغیر مستقل بر متغیر وابستهٔ از آزمون توکی استفاده شد. براساس نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌راهه، به ازای هریک از متغیرهای بیوشیمیایی حاکی از سـطح بیـان GDNF رت‌هـای چهـار گروه پژوهش دارای تفـاوت معناداری با یـکدیگـر بـودنـد ($P < 0.001$).



شکل ۵- میانگین mRNA GDNF در گروه‌های مطالعه‌شده

***: تفاوت معنادار با گروه‌های دیگر ($p \leq 0.05$)**

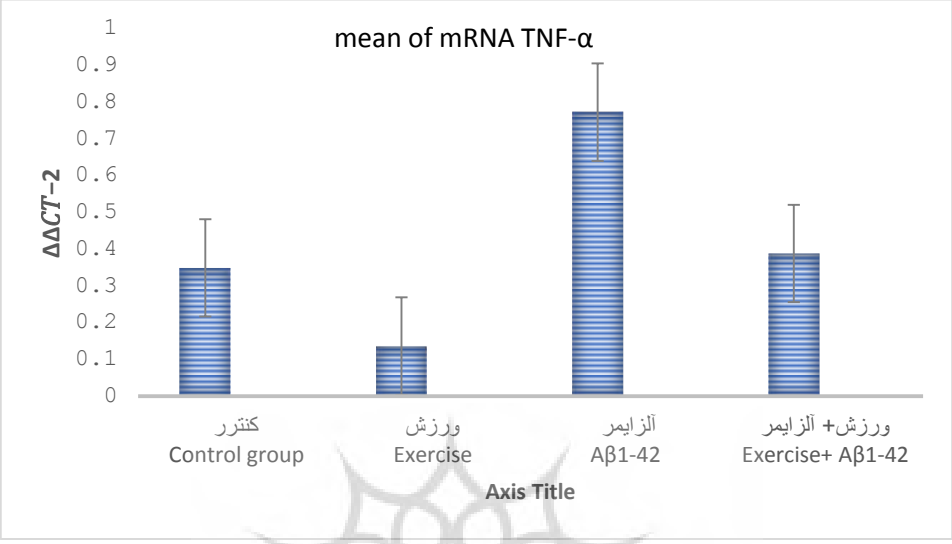
Figure 5. Mean GDNF mRNA in the groups

***: gggaaaaaaa ffff rreeee wttCCtrr goopps ($\leq \leq 0.05$)**

نتایج حاصل از بررسی تفاوت معنادار با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که متغیرهای مستقل اعمال‌شده در این پژوهش که شامل القای آلزایمر، برنامهٔ تمرین و تزریق هستند، توانسته‌اند تأثیر معناداری به‌طور هم‌زمان بر سطح بیان ژن TNF-α در رت‌های چهار گروه پژوهش داشته باشند ($p < 0.001$) و ۸۸ درصد از تغییرپذیری نمرات متغیرهای بیوشیمیایی رت‌های بررسی‌شده تحت‌تأثیر اعمال متغیر مستقل قرار گرفته است. سپس با بررسی تأثیر متغیر مستقل بر متغیر وابسته بررسی‌شده در تحلیل واریانس یک‌طرفه به‌عنوان آزمون تعقیبی، از تحلیل واریانس یک‌راهه استفاده شد. براساس نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌راهه، به ازای هریک از متغیرهای بیوشیمیایی حاکی از سطح بیان TNF-α رت‌های چهار گروه پژوهش دارای تفاوت معناداری با یکدیگر بودند ($p < 0.001$). میزان بیان ژن TNF-α در بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی داری داشت؛ به‌طوری‌که بیان TNF-α در گروه آمیلوئید بتا (آلزایمر) بیشترین سطح بیان و در گروه تمرین کمترین سطح بیان را داشته است (جدول شمارهٔ چهار).

