زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۱۷۲- ۱۶۱

مقاله پژوهشی

اثر تمرین استقامتی بعد از القای آلزایمر بر برخی عوامل مرتبط با نوروپلاستیسیته در هیپوکمپ موش‌های نر نژاد ویستار

سجاد رجبی امیری، علیرضا براری*، احمد عبدی

گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

*مسئول مکاتبات: alireza54.barari@gmail.com

DOI: 10.22034/ascij.2021.687842

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۱

چکیده

میلیون‌ها نفر در سراسر جهان به بیماری آلزایمر مبتلا هستند و با رشد نامتناسب جمعیت مسن، این بیماری که رایج‌ترین شکل زوال عقل در میان افراد مسن است، در حال تبدیل شدن به یک بحران سلامتی عمومی است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین استقامتی قبل و بعد از القای آلزایمر بر برخی عوامل مرتبط با نوروپلاستیسیته در هیپوکمپ موش‌های نر نژاد ویستار بود. ۳۲ سر رت نر بالغ ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۷ ± ۲۵۰ گرم، قبل از القای آلزایمر به صورت تصادفی به ۲ گروه استراحت (۱۶ سر) و تمرین (۱۶ سر) تقسیم شدند. پس از ٤ هفته (هفته اول و دوم با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای، هفته سوم با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای و در هفته چهارم با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای)، هر گروه به دو زیرگروه: ۱. تزریق آمیلوئیدبتا و ۲. بدون تزریق تقسیم شدند. پس از ۷۲ ساعت حیوانات کشته و هیپوکمپ آن ها جهت بررسی برداشته شد. بیان ژن BDNF، PKG و cGMP با روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها به روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شدند. نتایج نشان داد که سطح BDNF ، PKG و cGMP در گروه تمرین نسبت به گروه استراحت در مرحله بعد از القای آلزایمر به طوری معنی داری بیشتر بود ($p =۰/۰۰۱$). با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد تمرین هوازی می‌تواند به بهبود نوروپلاستیسیته در هیپوکمپ موش‌های آلزایمری کمک کند.

کلمات کلیدی: آلزایمر، BDNF، PKG، cGMP، هیپوکمپ.

مقدمه

برآوردهای کنونی حاکی از آن است که حدود ۳۳/۹ میلیون نفر در سراسر جهان به بیماری آلزایمر مبتلا هستند. با رشد نامتناسب جمعیت مسن، AD که رایج‌ترین شکل زوال عقل در میان افراد مسن است، آمادهٔ تبدیل شدن به یک بحران سلامتی عمومی است. پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰ شیوع AD به بیش از ۱۰۰ میلیون نفر برسد (۲). به احتمال زیاد رسوب Aβ در مغز به عنوان پلاک‌های پیری و آنژیوپاتی آمیلوئیدی مغزی (CAA) آبشاری از رویدادها را آغاز می‌کند که موجب شروع بیماری می‌شود (۱۷). اختلال سیناپس پس از افزایش Aβ با تنظیم منفی مسیر سیگنالینگ وابسته به گوانوزین مونوفسفات حلقوی

(cGMP) و پروتئین پاسخ‌دهنده به اتصال اجزای cAMP (pCREB) مرتبط می‌باشد (۲۷).

cGMP و cAMP پیامبرهای ثانویه‌ای هستند که انتقال پیام را در سیستم‌های مختلف بیولوژیکی هدایت می‌کنند. آنها به سیگنال‌های خارج سلولی (انتقال دهنده‌های عصبی، هورمون‌ها، سیگنال‌های بویایی) پاسخ می‌دهند و منجر به فعال شدن اهداف داخل سلولی مانند کانال‌های یونی، کینازها و عوامل رونویسی می‌شوند که سبب پاسخ سلولی به پیام می‌شود. پیام‌های خارج سلولی توسط نوکلئوتیدها به یکی از پروتئین‌های اثرگذار منتقل می‌شود. این پروتئن‌ها شامل: PKA و PKG هستند که باعث فسفوریلاسیون دیگر آنزیم‌ها با فاکتورهای نسخه‌برداری می‌شوند.cGMP در انتقال سیگنال نورونی درگیر است و پیشنهاد شده است که در یادگیری و حافظه مشارکت دارد (۱۱).

در مغز موش بالغ، cGMP به طور عمده در سیستم کولینرژیک حضور دارد. همچنین شواهد روشن وجود دارد که cGMP هیپوکامپی، برخلاف cAMP، در مراحل اولیه تثبیت حافظه در موش‌های صحرایی بالغ درگیر می‌باشد (۲۶).

از طرفی نوروتروفین‌ها مهمترین عوامل نروتروفیکی شناخته شده در سیستم عصبی هستند که خانواده مهم و برجسته ای از عولما رشد پلی پپتیدی محسوب می‌شود و بر تکثیر، بقاء و مرگ سلول‌های عصبی و غیرعصبی تاثیر می گذارند. خانواده نوروتروفین‌های پلی پپتیدی مترشحه شامل عامل رشد عصبی (NGF)، عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، نوروتروفین ۳ (NT3) و نوروتروفین ٤ (NT4) هستند (۱۹). عامل نوروتروفیک مشتق از مغز پروتئین مترشحه با وزن مولکولی ۲۷ کیلو دالتون است. این عامل رشد عصبی، نقش تنظیمی در تمایز سلول‌های عصبی، شکل‌پذیری سیناپس و روندهای مرگ سلولی ایفا می کند و اثر خود را از طریق دو گیرنده پروتئینی تیروزین کیناز و گیرنده عامل رشد عصب با میل ترکیبی کم در سطح سلول اعمال می کند (۲٤).