جدول ۴- توصیف متغیرهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده در رت‌های نر ویستار در چهار گروه پژوهش

نام گروه group	TNF-α انحراف استاندارد SDstandard deviation	میانگین Average
گروه کنترل Intact control group	۰/۰۲۱۳	۰/۳۴۹
آمیلوئید بتا (RAR) Beta-amyloid (RAR)	۰/۱۲۰۱	۰/۷۷۲
آمیلوئید بتا-تمرین (RAT) Amyloid Beta-Exercise (RAT)	۰/۰۳۶۶	۰/۳۸۸
گروه تمرین (T) Exercise group (T)	۰/۰۷۰۹	۰/۱۳۶



شکل ۶- میانگین mRNA TNF-α در گروه‌های مطالعه‌شده

*: تفاوت معنادار با گروه‌های دیگر ($p \leq 0.05$)

Figure 6- Mean TNF-α mNNA tt t ee stddeg goopps

*: Significant difference with other groups ($p \leq 0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر عوامل شناختی، بیان ژن GDNF و TNF-α در هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر القاشده با Aβ-42 انجام شد.

نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌راهه به ازای هریک از متغیرهای بیوشیمیایی حاکی از این است که سطح بیان ژن GDNF در چهار گروه پژوهش تفاوت معناداری با یکدیگر داشتند؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان بیان ژن GDNF در گروه ورزش بود. همچنین میزان بیان این ژن در گروه آلزایمر + ورزش بیشتر از گروه آلزایمری شده و گروه کنترل بود. گروه آلزایمر کمترین میزان بیان را در مقایسه با سایر گروه‌ها داشت. سطح بیان ژن TNF-α رت‌های در چهار گروه پژوهش دارای تفاوت معناداری با یکدیگر بودند؛ به‌طوری‌که میزان بیان ژن TNF-α در گروه آلزایمر بیشترین مقدار را داشت. همچنین میزان بیان این ژن در گروه ورزش کمترین مقادیر را داشت. میزان بیان ژن TNF-α در گروه آلزایمر + ورزش در مقایسه با گروه آلزایمر تفاوت معناداری داشت؛ به‌طوری‌که ژن TNF-α در گروه آلزایمر + ورزش کمتر از گروه آلزایمر بود. علاوه‌براین، در آزمون‌های شناختی بین گروه‌های مطالعه‌شده تفاوت معناداری وجود داشت.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که یادگیری در هر چهار گروه پژوهش در طی روزهای آموزش ماز آبی، با کاهش زمان صرف‌شده برای رسیدن به سکو افزایش یافت؛ بااین‌حال روند یادگیری بین این گروه‌ها تفاوت داشت. با اینکه گروه‌ها در زمان سپری‌شده برای رسیدن به سکو در روز اول تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند، گروه آلزایمر کمترین میزان یادگیری در روزهای دوم تا چهارم داشت.

همسو با مطالعهٔ حاضر مک‌کالا[1] و همکاران (۳۰) نشان دادند که دو هفته ورزش هوازی با شدت ۱۰ متر بر دقیقه به‌مدت ۴۵ دقیقه در روز و پنج جلسه در هفته باعث افزایش بیان سطوح پروتئینی GDNF در بصل‌النخاع می‌شود. به‌تازگی رویلا[2] و همکاران گزارش کردند (۳۱) که در موش‌های آلزایمری شده مدل 3xTgAD میزان بیان GDNF کاهش می‌یابد و پس از ده ماه ورزش‌کردن اختیاری میزان بیان این تروفیک فاکتور افزایش می‌یابد که موجب بهبود در یادگیری و حافظه می‌شود. آن‌ها پیشنهاد دادند که اثرات محافظت نورونی GDNF ناشی از افزایش بیان تروفیک فاکتور BDNF است. علاوه‌براین عظیمی و همکاران (۳۲) نشان دادند که میزان بیان BDNF در هیپوکمپ رت‌های مبتلا به آلزایمر پس از هشت هفته تمرین هوازی افزایش یافته است و همسو با مطالعهٔ حاضر منجر به بهبود یادگیری و حافظه در رت‌های مبتلا به آلزایمر شده است؛ بنابراین افزایش بیان ژن GDNF و بهبود یادگیری می‌تواند تحت‌تأثیر مدت زمان مواجهه با مداخلات ورزشی و همچنین ناشی از اثرات سایر عوامل تغذیه‌ای عصب باشد (۳۲).

مارکسنتیر[3] و همکاران (۱۴) نشان دادند که مقادیر پلاسمایی GDNF در افراد مبتلا به آلزایمر خفیف افزایش می‌یابد. همچنین مطالعه‌ای دیگر نشان داد که در افراد مبتلا به مراحل اولیهٔ آلزایمر مقادیر GDNF در مایع مغزی نخاعی افزایش و در مقادیر سرمی کاهش می‌یابد (۱۱). این مطالعات پیشنهاد می‌دهند که بین سیستم مرکزی و محیطی تعادل وجود دارد و برهم‌کنش کمیتی وجود دارد که بر یکدیگر اثر می‌گذارند. در مطالعهٔ حاضر نیز مقادیر mRNA GDNF در هیپوکمپ در گروه آلزایمری شده و گروه ورزش افزایش یافت که می‌تواند ناشی از این تعادل باشد.

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که Aβ باعث کاهش بیان تروفیک فاکتورها می‌شود. از طرف دیگر مشخص شده است که پاک‌سازی Aβ در بیماری آلزایمر باعث افزایش بیان نروتروفیک فاکتورها و درنتیجه حفظ و بقای سلول‌های عصبی می‌شود (۲۹) به‌علاوه خدادادی و همکاران (۳۳) نشان دادند فعالیت ورزشی هوازی منظم باعث افزایش پاک‌سازی Aβ می‌شود که این کاهش بار آمیلوییدی نیز می‌تواند عامل مهم دیگری در افزایش بیان ژن GDNF باشد.

1. McCullough
2. Revilla
3. Marksteiner

در مطالعهٔ حاضر میزان افزایش بیان ژن GDNF در گروه‌های ورزش و آلزایمر + ورزش در مقایسه با گروه آلزایمر تفاوت معناداری داشت. مشخص شده است که در بیماری آلزایمر افزایش التهاب باعث کاهش بیان تروفیک فاکتورها می‌شود. تمرین هوازی به‌عنوان یک عامل قوی می‌تواند در تکثیر سلولی عوامل تغذیه‌ای (۳۴) و سرکوب عوامل تسریع‌کننده در روند بیماری‌های تخریب نورونی ازجمله التهاب ناشی از فعالیت میکروگلیا و مهار گیرنده‌های NMDA نقش داشته باشد. همسو با مطالعهٔ حاضر، وو[1] و همکاران (۳۵) نشان دادند که افزایش بیان GDNF از آستروگلیاها باعث کاهش التهاب و همچنین مهار گیرنده‌های NMDA می‌شود که درنهایت باعث بهبود حافظه و یادگیری می‌شود.