مطالعات نشان می‌دهند فعالیت بدنی می‌تواند خطر ادراک و زوال عقل را کاهش دهد (۲۸). اگرچه نتایج تاثیر تمرین بر سطح BDNF در نمونه‌های مبتلا به آلزایمر متناقض می‌باشد. زارع و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهشی به بررسی اثر هشت هفته تمرین استقامتی بر سطح سرمی BDNF در رت‌های ماده مبتلا به آلزایمر پرداختند. نتایج نشان داد که تمرین استقامتی میزان سرمی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز را افزایش می‌دهد (۳٤). با این حال، عارفی و همکاران (۱۳۹۵) نیز تاثیر تمرین هوازی بر با سرعت ۲۰ متر در دقیقه (با شدت ۵۵-۵۰ درصد VO2max)، به مدت ٦۰ دقیقه در هر جلسه و ۵ روز در هفته روی نوار گردان سطح BDNF هیپوکامپ موش‌های آلزایمری شده تأثیر معنی‌دار نداشت (۱۵). از طرفی، تأثیر تمرین بر تغییرات cGMP و مسیرهای پایین دست آن به درستی مشخص نیست.

با این که داروهای متعددی برای مقابله با بحران آلزایمر ارائه شده است، درمان‌های فعلی به دلیل کارایی محدود، عوارض جانبی قابل‌توجه و به طور کلی عدم تغییر چشمگیر در مسیر AD، ناکام مانده‌اند (۲۲). در حالی که مطالعات بیشتری برای شناسایی درمان‌های دارویی موثر نیاز است، شیوع فزایندهٔ AD و افزایش هزینهٔ مراقبت‌های بهداشتی، روش‌های در دسترس و کارآمد برای مقابله با این بیماری را می‌طلبد (۱). همراه با نبود درمان متداولی که بتواند این بیماری را متوقف کند، انگیزه بزرگی به سمت تلاش‌های مربوط به تشخیص اولیه و پیشگیری از AD وجود دارد. عادات شیوه زندگی که به طور بالقوه می‌تواند از پیشرفت بیماری جلوگیری کرده یا آن را کند نماید، به طور ویژه‌ای مهم است (۲۳). تاکنون مطالعه-

ای در مورد تأثیر تمرین بر تغییرات cGMP و مسیرهای پایین دست آن گزارش نشده است. بنابراین، با توجه به آثار مثبت متعددی که ورزش می‌تواند بر پیشگیری و حتی درمان AD داشته باشد، و ابهامات در مورد تغییرات بار Aβ مغزی و مسیرهای دخیل در آن بدنبال ورزش، و همچنین عدم مطالعه تأثیر تمرین در این زمینه، پژوهش حاضر قصد دارد به بررسی اثر تمرین استقامتی بعد از القای آلزایمر بر برخی عوامل مرتبط با نوروپلاستیسیته در هیپوکمپ موش‌های نر نژاد ویستار بپردازد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۳۲ سر رت نژاد ویستار نر در سن ۸ هفتگی با میانگین وزنی ۲۵۰±۱۷/۲۰ از موسسه انستیتو پاستور تهیه شد. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات بخش فیزیولوژی و فارموکولوژی موسسه پاستور در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ٦ صبح و شروع خاموشی ٦ عصر) دما (۳±۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ٤٥ درصد) نگهداری شدند. تعداد سه تا پنج عدد رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس به گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری و یک هفته به منظور آشناسازی با نوارگردان (۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و پنج روز در هفته)، رت‌ها به روش تصادفی ساده به ۲ گروه تقسیم شدند:

۱) گروه اول: شامل ١٦ سر رت ۱۰ هفته‌ای بود که به مدت ٤ هفته و هر هفته ٥ جلسه تمرین استقامتی پیش‌آماده‌سازی انجام دادند. پس از گذشت ٤ هفته رت ها به صورت تصادفی به دو گروه ۱. تزریق بتا آمیلوئید (۸ سر) ۲. بدون تزریق بتا آمیلوئید (۸ سر) تقسیم‌بندی شدند. لازم به ذکر است بعد از تزریق بتا آمیلوئید ۳ روز به حیوانات اجازه ریکاوری داده شد.

۲) گروه دوم: شامل ١٦ سر رت ۱۰ هفته‌ای بود که به عنوان گروه استراحت در هیچ‌گونه فعالیتی شرکت نکرد. پس از گذشت ٤ هفته رت ها به صورت تصادفی به دو گروه ۱. تزریق بتا آمیلوئید (۸ سر) ۲. بدون تزریق بتا آمیلوئید (۸ سر) تقسیم‌بندی شدند. این گروه از شروع دوره تمرینی در هیچ فعالیت ورزشی شرکت نمی‌کردند ولی در محیط مشابه با گروه تمرین، در معرض نوارگردان قرار می‌گرفتند ولی هیچ حرکتی نمی‌کردند تا شرایط آزمایشگاهی یکسان باشد. رت‌ها تا پایان مرحله در قفس‌های خود نگه‌داری شدند. لازم به ذکر است تمامی مراحل نگهداری و کشتار رت‌ها بر اساس ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات مؤسسه پاستور انجام شد.