در این پژوهش ما مقدار بیان ژن سایتوکاین اصلی پیش‌التهابی mRNA TNF-α را در هیپوکمپ رت‌های نر ویستار اندازه‌گیری کردیم. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که ورزش می‌تواند بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی را تغییر دهد (۳۷، ۳۶). گزارش شده است که تمرین‌های ورزشی پیش‌رونده به کاهش غلظت عوامل پیش‌التهابی ازجمله IL-1β در هیپوکمپ و مخچه منجر می‌شوند (۳۶). از طرف دیگر، سایر پژوهش‌ها هیچ تفاوت معناداری را در بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی ازجمله IL-1β,IL6 و TNF-α در بین موش‌های جوان بی‌تحرک و ورزش‌کرده مشاهده نکرده‌اند (۳۹، ۳۸)؛ باوجوداین باید به این نکته اشاره کرد که کاهش نسبت در عوامل پیش‌التهابی به التهابی IL1β/IL10, IL6/IL۱0 و TNFα/IL10 در موش‌های مسن در گروه‌های ورزش در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شده است (۴۰). در مطالعهٔ حاضر نیز میزان بیان ژن TNF-α در گروه ورزش در مقایسه با گروه آلزایمری شده کاهش معنادار داشت که اثرات ضدالتهابی ورزش را نشان می‌دهد. در این پژوهش نشان داده شد که مقادیر بیان ژن TNF-α در گروه آلزایمر + ورزش به‌سمت سطوح پایه (کروه کنترل) تقلیل یافته است. سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌توانند اثرات مثبت و منفی داشته باشند. این اثرات به چند عامل بستگی دارد؛ ازجمله نوع سایتوکاین تولیدشده، سطح عملکردی، نوع سلول تحریک‌شده و غلظت و مدت زمان مواجههٔ سایتوکاین‌ها. در مغز آلزایمری شده مشخص شده است که ورزش مقادیر سایتوکاین‌های ضدالتهابی را افزایش می‌دهد (۴۱). همسو با مطالعهٔ حاضر، عظیمی و همکاران (۴۲) نشان دادند که تمرین هوازی مقادیر سایتوکاین‌های ضدالتهابی و عوامل تغذیه‌ای سلول عصبی ازجمله BDNF و GDNF را افزایش می‌دهد و عملکردهای شناختی در موش‌های آلزایمری شده بهبود می‌یابد. همان‌طورکه توضیح داده شد،

1. Wu

سایتوکاین‌های ضدالتهابی در مغز آلزایمری‌شده به‌طور معناداری کاهش می‌یابد (۴۳). این کاهش بیان در عوامل ضدالتهابی را به‌خاطر افزایش در بیان سایتوکاین‌های التهابی و آسیب نورونی توصیف کرده‌اند (۴۴). درواقع پژوهش‌ها پیشنهاد داده‌اند که کاهش در IL-10 در مغز پیر ممکن است به نقص عملکرد و آسیب پذیری نورونی منتج شود (۴۶، ۴۵). در این پژوهش ما مشاهده کردیم که چهار هفته تمرین هوازی پیش‌رونده سطوح IL-10 را در هیپوکمپ موش‌های آلزایمری شده افزایش می‌دهد. این افزایش بیان در عوامل ضدالتهابی و کاهش در عامل پیش‌التهابی TNF-α با بهبود عملکرد شناختی در موش‌های گروه آلزایمری شده + ورزش همراه بوده است. اهمیت پاسخ ضدالتهابی ورزش ظرفیت درمانی ورزش را برای نبود تعادل التهابی و همچنین کاهش خطر اختلالات مرتبط با التهاب نورونی نشان می‌دهد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که یادگیری در هر چهار گروه پژوهش در طی روزهای آموزش ماز آبی، با کاهش زمان صرف‌شده برای رسیدن به سکو افزایش یافت؛ بااین‌حال روند یادگیری بین این گروه‌ها تفاوت داشت. با اینکه گروه‌ها در زمان سپری‌شده برای رسیدن به سکو در روز اول تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند، گروه آلزایمر کمترین میزان یادگیری در روزهای دوم تا چهارم داشت. گروه آلزایمری شده که به ورزش پرداخته بودند، در مقایسه با گروه آلزایمر یادگیری بهتری داشتند. بهبود یادگیری فضایی در اثر تمرین در موش‌های پیر (۴۷) و مبتلا به آلزایمر پیش‌تر گزارش شده است (۴۸). از سوی دیگر، نبود تغییر درخور توجه در زمان صرف‌شده برای رسیدن به سکو در گروه‌های ورزشی در مقایسه با گروه کنترل به این نکته اشاره دارد که در حالت طبیعی، یادگیری فضایی در ماز آبی تحت‌تأثیر فعالیت ورزشی قرار نمی‌گیرد. این مشاهده با پژوهش خورشیداحمد و همکاران (۲۹) همسوست که تأثیرنداشتن تمرین ورزشی بر یادگیری فضایی در ماز آبی را در حیوانات سالم گزارش کرده‌اند؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد زمانی که تخریب درخور ملاحظه‌ای در یادگیری رخ داده باشد، اثرات مثبت ورزش برجسته‌تر است. افزایش نورون‌زایی، سیناپس‌ها و شکل‌پذیری سیناپس‌ها، افزایش سطوح عوامل تغذیه‌ای عصبی در نقاط مختلف مغزی به‌خصوص در هیپوکمپ ازجمله عوامل شناخته‌شده در بهبود عملکرد شناختی به‌دنبال تمرین ورزشی هستند (۵۰، ۴۹).

پژوهش حاضر چند محدودیت داشت؛ ازجمله عدم بررسی میزان سایر بیومارکرهایی که تحت‌تأثیر فعالیت ورزشی قرار می‌گیرند و بر یادگیری تأثیر می‌گذارند. مشخص شده است که سطوح سرمی IGF-1 با عملکرد شناختی مغز رابطهٔ مستقیم دارد که پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی میزان این فاکتور نیز سنجیده شود (۵۱). بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر مقادیر محیطی نروتروفین‌ها

به‌خصوص در عضلهٔ اسکلتی و رابطهٔ آن‌ها با یادگیری نیز از دیگر پیشنهادهای پژوهشی برای پژوهشگران آینده است.

پیام مقاله: نتایج حاصل از مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که تمرین هوازی می‌تواند نقش بسزایی در بهبود یادگیری و همچنین افزایش بیان ژن‌های عامل تغذیه‌ای عصب در هیپوکمپ رت‌های آلزایمری شده به‌ویژه GDNF و کاهش عوامل التهابی داشته باشد که درنهایت به بهترشدن حافظه و یادگیری کمک می‌کند.

منابع

1. Heneka MT, O'Banion MK. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. Journal of Neuroimmunology. 2007;184(1-2):69-91. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17222916/
2. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. Physiological Reviews.2001;81(2):741-66. https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.2001.81.2.741
3. Cunningham C. Microglia and neurodegeneration: the role of systemic inflammation. Glia. 2013;61(1):71-90. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22674585/
4. Marsland AL, Gianaros PJ, Abramowitch SM, Manuck SB, Hariri AR. Interleukin-6 covaries inversely with hippocampal grey matter volume in middle-aged adults. BiolPsychiatry.2008;64(6):484-90. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2562462/
5. J.A. Funk, J. Gohlke, A.D. Kraft, C.A. McPherson, J.B. Collins, G.J. Harry Voluntary exercise protects hippocampal neurons from trimethyltin injury: Possible role of interleukin-6 to modulate tumor necrosis factor receptor-mediated neurotoxicity Brain, Behavior, and Immunity. 2011;25:1063-1077. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21435392/
6. Kesler S, Janelsins M, Koovakkattu D, Palesh O, Mustian K, Morrow G, Dhabhar FS. Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in chemotherapy-treated breast cancer survivors. Brain Behav Immun. 2013;30(Suppl):S109–16. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22698992/
7. De Felice FG. Alzheimer’s disease and insulin resistance: translating basic science into clinical applications. J Clin Invest. 2013;123:531–9. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23485579/
8. Mattson MP. Energy intake and exercise as determinants of brain health and vulnerability to injury and disease. Cell Metab. 2012;16:706–22Ohwatashi A, Ikeda S, Harada K, Kamikawa Y, Yoshida A. Exercise enhanced functional recovery and expression of GDNF after photochemically induced cerebral infarction in the rat. EXCLI Journal. 2013;12:693https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23168220/.