نحوه ایجاد آلزایمر القا شده با پپتید بتاآمیلوئید ٤٢-۱: به منظور آماده‌سازی پپتید بتاآمیلوئید ٤٢-۱، در مرحله اول بتاآمیلوئید را در محلول بافر DMSO حل کردیم تا pH آن به ۷/٤ برسد، سپس محلول حاصل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز انکوبه شد تا بتاآمیلوئید به شکل متراکم درآید و بعد در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از استراحت شبانه، حیوانات توسط تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. سپس سر حیوانات در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و با ایجاد شکافی طولی در بخش خلفی جمجمه، کانول‌های مخصوص تزریق در داخل بطن‌های جانبی در موقعیت ۰/۸ عقب برگما، ۱/٥ میلی‌متر در طرفین شکاف طولی و ۲/٥ میلی‌متر پایین‌تر از سطح جمجمه قرار گرفت و تزریق درون هیپوکمپ بتاآمیلوئید (هر طرف ۱ میکرولیتر) توسط سرنگ همیلتون صورت گرفت. جهت اطمینان از محل درست تزریق در مغز به دو سر از رت‌ها رنگ تزریق شد و پس از کشتار محل تزریق بررسی

شد. در گروه شم نیز تمام مراحل آزمایشگاهی مانند گروه تزریق بتاآمیلوئید بود، با این تفاوت که در گروه شم میزان ۱ میکرولیتر بافر DMSO در هر یک از هیپوکمپ‌ها تزریق شد.

پروتکل تمرین: رت‌ها بر روی نوارگردان با شیب صفر درجه در چرخه روشنایی، از ساعت ۹ صبح تا ۲/۳۰ بعد از ظهر و از شنبه تا چهارشنبه به مدت ٤ هفته (۵ روز در هفته با شدت و مدت مورد نظر) به تمرین پرداختند. رت‌ها در هفته اول و دوم با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه (بدون فعالیت) ۵ دقیقه‌ای (به منظور جلوگیری از خستگی عضلانی در رت‌ها) بر روی نوارگردان شروع به دویدن کردند. در هفته سوم تمرینات را با افزایش شدت و زمان فعالیت، با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای و وقفه ۵ دقیقه‌ای ادامه دادند. در هفته چهارم رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای به فعالیت پرداختند (۳۳). رت‌های گروه تمرین هوازی در تمام جلسات تمرینی پایش شدند و با استفاده از یک شوک الکتریکی ضعیف (شدت ۰/۵ میلی‌آمپر) که در حیوان ایجاد استرس زیادی نمی‌کند و یا دستکاری با یک اسفنج به ادامه دویدن تشویق شدند.

استخراج نمونه: ۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی ٤ سر رت از هر گروه بوسیله ی تزریق درون صفاقی کتامین۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی هوش و هیپوکمپ سریعا استخراج و در نیتروژن ۸۰- منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به یخچال ۸۰- منتقل شد. حدود ۱۰۰ میلی‌گرم هیپوکمپ با روش هاون کوبی پودر گردید و جهت استخراج Total RNA در ۱ میلی‌لیتر واکنش‌دهنده ایزولایسنس RNA هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول حاصل در ٤ درجه سانتیگراد، ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق (۱۵-۲۵ درجه سانتیگراد) نگه داری شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن با استفاده از روش Real time-PCR در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هر کدام به طور جداگانه مشخص گردید به طوری که کمترین میزان دایمر و بهترین Ct مشاهده شود. Real time-PCR با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green شرکت آمپلیکون و با استفاده از غلظت ng ۲۵۰ از cDNA انجام گرفت. توالی پرایمر مربوط به گاما سکرتاز در جدول ۱ گزارش شده است. از 18S به عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان این ژن به صورت توامان اندازه‌گیری و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول ΔΔCT اندازه‌گیری شد.

روش آماری: برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات سطح شاخص-های گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی داری در همه موارد $p \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۵ به اجرا درآمد.

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی
BDNF	Forward	5′- CAC CTC TCA AGC AGA GCA CAG - 3′
	Reverse	5′- GGG TTC CAT GGT GAA GTC AAC - 3′
cGMP	Forward	5' AAGCTGAAAGTCAACAAATGACAGTT 3'
	Reverse	5' TGGACTGTCTGCCCATTGG 3'
PKG	Forward	5' ACTTGCATTGCTGATTGCTG 3'

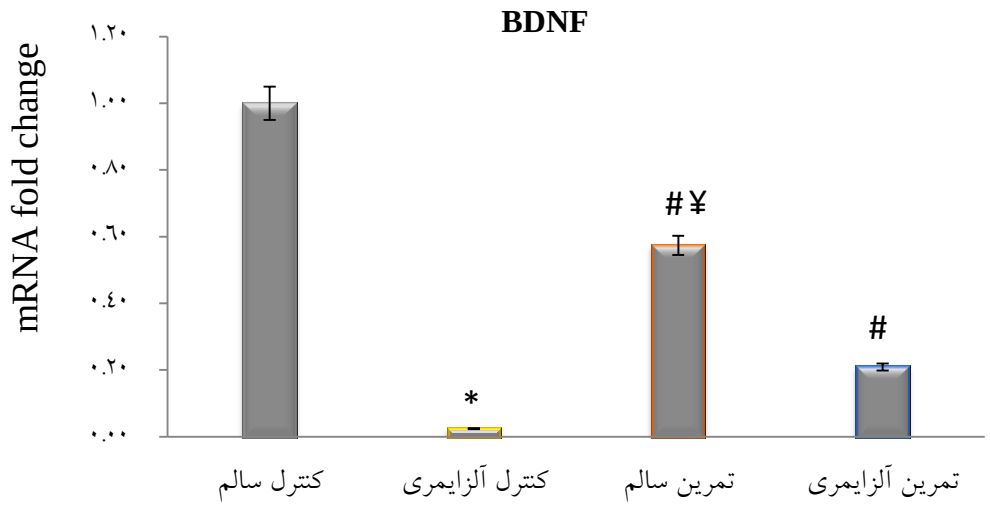
	Reverse	5' TTGAATAGGCCAGGGTTTTG 3'
18S	Forward	5′- GCAATTATTCCCCATGAACG - 3′
	Reverse	5′- GGCCTCACTAAACCATCCAA - 3′