9. Dobos N, Korf J, Luiten P, Eisel U. Neuroinflamma tion in Alzheimer's disease and Major Depression .Biol Psychiatry. 2010;67:503–504. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20185031
10. Diniz BS, Teixeira AL, Ojopi EB, Talib LL, Mendonça VA, Gattaz WF, Forlenza OV. Higher serum sTNFR1 level predicts conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2010;22:1305-11. 93-102. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20930310/
11. Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. Neurobiology of Disease. 2012;45(3):1153-62. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22227452/
12. Lin T-W ,Shih Y-H, Chen S-J, Lien C-H, Chang C-Y, Huang T-Y, et al. Running exercise delays neurodegeneration in amygdala and hippocampus of Alzheimer's disease (APP/PS1) transgenic mice. Neurobiology of Learning and Memory. 2015;118:189-97. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25543023/
13. Airaksinen MS, Saarma M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. Nature Reviews Neuroscience. 2002;3(5):383 - 94https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1476558617304475.
14. Marksteiner J, Kemmler G, Weiss EM, Knaus G, Ullrich C, Mechtcheriakov S, et al. Five out of 16 plasma signaling proteins are enhanced in plasma of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging. 2011;32(3):539-40https://europepmc.org/article/med/19395124
15. Straten G, Saur R, Laske C, Gasser T, Annas P, Basun H, et al. Influence of lithium treatment on GDNF serum and CSF concentrations in patients with early Alzheimer's disease. Current Alzheimer Research. 2011;8(8):853-9. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21875410/
16. Sullivan AM, O'Keeffe GW. Neurotrophic factor therapy for Parkinson's disease: past, present and future. Neural regeneration Research. 2016;11(2):25-7. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27073356/
17. Ohwatashi A, Ikeda S, Harada K, Kamikawa Y, Yoshida A. Exercise enhanced functional recovery and expression of GDNF after photochemically induced cerebral infarction in the rat. EXCLI Journal. 2013:12:693-700. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4653718/
18. Wick M, Teng L, Mu X, Springer JE, Davis BM. Overexpression of GDNF induces and maintains hyperinnervation of muscle fibers and multiple end-plateformations. Exp Neurol. 2001;171:342-50. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3637874/
19. Airavaara M, Pletnikova O, Doyle ME, Zhang YE, Troncoso JC, Liu Q-R. Identification of novel GDNF isoforms and cis-antisense GDNFOS gene and their regulation in human middle temporal gyrus of Alzheimer disease. Journal of BiologicalChemistry.2011;286(52):45093-102. https://europepmc.org/article/pmc/pmc3247946
20. Palasz E, Folcik R, Gasiorowska A, Niewiadomski W, Niewiadomska G. Treadmill training lessens dopaminergic deficiency, enhances BDNF and GDNF biosynthesis, and reduces brain inflammation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease.

Parkinsonism & Related Disorders. 2018;46:e41. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32050617/
21. Campos C, Rocha NB, Lattari E, Paes F, Nardi AE, Machado S. Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. Expert Review of Neurotherapeutics. 2016;16(6):723-34. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27086703/
22. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. Physiology & Behavior. 2015;147:78-83. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25868740/
23. Piotrowicz Z, Chalimoniuk M, Płoszczyca K, Czuba M, Langfort J. Acute normobaric hypoxia does not affect the simultaneous exercise-induced increase in circulating BDNF and GDNF in young healthy men: A feasibility study. PloS One.2019Oct23;14(10):e0224207. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6808427/
24. Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. Neurobiology of Disease.2012;45(3):1153-62. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22227452/
25. Mohammadpour JD, Hosseinmardi N, Janahmadi M, Fathollahi Y, Motamedi F, Rohampour K. Non-selective NSAIDs improve the amyloid-β-mediated suppression of memory and synaptic plasticity. Pharmacology Biochemistry and Behavior.2015;132:33-41. https://europepmc.org/article/med/25697476
26. BÜTTNER-ENNEVER, JEAN. "The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 3rd edn." Journal of Anatomy vol. 191,Pt 2 (1997): 315–317. anatomy/issue/216538F2232A9165439EA8FCC0F8A5BB
27. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. Methods. 2001;25(4):4028https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11846609/.
28. Campos C, Rocha NB, Lattari E, Paes F, Nardi AE, Machado S. Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. Expert Review of Neurotherapeutics. 2016;16(6):723-34. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27086703/
29. Khorshidahmad T, Tabrizian K, Vakilzadeh G, Nikbin P, Moradi S, Hosseini-Sharifabad A, et al. Interactive effects of a protein kinase AII inhibitor and testosterone on spatial learning in the Morris water maze. Behavioural Brain Research. 2012;228(2):432-9. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22209852/
30. McCullough MJ, Gyorkos AM, Spitsbergen JM. Short-term exercise increases GDNF protein levels in the spinal cord of young and old rats. Neuroscience.2013;240:258-68. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23500094/
31. Revilla S, Ursulet S, Álvarez-López MJ, Castro-Freire M ,Perpiñá U, García-Mesa Y, et al. Lenti-GDNF gene therapy protects against Alzheimer's disease-like

neuropathology in 3xTg-AD mice and MC65 cells. CNS Neuroscience & Therapeutics. 2014;20(11):961-72. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25119316/

32. Azimi M, Gharakhanlou R, Naghdi N, Khodadadi D, Heysieattalab S. Moderate treadmill exercise ameliorates amyloid-β-induced learning and memory impairment, possibly via increasing AMPK activity and up-regulation of the PGC-1α/FNDC5/BDNFpathway.Peptides2018;102:78-88. https://europepmc.org/article/med/29309801

33. Khodadadi D, Gharakhanlou R, Naghdi N, Salimi M, Azimi SM, Shahed A. The effect of 4 weeks of exercise preconditioning on soluble amyloid beta level and memory impairment in rats with Alzheimer's disease induced by Aβ1-42 injection. Razi Journal of Medical Sciences. 2018;24(165):74-84. http://jarums.arums.ac.ir/browse.php?a_id=1913&sid=1&slc_lang=en&ftxt=1
34. Sim Y-J. Treadmill exercise alleviates impairment of spatial learning ability through enhancing cell proliferation in the streptozotocin-induced Alzheimer's disease rats. Journal of exercise rehabilitation. 2014;10(2):81-8. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24877042/
35. Wu H-M, Tzeng N-S, Qian L, Wei S-J, Hu X, Chen S-H, et al. Novel neuroprotective mechanisms of memantine: increase in neurotrophic factor release from astroglia and anti-inflammation by preventing microglial activation. Neuropsychopharmacology.2009;34(10):2344-57. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19536110/
36. Chennaoui M, Drogou C, Gomez-Merino D: Effects of physical training onIL-1beta, IL-6 and IL-1ra concentrations in various brain areas of the rat. Eur Cytokine Netw. 2008;19:8–14. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18299269/
37. Dobos N, Korf J, Luiten P, Eisel U. Neuroinflamma tion in Alzheimer's disease and Major Depression .Biol Psychiatry. 2010;67:503–504. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20185031/
38. Colbert LH, Davis JM, Essig DA, Ghaffar A, Mayer EP: Tissue expression and plasma concentrations of TNFalpha, IL-1beta, and IL-6 following treadmill exercise in mice. IntJSportsMed.2001;22:261–7. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11414667/
39. Mota BC, Pereira L, Souza MA, Silva LF, Magni DV, Ferreira AP, et al. Exercise pre-conditioning reduces brain inflammation and protects against toxicity induced by traumatic brain injury: behavioral and neurochemical approach. Neurotox Res.2012,21:175–84https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21735317/.
40. Gomes da Silva, Sérgio et al. "Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats." Journal of neuroinflammation vol. 10 61. 10 May. 2013, doi:10.1186/1742-2094-10-61https://www.proquest.com/docview/1355171745
41. Godbout JP, Johnson RW: Age and neuroinflammation: a lifetime of psychoneuroimmune consequences. Immunol Allergy Clin North Am.2009;29:32137 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19389585/
42. Azimi M, Gharakhanlou R, Naghdi N, Khodadadi D, Heysieattalab S. Moderate treadmill exercise ameliorates amyloid-β-induced learning and memory impairment, possibly via increasing AMPK activity and up-regulation of the PGC-