نتایج

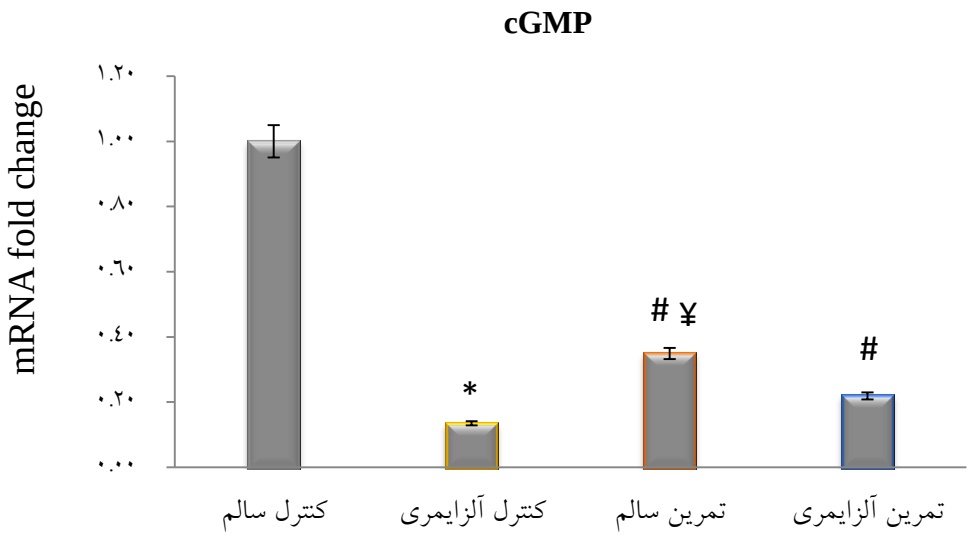
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه تفاوت معنی-داری را در بیان ژن BDNF بین گروه‌های پژوهش نشان داد (p = ۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن BDNF در گروه کنترل آلزایمری نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر بود (p < ۰/۰۰۱). در مقابل بیان ژن BDNF در گروه تمرین سالم و تمرین آلزایمری نسبت به گروه کنترل آلزایمری به طور معناداری بیشتر بود (شکل ۱).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه تفاوت معنی-داری را در mRNA cGMP بین گروه های پژوهش نشان داد (p = ۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که mRNA cGMP در گروه کنترل آلزایمری نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر بود (p < ۰/۰۰۱). در مقابل mRNA cGMP در گروه تمرین سالم و تمرین آلزایمری نسبت به گروه کنترل آلزایمری به طور معناداری بیشتر بود (شکل ۲).

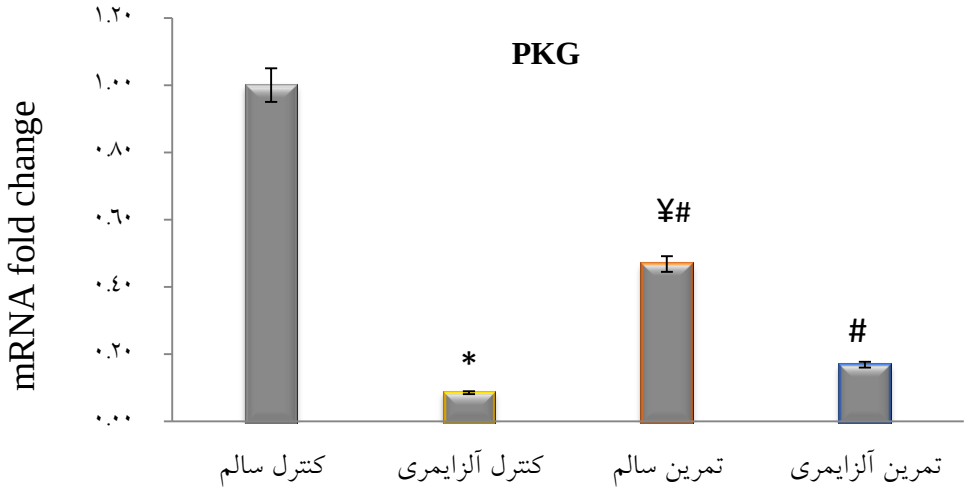
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه تفاوت معنی-داری را در mRNA PKG بین گروه‌های پژوهش نشان داد (P=۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که mRNA PKG در گروه کنترل آلزایمری نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر بود (۰/۰۰۱ > p). در مقابل mRNA PKG در گروه تمرین سالم و تمرین آلزایمری نسبت به گروه کنترل آلزایمری به طور معناداری بیشتر بود (شکل ۳).



شکل ۱- تغییرات mRNA BDNF بافت هیپوکامپ. * تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم، # تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل آلزایمری، ¥ تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین آلزایمری (p ≤۰/۰۵).



شکل ۲- تغییرات mRNA cGMP بافت هیپوکامپ. * تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم، # تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل آلزایمری، ¥ تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین آلزایمری ($p \leq ۰/۰۵$).



شکل ۳- تغییرات mRNA PKG بافت هیپوکامپ.* تفاوت معنیدار با گروه کنترل سالم، # تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل آلزایمری، ¥ تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین آلزایمری ($p \leq ۰/۰۵$).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پس از القای آلزایمر افزایش BDNF در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه-های استراحتی مشاهده شد. نتایج حاکی از آن است که گروه‌های تزریق Aβ که تمرین داشتند، مقادیر بالاتری از BDNF نسبت به گروه های تزریقی بدون تمرین به نمایش گذاشتند پس از القای آلزایمر نتایج

حاکی از افزایش PKG در گروه‌های تمرینی شد کمترین مقدار در گروه استراحت- تزریق AB- استراحت مشاهده شد.. پس از القای آلزایمر نتایج حاکی از افزایش cGMP در گروه‌های تمرینی شد کمترین مقدار در گروه استراحت- تزریق AB- استراحت مشاهده شد. یافته‌های مطالعه ما با برخی مطالعات قبلی همخوان می‌باشد. دائو و همکاران نشان دادند ٤ هفته تمرین تردمیل منجر به افزایش حافظه و یادگیری از طریق افزایش BDNF/p-CAMKII شد (۹). کاسیل‌هاس و همکاران (۲۰۱۲) افزایش در سطوح BDNF و گیرنده TrkB را در هیپوکمپ رت ها متعاقب برنامه تمرینی هوازی مشاهده کردند (٤). اکثر مطالعات بهبود یادگیری و جلوگیری از اختلال در حافظه و یادگیری را در مدل‌های حیوانی آلزایمری بعد از تمرین ورزشی را نشان می دهند. بنابراین، BDNF نقش میانجی بین ورزش و حافظه را ایفا می-کند (۳).

مکانیسم دقیق و اساسی که بتواند اثرات مفید ورزش بر عملکرد و ساختار مغز را نشان دهد، هنوز بطور کامل شناخته نشده است. بر اساس گزارش مطالعات پیشین، فعالیت بدنی عملکرد شناختی را در انسان و مدل‌های حیوانی احتمال از طریق افزایش سطوح BDNF تنظیم می کند (١٦). BDNF در شکل گیری حافظه از طریق رشد سلول های عصبی، شکل پذیری سیناپسی، کارآمدی سیناپسی و اتصالات سلولی ایفای نقش می کند (۲۵). در همین راستا نشان داده شده است افراد غیرفعال در مقایسه با افراد فعال در معرض خطر بیشتر ابتلا به بیماری‌ها و اختلالا شناختی هستند (۱۸). بطور کلی، تمرین ورزشی ساختار مغز را در سنین بالا تحت تاثیر قرار می‌دهد و خونرسانی به هیپوکمپ را افزایش می‌دهد. بنظر می‌رسد از بین همه نوروتروفین‌ها، BDNF بیشتر در معرض تنظیم به وسیله تمرین و فعالیت بدنی باشد. اریکسون و همکاران نشان دادند که تمرین هوازی در افراد مسن اندازه هیپوکمپ قدامی را افزایش می‌دهد که منجر به بهبود حافظه در آنها می‌شود. آنها همچنین نشان دادند که این افزایش حجم همراستا با افزایش غلظت BDNF در مغز مرتبط بود (۱۲). به نظر می‌رسد با توجه به مشارکت بالا و قوی BDNF در تحریک پذیری عصبی و عملکرد سیناپسی نتایج نشان دهنده عملکرد غالب BDNF برای تاثیر ورزش بر مغز است (۸).

یافته‌ی مهم دیگری که می‌توان از مطالعه کنونی برداشت کرد ارتباط بالقوه بین فعالیت ورزشی و مسیر PKG و cGMP در شکل‌پذیری عصبی در این بیماری می‌باشد. مزایای ورزش و فعالیت بدنی بر کاهش عملکرد مغز ناشی از افزایش سن با سازگاری‌های شکل‌پذیری در سطوح سیناپسی و میتوکندریایی تایید شده است، این امر در مطالعات قبلی روی جوندگان با استفاده از دوره‌های طولانی ورزش اختیاری روی چرخ دوار و یا ورزش اجباری نشان داده شده است (۲۹).

همراستا با این نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده بهبود عملکرد شناختی معنادار در گروه‌های تمرینی آلزایمر نسبت به گروه بی تمرین می‌باشد. اگرچه این فرضیه که فعالیت ورزشی خطر کاهش عملکرد شناختی را کاهش می‌دهد، بطور کلی پذیرفته شده است، اما سازکارهای سلولی درک چنین اثراتی بسیار ضعیف است. مطالعات قبلی که بهبود در عملکرد شناختی را با برنامه‌های ورزشی طولانی مدت نشان داده‌اند، این تغییرات حداقل در بخشی ناشی از افزایش فعالیت فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز / پروتئین کیناز G و cGMP می‌باشد (۵). مزایای فعالیت‌بدنی بر حافظه با فعال‌سازی PI3-K/TrkB و در نتیجه افزایش p-AKT و cGMP توضیح شده است (٦). مطالعه حاضر شواهد جدیدی فراهم کرد که تمرین هوازی قبل و

بعد از القای آلزایمر، سطوح PKG و cGMP در هیپوکمپ رت‌ها افزایش داد. در مطالعه حاضر تمرین قبل از القای آلزایمر تاثیر معناداری در افزایش میزان PKG و cGMP داشته است بطوریکه گروه تمرین- تزریق $A\beta_{1-42}$ – تمرین مقادیر بالاتری PKG و cGMP نسبت به گروه تمرین- تزریق $A\beta_{1-42}$ – استراحت داشتند. از طرفی با مقایسه نتایج گروه‌های تمرین- تزریق $A\beta_{1-42}$ – تمرین و استراحت- تزریق $A\beta_{1-42}$ – تمرین به اهمیت پیش آماده‌سازی پی خواهیم برد بطوریه نتایج گروهی که تمرین پیش آماده سازی را انجام داده است، بطور معناداری افزایش بیشتری در میزان PKG و cGMP نسبت به گروه بدون پیش آماده سازی داشتند. مسیر PKG و cGMP برای شکل‌گیری و حفظ حافظه در چندین گونه از پستانداران ضروری است (۳۱).

بیان cGMP در هیپوکمپ در طول LTP افزایش می-یابد و بیان cGMP در بیماری آلزایمر دچار اختلال می‌شود. گنگ و همکاران (۲۰۱۳) کاهش در سطوح cGMP در نورون‌های هیپوکمپ موش‌های ترانسژنیک را گزارش کردند (۲۰). درمان این موش‌ها با رولیپرام، یک مهارکننده فسفودی استراز که cGMP را افزایش می‌دهد، منجر به بهبود معناداری در عملکرد شناختی شد. همچنین در نورون‌های کشت داده شده، اختلالات Aβ با فعال‌سازی CREB توسط cAMP و BDNF مختل می‌شود (۳۰).

گارسیا و همکاران (۲۰۱٤) نیز نشان دادند، چرخ دوار منجر به افزایش cGMP در موش‌های تراریخت شد. بااینحال افزایش در سطوح پایه cGMP را نشان نداد. بنابراین، اختلال در مسیر پیام رسانی این عامل نسخه برداری احتمالا در اختلالات شناختی در موش‌های Tg دخالت داشته باشد (۱٤). بنابراین بنظر می‌رسد افزایش فعال‌سازی cGMP اختلالات حافظه فضایی در موش‌های آلزایمری را بهبود بخشد. به گونه‌ای که مطالعات قبلی نشان دادند، مهار فعال‌سازی CREB/PKG/cGMP مسئول اختلال در شکل‌پذیری هیپوکمپ می‌باشد (۳۲) و این کاهش در هیپوکمپ ممکن است در از دست دادن حافظه در موش‌های پیر مشارکت داشته باشد (۲۳). همچنین نتایج ما از این ایده حمایت کرد که تغییرات PKG/cGMP حداقل در بخشی، با اختلالات ناشی از سن مرتبط هستند. مطالعات زیادی نشان داده‌اند، فعالیت بدنی ممکن است اثرات حفاظت نورونی در مغز داشته باشد (۷). اختلال در PKG/cGMP مغز اثرات منفی بر شکل پذیری سیناپس دارد، بنابراین افزایش در PKG/cGMP همانطور که در هیپوکمپ رت‌های پیر مشاهده شده است، می‌تواند LTP را بهود بخشد. اثرات مثبت فعالیت بدنی بر بسیاری از سیستم‌های فیزیولوژیکی شامل CNS مشخص شده است. برای مثال ورزش یادگیری و حافظه را بهبود بخشید که بطور مستقیم با توسعه نوروزنز، شکل‌پذیری سیناپس و تغییرات بیان ژن مرتبط بوده است (۱۳).

بسیاری از این بهبودها در هیپوکمپ که یک ساختار بسیار شکل‌پذیر است مشاهده شده است (۲۱).

در پژوهش حاضر مشاهده شد که برنامه تمرینی پس از القای آلزایمر دویدن روی تردمیل به مدت چهار هفته بیان PKG/cGMP را در هیپوکمپ گروه‌های تمرینی بویژه تمرین- تزریق Aβ- تمرین و استراحت- تزریق Aβ- تمرین افزایش داد. از طرفی cGMP بعنوان پیامبر ثانویه در پدیده‌های مختلف عصبی همچون شکل پذیری سیناپس می‌باشد. در همین راستا جالب توجه است که برخی مطالعات نشان داده‌اند که سیدنفیل نقش بالقوه‌ای در عصب‌زایی از طریق افزایش سطوح cGMP بازی می‌کند. همچنین رشد نورونی به موازات افزایش سن به دلیل کاهش سطوح cGMP، کاهش می‌یابد. در برخی مطالعات نشان داده شده است که سیدنفیل عصب‌زایی

را بعد از سکته تحریک می‌کند. بنابراین این احتمال وجود دارد که افزایش‌دهنده‌های PKG/cGMP بتوانند عملکرد نورونی را تحریک کنند و عصب‌زایی را در افراد سالمند یا در کسانی که تحت تاثیر AD یا سایر بیماری‌ها که توسط اختلال در هیپوکمپ مشخص می‌شوند، بهبود بخشد (۱۰). بااینحال استفاده از این داروها اثرات جانبی همچون: سردرد، سوزش صورت و گرفتگی بینی بهمراه دارد. در همین راستا، همچنین ژانگ و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر مهاری سیدنفیل بر PDE5، التهاب نورونی، Aβ و عملکرد شناختی پرداختند. نتایج نشان داد، سیدنفیل اختلالات حافظه و پیام‌رسان cGMP/PKG/ pCREB را معکوس کرد، همچنین سطوح محلول Aβ1-40 و Aβ1-42 را کاهش نیز کاهش داد (۳۵). بنابراین سیدنفیل (مهارکننده PDE5) توانست اختلالات شناختی در موش‌های تراریخت را با تنظیم پیام رسان PKG/pCREB، پاسخ ضدالتهابی و کاهش سطوح Aβ بهبود بخشد. همراستا با مطالعات، پژوهش حاضر نیز افزایش cGMP/PKG و حافظه را نشان داد. بطور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد چهار هفته تمرین هوازی پیش و پس از القای آلزایمر محتوای cGMP/PKG مغز را تغییر داد. این تغییرات ممکن است تا حدی برای اثرات مفید فعالیت‌های بدنی و ورزش در جلوگیری یا کاهش اثرات زیان‌آور شرایط پاتولوژیک درنظر گرفته شود.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نتایج نشان داد که سطح BDNF ، PKG و cGMP در گروه تمرین نسبت به گروه استراحت در مرحله بعد از القای آلزایمر به طوری معنی‌داری بیشتر بود. با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد تمرین هوازی می‌تواند به بهبود نوروپلاستیسیته در هیپوکمپ موش‌های آلزایمری کمک کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی است که با تایید کمیته اخلاق با شماره IR.IAU.M.REC. 1399.015 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی اجرا گردید. بدین وسیله از کلیه‌ی افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Ahlskog, J.E., Geda, Y.E., Graff-Radford, N.R., Petersen, R.C., 2011. September. Physical exercise as a preventive or disease-modifying treatment of dementia and brain aging. *In Mayo Clinic Proceedings*, 86(9): 876-884.

2. Barnes, D.E., Yaffe, K. 2011. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *The Lancet Neurology*, 10(9): 819-828.

3. Barrientos, R.M., Sprunger, D.B., Campeau, S., Watkins, L. R., Rudy, J. W., Maier, S.F. 2004. BDNF mRNA expression in rat hippocampus following contextual learning is blocked by intrahippocampal IL-1beta administration. *Journal of Neuroimmunology*, 155(1-2): 119-126.

4. Cassilhas, R., Lee, K., Fernandes, J., Oliveira, M., Tufik, S., Meeusen, R., De Mello, M. 2012. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience*, 202: 309-317.

5. Chae, C.H., Kim, H.T. 2009. Forced, moderate-intensity treadmill exercise suppresses apoptosis by increasing the level of NGF and stimulating phosphatidylinositol 3-kinase signaling in the hippocampus of induced aging rats. *Neurochemistry International*, 55(4): 208-213.

6. Chen, M.J., Russo-Neustadt, A.A. 2009. Running exercise-induced up-regulation of hippocampal brain-derived neurotrophic factor is CREB-dependent. *Hippocampus*, 19(10): 962-972.

7. Chennaoui, M., Drogou, C., Gomez-Merino, D. 2008. Effects of physical training on IL-1β, IL-6 and IL-1ra concentrations in various brain areas of the rat. *European Cytokine Network*, 19(1): 8-14.

8. Cysneiros, R.M., Ferrari, D., Arida, R.M., Terra, V.C., de Almeida, A.-C. G., Cavalheiro, E.A., Scorza, F.A. 2010. Qualitative analysis of hippocampal plastic changes in rats with epilepsy supplemented with oral omega-3 fatty acids. *Epilepsy and Behavior*, 17(1): 33-38.

9. Dao, A.T., Zagaar, M.A., Alkadhi, K.A. 2015. Moderate Treadmill Exercise Protects Synaptic Plasticity of the Dentate Gyrus and Related Signaling Cascade in a Rat Model of Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 52(3): 1067-1076.

10. Devan, B.D., Bowker, J.L., Duffy, K.B., Bharati, I.S., Jimenez, M., Sierra-Mercado, D., Ingram, D.K. 2006. Phosphodiesterase inhibition by sildenafil citrate attenuates a maze learning impairment in rats induced by nitric oxide synthase inhibition. *Psychopharmacology*, 183(4): 439-445.

11. Domek-Lopacinska, K.U., Strosznajder, J.B. 2010. Cyclic GMP and nitric oxide synthase in aging and Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*, 41(2-3): 129-137.

12. Erickson, K.I., Voss, M.W., Prakash, R.S., Basak, C., Szabo, A., Chaddock, L,.White, S. M. 2011. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7): 3017-3022.

13. Farmer, J., Zhao, X., van Praag, H., Wodtke, K., Gage, F. H., Christie, B.R. 2004. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience*, 124(1): 71-79.

14. García-Mesa, Y., Pareja-Galeano, H., Bonet-Costa, V., Revilla, S., Gómez-Cabrera, M. C., Gambini, J., Sanfeliu, C. 2014. Physical exercise neuroprotects ovariectomized 3xTg-AD mice through BDNF mechanisms. *Psycho neuroendocrinology*, 45: 154-166.

15. Gharari Arefi, R., Saghebjoo, M., Hedayati, M., and Fathi, R. 2016. The effect of aerobic training and omega-3 consumption on brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus of male rats with homocysteine induced Alzheimer's disease. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 21(2): 53-64.

16. Griffin, É. W., Mullally, S., Foley, C., Warmington, S. A., O'Mara, S. M., and Kelly, Á.M. 2011. Aerobic exercise improves hippocampal function and increases BDNF in the serum of young adult males. *Physiology and Behavior*, 104(5): 934-941.

17. Hansson, O., Zetterberg, H., Buchhave, P., Andreasson, U., Londos, E., Minthon, L., and Blennow, K. 2007. Prediction of Alzheimer’s disease using the CSF Aβ42/Aβ40 ratio in patients with mild cognitive impairment. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 23(5): 316-320.

18. Hosseinzadeh, S., Roshan, V.D., Pourasghar, M. 2013. Effects of intermittent aerobic training on passive avoidance test (shuttle box) and stress markers in the dorsal hippocampus of wistar rats exposed to administration of homocysteine. *Iranian Journal of Psychiatry and Behavioral Sciences*, 7(1): 37.

19. Kang, E. B., Cho, J.Y. 2014. Effects of treadmill exercise on brain insulin signaling and β-amyloid in intracerebroventricular streptozotocin induced-memory impairment in rats. *Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry*, 18(1): 89.

Arancio, O. 2009. Phosphodiesterase 5 inhibition improves synaptic function, memory, and amyloid-beta load in an Alzheimer's disease mouse model. *Journal of Neuroscience*, 29(25), 8075-8086.

28. Rockwood, K., and Middleton, L. 2007. Physical activity and the maintenance of cognitive function. *Alzheimer's and Dementia*, 3(2): S38-S44.

29. Stranahan, A. M., Lee, K., Becker, K. G., Zhang, Y., Maudsley, S., Martin, B., Mattson, M.P. 2010. Hippocampal gene expression patterns underlying the enhancement of memory by running in aged mice. *Neurobiology of Aging*, 31(11): 1937-1949.

30. Tong, L., Balazs, R., Thornton, P. L., and Cotman, C.W. 2004. β-amyloid peptide at sublethal concentrations downregulates brain-derived neurotrophic factor functions in cultured cortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 24(30): 6799-6809.

31. Vilela, T.C., Muller, A. P., Damiani, A. P., Macan, T. P., da Silva, S., Canteiro, P. B., de Andrade, V. M. 2017. Strength and aerobic exercises improve spatial memory in aging rats through stimulating distinct neuroplasticity mechanisms. *Molecular Neurobiology*, 54(10): 7928-7937.

32. Wei, Z., Belal, C., Tu, W., Chigurupati, S., Ameli, N. J., Lu, Y., Chan, S. L. 2012. Chronic nicotine administration impairs activation of cyclic AMP-response element binding protein and survival of newborn cells in the dentate gyrus. *Stem Cells and Development*, 21(3): 411-422.

33. Zagaar, M., Alhaider, I., Dao, A., Levine, A., Alkarawi, A., Alzubaidy, M., Alkadhi, K. 2012. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiology of Disease*, 45(3): 1153-1162.

34. Zare, M., Zar, A., Edalatmanesh, M. A. (2016). The Implementation of Eight Weeks of Endurance Training and Lithium

20. Kang, E.B., Kwon, I.S., Koo, J.H., Kim, E.J., Kim, C.H., Lee, J. Cho, J.Y. 2013. Treadmill exercise represses neuronal cell death and inflammation during Abeta-induced ER stress by regulating unfolded protein response in aged presenilin 2 mutant mice. *Apoptosis*, 18(11): 1332-1347.

21. Lynch, M.A. 2004. Long-term potentiation and memory. *Physiological Reviews*, 84(1): 87-136.

22. Mangialasche, F., Solomon, A., Winblad, B., Mecocci, P., Kivipelto, M. 2010. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *The Lancet Neurology*, 9(7): 702-716.

23. Morris, K.A., Gold, P.E. 2012. Age-related impairments in memory and in CREB and pCREB expression in hippocampus and amygdala following inhibitory avoidance training. *Mechanisms of Ageing and Development*, 133(5): 291-299.

24. Nichol, K.E., Poon, W.W., Parachikova, A.I., Cribbs, D.H., Glabe, C.G., Cotman, C. W. 2008. Exercise alters the immune profile in Tg2576 Alzheimer mice toward a response coincident with improved cognitive performance and decreased amyloid. *Journal of Neuroinflammation*, 5: 13.

25. Pilc, J. (2010). The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 61(5): 533-541.

26. Prickaerts, J., van Staveren, W. C., Sik, A., Markerink-van Ittersum, M., Niewohner, U., van der Staay, F. J., de Vente, J. 2002. Effects of two selective phosphodiesterase type 5 inhibitors, sildenafil and vardenafil, on object recognition memory and hippocampal cyclic GMP levels in the rat. *Neuroscience*, 113(2): 351-361.

27. Puzzo, D., Staniszewski, A., Deng, S. X., Privitera, L., Leznik, E., Liu, S.,

Chloride Administration on Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Serum Levels in Rats with Alzheimer\'s Disease. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*, 24(103): 62-70.

35. Zhang, Y. Y., Fan, Y. C., Wang, M., Wang, D., Li, X. H. 2013. Atorvastatin attenuates the production of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha in the hippocampus of an amyloid beta1-42-induced rat model of Alzheimer's disease. *Clinical Interventions in Aaging*, 8: 103-110.