1α/FNDC5/BDNFpathway.Peptides2018;102:78-88. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29309801/
43. Ye SM, Johnson RW: An age-related decline in interleukin-10 may contribute to the increased expression of interleukin-6 in brain of aged mice. Neuroimmunomodulation2001;9:183–92. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11847480/
44. Viviani B, Boraso M: Cytokines and neuronal channels: a molecular basis for age-related decline of neuronal function? Exp Gerontol.2011;46:199206https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20869430/
45. Grilli M, Barbieri I, Basudev H, Brusa R, Casati C, Lozza G, Ongini E: Interleukin-10 modulates neuronal threshold of vulnerability to ischaemic damage. Eur J Neurosci. 2000;12:2265–2272. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10947805/
46. Krzyszton CP, Sparkman NL, Grant RW, Buchanan JB, Broussard SR, Woods J, Johnson RW: Exacerbated fatigue and motor deficits in interleukin-10 -deficient mice after peripheral immune stimulation. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008;295:R1109–R1114.
47. Kennard J, Woodruff-Pak DS. Aging and exercise effects on motor learning and spatial memory. Ageing Res [Internet]. 2011Apr.13 [cited 2021Feb.18];2(1):e2. https://www.pagepress.org/journals/index.php/ar/article/view/ar.2011.e2
48. Xiong J, Li S, Sun Y, Zhang X, Dong Z, Zhong P, et al. Long-term treadmill exercise improves spatial memory of male APPswe/PS1dE9 mice by regulation of BDNF expression and microglia activation. Biology of Sport. 2015;32(4):295-300 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4672160/.
49. Sahay A, Scobie KN, Hill AS, O'Carroll CM, Kheirbek MA, Burghardt NS, Fenton AA, Dranovsky A, Hen R. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. Nature. 2011;472(7344):466-470. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21460835/
50. Voss MW, Soto C, Yoo S, Sodoma M, Vivar C, van Praag H. Exercise and hippocampal memory systems. Trends in Cognitive Sciences. 2019; Apr;23(4):318,333. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30777641/
51. Campos C, Rocha NB, Lattari E, Paes F, Nardi AE, Machado S. Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. Expert Review of Neurotherapeutics. 2016;16(6):723-34. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27086703/

استناد به مقاله

قاسمی پیمان، قراخانلو رضا، ملانوری شمسی مهدیه، خدادادی داور. تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر بیان ژن فاکتور تغذیه‌ای مشتق‌شده از سلول‌های گلیال، TNF-α و عوامل شناختی در هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر القاشده با آمیلوییید بتا. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۴۰۰؛ ۱۳(۴۹): ۱۶۹-۹۸. شناسهٔ دیجیتال: 10.22089/spj.2020.2280.1923

Ghasemi P, Gharakhanlo R, Molanouri Shamsi M, Khodadadi D. The Effect of 4 Weeks Aerobic Exercise on Gene Expression of Glial Cell_Derived Neurotrophic Factor, TNF-α and Cognition in Rat’s Hippocampus with Alzheimer's Disease Induced by Amyloid Beta. Sport Physiology. Spring 2021; 13 (49): 169-98. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2020.2280.1923

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی