دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی
سال نهم، جلد نهم، شماره ۲

اثر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن هیپوکامپی عامل نروتروفیک مشتق از مغز و گیرنده تیروزین کیناز B در موش های صحرایی مدل دژنراسیون هیپوکامپ

فاطمه اکبری[۱]، مهرزاد مقدسی[۲*]، سیروس فارسی[۳]، محمد امین عدالت منش[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۳۰

چکیده

هدف: بیماری آلزایمر یک بیماری پیشرونده شناختی است که با کاهش نروتروفین‌ها در بافت هیپوکامپ همراه است. تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات هیپوکامپ در این نوع بیماران به طور کامل شناخته نشده است. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن هیپوکامپی عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و گیرنده تیروزین کیناز B (TrKB) در موش های صحرایی آلزایمری شده با نوروتوکسین تری‌متیل‌تین انجام شد.

روش‌شناسی: در این مطالعه ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد اسپراگ داولی با سن هشت هفته و وزن ۲۲۰/۶۵±۳۰ گرم با تزریق درون صفاقی ۸ mg/kg، سم تری‌متیل‌تین کلراید (TMT) مبتلا به بیماری آلزایمر شده و در گروه‌های (۱) کنترل مبتلا به آلزایمر هفته اول، (۲) کنترل مبتلا به آلزایمر هفته آخر، و (۳) تمرین استقامتی+TMT تقسیم شدند. جهت بررسی اثرات القاء بیماری آلزایمر و گذر هشت هفته عمر بر متغیرهای تحقیق ۱۶ سر موش صحرایی سالم در گروه کنترل هفته اول و کنترل هفته آخر قرار گرفتند. موش‌های صحرایی گروه تمرین استقامتی به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته، هر جلسه ۱۵ تا ۳۰ دقیقه و با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان ویژه موش‌های صحرایی دویدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موشهای صحرایی بیهوش و بافت هیپوکامپ آنها استخراج گردید.سطوح بیان ژنی BDNF وTrKB با استفاده از روش Real-timePCR اندازه گیری شد. به منظور تجزیه و تحلیل یافته‌های تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار SSPS انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیان ژن BDNF (P=۰/۰۰۱) و گیرنده TrkB (P=۰/۰۰۱) در گروه کنترل آلزایمر هفته اول به طور معنی داری کمتر از گروه سالم هفته اول بود؛ همچنین تفاوت معنی‌داری در بیان ژن هیپوکامپی BDNF (P=۰/۳۹) و گیرنده TrkB (P=۰/۹۹) بین گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر قربانی هفته آخر در مقایسه با گروه تمرین استقامتی وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین استقامتی با شدت و مدت به کار رفته در تحقیق حاضر اثر معنی‌داری بر تغییرات بیان ژن هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB در موش‌های صحرایی مدل دژنراسیون هیپوکامپ ندارد. مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، عامل نوروتروفیک مشتق از مغز، گیرنده تیروزین کیناز B، هیپوکامپ، بیماری آلزایمر.

۱. دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی، ۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، ۳. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لارستان، ۴. استادیار فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز
*نشانی الکترونیک نویسندهٔ مسئول: mehrzad.moghadasi@gmail.com

مقدمه

بیماری آلزایمر به عنوان ششمین عامل مرگ و میر و از دلایل اصلی زوال عقل در جهان می‌باشد (۱۶). اخیراً محققین عنوان کرده‌اند که این بیماری به سرعت در حال رشد است و به یک مشکل بهداشت جهانی تبدیل شده است به گونه ای که تعداد افراد مبتلا به بیماری های زوال عقل از سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۶ دو برابر شده و پیش بینی می‌گردد این تعداد تا سال ۲۰۵۰ سه برابر تعداد کنونی شود (۱۷). با پیدایش نظریه های سلولی مولکولی در چند سال اخیر، شواهدی یافت شده است که نشان می دهند بیماری آلزایمر با اختلال در تنظیم پروتئین های التهابی، افزایش آمیلوئید بتا[1] (Aβ)، پروتئین فسفریله شده تائو[2] (Tau) و ۲۰ پروتئین که در سلول های عصبی بیان می شوند ارتباط بسیار نزدیکی دارد (۱۵). به عبارتی تجمع پلاک های آمیلوئیدی در کلاف‌های عصبی نورون‌های هیپوکامپ با افزایش عوامل التهابی، سیتوکین های التهابی و پیش التهابی موجب نقص در عملکرد کولینرژیک و تغییر در نوتروفین‌ها مانند عامل نوروترفیک مشتق از مغز[3] (BDNF) می شوند (۷و۱۶). مطالعات نشان می دهند بیان ژن BDNF در هیپوکامپ و قشر مغز موجب پلاستیسیته نورون‌ها، نوروژنز، بهبود عملکرد سیناپس‌ها در انتقال میانجی‌های شیمیایی و افزایش حافظه و یادگیری می‌شود (۱۵و۱۶). نتایج مطالعات نشان داده اند که سطح BDNF در بیماران سالمند مبتلا به آلزایمر تا ۳۳ درصد کاهش می یابد (۱۶). اما محققین مکانیسم کاهش این نوروتروفین را به افزایش Aβ و اتصال آن به پروموتورهای بیان ژنی گیرنده تیروزین کینازهایی مانند تیروزین کیناز B[4] (TrKB) عنوان کرده اند (۹). با توجه به اهمیت و پیشرفت روز افزون این بیماری، تعداد محدودی دارو برای بهبود این بیماران شناخته شده است، همچنین تاکنون محققین نتوانسته‌اند نوعی روش درمانی اصلاح کننده بیابند که بتواند این بیماری را درمان کند یا از روند پیشرفت آن جلوگیری نماید. با این وجود همان تعداد محدود داروهای شناخته شده هم هزینه‌های اقتصادی سنگینی را بر خانواده و جامعه تحمیل می‌کند و هم متعاقب مصرف این داروها عوارض جانبی نیز گزارش شده است (۴). اخیراً مطالعات نشان داده‌اند که تغییر سبک زندگی و مراقبت‌های ویژه بهداشتی و هدفمند، موجب کاهش عوامل خطرزای بیماری آلزایمر می‌شوند. بر این اساس محققین فعالیت های ورزشی را به عنوان یکی از هفت روش اثر گذار بر تعدیل و کاهش عوامل خطر زای بیماری آلزایمر گزارش نموده‌اند (۱۱). به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی با فعال‌سازی سه مسیر موجب افزایش سطوح BDNF می‌گردد که شامل مسیر (۱) پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK)، (۲) فسفاتیدیل اینوزیتول-۳ کیناز (PI3K) و (۳) فسفولیپاز Cγ (PLCγ) هستند (۱۸و۲۰). همچنین نتایج مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی با افزایش بیان سطوح گیرنده TrKB موجب بهبود انتقال این نوروتروفین در سلول می شود (۲۳). مطالعات زیادی به بررسی اثر انواع تمرینات ورزشی بر تغییرات BDNF انجام شده است، به گونه‌ای که مشخص شده است تمرین استقامتی با شدت

1 Amyloid beta (Aβ)
2 Phosphorylated tau proteins
3 Brain-derived neurotropic factor
4 Tirosin kinase B

متوسط موجب افزایش سطوح سرمی BDNF در نمونه‌های انسانی و حیوانی می‌شود (۲و۲۰). همچنین مشاهده شده است که تمرین تداومی با شدت متوسط و تمرین تناوبی شدید هر دو موجب افزایش سطوح پروتئینی و بیان ژن BDNF، TrKB و NR2A در هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به افسردگی شده است (۱۴). علاوه بر این مطالعات نشان داده‌اند که تمرین تناوبی شدید موجب افزایش سطوح پلاسمایی و بیان ژن هیپوکامپی BDNF موش‌های سالمند شده است (۱۸). با این وجود نشان داده شده است که هشت هفته تمرینات ورزشی موجب کاهش سطوح BDNF، TrKB و MAPK در عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی مبتلا به سکته قلبی شده است (۲۴). بر اساس مطالعات مختلف اگرچه تعداد زیادی از مطالعات نشان دهنده تأثیر مثبت تمرینات ورزشی بر نوروتروفین‌ها هستند اما هنوز ابهام در رابطه با تأثیر تمرینات استقامتی بر عوامل دخیل در بیماری آلزایمر و روند بهبود این بیماری وجود دارد. به گونه ای که در مطالعه ای محققین نشان دادند که تمرینات استقامتی با شدت بالا و پایین موجب بهبود توانایی حرکتی در سالمندان مبتلا به زوال عقل گردید؛ اما اثر معنی داری بر عملکرد شناختی آنها نداشت (۲۰).

از این رو هنوز مکانیسم اثر تمرینات ورزشی هنوز به طور کامل شناخته نشده است، علی رغم اینکه مطالعات نشان داده اند که تمرینات ورزشی اثرات مطلوبی بر عملکرد شناختی داشته اند، با این وجود بررسی تاثیر سطوح پروتئینی BDNF و گیرنده آن به طور اختصاصی در بافت هیپوکامپ می تواند اطلاعات بیشتری در زمینه نروتروفین ها در بیماران آلزایمری ارائه دهد؛ از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKBدر موش های صحرایی آلزایمری شده با نوروتوکسین تری‌متیل‌تین انجام شد.

روش پژوهش

نمونه‌های تحقیق

در این مطالعه تجربی ابتدا ۴۰ سر موش صحرایی نر از نژاد اسپراگ داولی با میانگین سنی هشت هفته، و میانگین وزنی ۲۲۰±۳۰/۶۵ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت خریداری و به عنوان نمونه آماری در نظر گرفته شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این واحد دانشگاهی، نمونه ها به مدت یک هفته جهت سازگاری در قفس‌های پلی کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو، و تعداد ۵ سر موش صحرایی در هر قفس نگهداری شدند. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی نیز هر ۱۲ساعت یک بار به طور دقیق توسط تنظیم کننده الکترونیکی نور سالن تنظیم می‌شد. نمونه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در روز هشتم، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی با تزریق درون صفاقی mg/kg ۸ نوروتوکسین تری‌متیل‌تین (ساخت شرکت سیگما، کشور آلمان) قرار گرفتند و پس از دو هفته از حیوانات آزمایشگاهی آزمون یادگیری و حافظه جهت اطمینان از کاستی حافظه به عمل آمد (۳). پس از ۲۴ ساعت که از تأثیر کامل سم بر هیپوکامپ اطمینان حاصل شد، نمونه ها به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ سری (۱) آلزایمر قربانی هفته اول،

(۲) آلزایمر قربانی هفته آخر و (۳) تمرین استقامتی تقسیم شدند. این نکته قابل ذکر است که به منظور بررسی اثرات تزریق نوروتوکسین تری‌متیل‌تین و گذر هشت هفته از عمر موش‌های صحرایی بر متغیرهای پژوهش تعداد ۱۶ سر موش صحرایی سالم در گروه‌های کنترل هفته اول و کنترل هفته آخر قرار گرفتند. تمام مراحل نگهداری حیوانات مطابق معاهده مراقبت از حیوانات (۱۹۹۳) صورت گرفت و کلیه مراحل تحقیق به تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد لارستان رسیده است.

پروتکل تمرین

برای انجام تمرینات استقامتی با استفاده از نوارگردان ویژه موش‌های صحرایی ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان، استفاده شد. موش‌های صحرایی به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته بدون شیب به تمرینات مورد نظر پرداختند. جهت آشنایی حیوانات با نوار گردان موش‌های صحرایی به مدت یک هفته به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه با سرعت ۵ الی ۸ دقیقه بر روی نوارگردان بدون شیب راه رفتند. همچنین در مرحله اضافه بار، موش‌های صحرایی برای دو هفته، هر جلسه ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به تمرین استقامتی پرداختند و پس از آن شدت و مدت تمرینات به تدریج تا ۳۰دقیقه و سرعت۲۰ متر بر دقیقه در هفته هشتم رسید. همچنین در هر جلسه تمرین ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن به مدت زمان تمرینات اصلی افزوده شد این نکته قابل ذکر است که تمرین با این شدت معادل شدت ۵۰ تا ۵۵ درصد حداکثر اکسژن مصرفی موش‌های صحرایی گزارش شده است (۳).

تشریح حیوانات آزمایشگاهی

به منظور بررسی اثر متغیر مستقل بر تغییرات احتمالی متغیرهای وابسته طبق برنامه از پیش تعیین شده، همه حیوانات مورد مطالعه ابتدا با ترکیب ۳ به ۵ کتامین و زایلوزین بیهوش شدند و پس از بی هوشی کامل و اطمینان از بی هوشی و عدم حس درد پس از شکافتن جمجمه بافت هیپوکامپ توسط متخصصین از مغز جدا گردید (۲۲). بافت هیپوکامپ برای اندازه‌گیری‌های بعدی در فریزر با دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش اندازه گیری متغیرها

جداسازی مولکول‌های RNA از بافت فریز شده هیپوکامپ پس از هموژنایز، طبق روش استاندارد، RNA نمونه ها از بافت هیپوکامپ استخراج گردید. پس از استخراج RNA کمیت و کیفیت آن با روش UV اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه نانو دراپ مورد ارزیابی قرار گرفت، در روش اسپکتروفتومتری غلظت نمونه RNA، با استفاده از تعیین جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین خلوص RNA از محاسبه نسبت A260/A280 استفاده شد. نمونه‌های دارای OD[1] مناسب (محدوده ۱/۸ تا ۲) برای انجام مراحل بعد انتخاب شدند. در ادامه طبق دستور کیت Ruhs ساخت کشور آلمان، مقدار RNA لازم جهت سنتز ۲۰ میکرولیتر cDNA با مواد مورد نیاز ترکیب شد و محصول به مدت ۵ ثانیه ورتکس جهت مخلوط شدن و ۵ ثانیه میکروفیوژ شد. سپس میکروتیوب ها به مدت ۳۰ دقیقه جهت سنتز cDNA بر روی Dry-Block در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، و در

1 Optical density

نهایت برای توقف سنتز cDNA به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. توالی ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از سایت NCBI به دست آمد و با به کارگیری امکانات موجود در این سایت، پرایمرهای اختصاصی برای هر کدام از ژن‌ها طراحی شد. سپس با نرم افزارهای دیگر پرایمرهای طراحی شده بررسی گردید. در طراحی این پرایمرها نهایت دقت به عمل آمد تا خصوصیات لازم برای استفاده از آنها در Real-timePCR نیز لحاظ شود. جدول ۱ اطلاعات مربوط به پرایمرهای مورد استفاده برای سنجش هر ژن را ارائه می‌دهد. همچنین برای کنترل داخلی میزان بیان هر ژن با هر نمونه ژن GAPDH به عنوان ژن House kipping در نظر گرفته شد.

جدول ۱. ویژگی‌های پرایمرهای طراحی شده برای هر ژن

Gene	Primer sequence
BDNF	F: 5´GTGGTTACCTGACTGGGCTC3´ R: 5´TCCCTGAGTCACAGTGGACA 3´
TrkB	F: 5´TGTCCAGGAGACATTTCCGC3´ R: 5´TCCTGGAGAGTCTTGAGCCA3´
GAPDH	F:5´AGTGCCAGCCTCGTCTCATA3´ R:5´GAGAAGGCAGCCCTGGTAAC3´

کمی سازی میزان تکثیر ژن هدف و ژن کنترل داخلی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{Normalized target gene expression level in sample} = 2^{-\Delta\Delta CT}$$

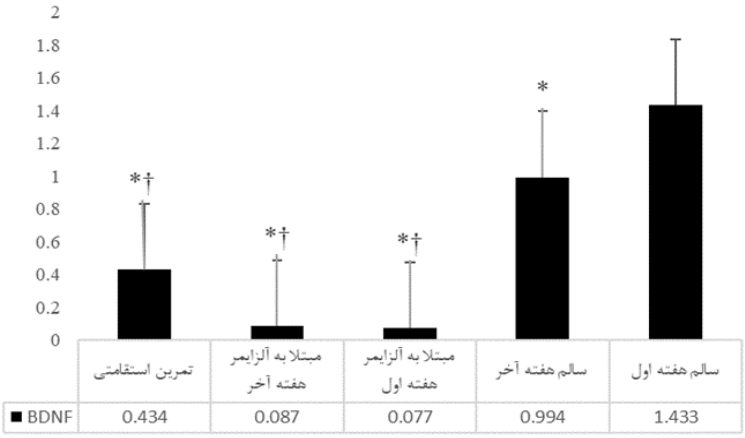
روش تجزیه و تحلیل یافته‌های تحقیق

به منظور تجزیه و تحلیل یافته های تحقیق در بخش آمار توصیفی از میانگین و انحراف استاندارد استفاده گردید. همچنین پس از بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو- ویلک داده‌های تحقیق حاضر با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده های تحقیق حاضر با استفاده از نرم افزار SSPS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری در تمام تجزیه و تحلیل‌ها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد..

یافته‌های پژوهش

نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقدار بیان ژن هیپوکامپی BDNF (P=۰/۰۰۱ و F۵۹/=۱۸) و گیرنده BKrT (P=۰/۱۰۰ و F۳۶/ =۱۸) در گروه های تحقیق وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد بیان ژن BDNF گروه کنترل سالم هفته اول به طور

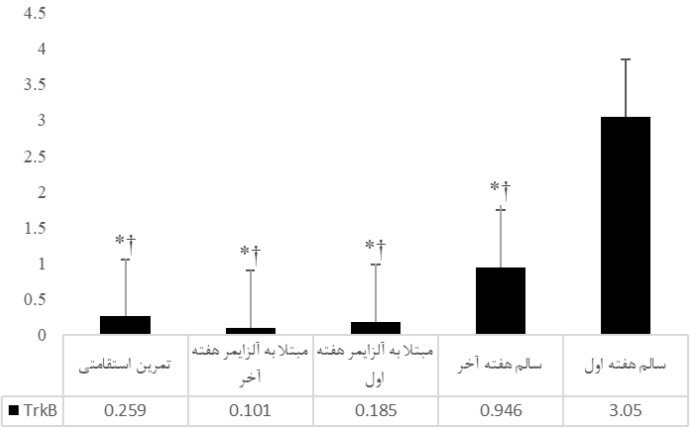
معنی داری بالاتر از گروه کنترل سالم هفته آخر بود (P=۰/۰۳ و M=۰/۴۳). علاوه بر این نتایج حاکی از آن بود که بیان ژن هیپوکامپی BDNF در گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر هفته اول به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل سالم هفته اول بود (P=۰/۰۰۱ و M=۱/۳۵). همچنین بیان ژن هیپوکامپی BDNF در گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر قربانی هفته آخر به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر قربانی هفته اول بود (P=۰/۰۰۱ و M=۱/۳۴) این در حالی بود که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن هیپوکامپی BDNF گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل سالم هفته آخر (p=۰/۵۰ و M=۰/۵۵) و گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر هفته آخر مشاهده نشد (P=۰/۳۹ و M=-۰/۳۴) (شکل ۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد بیان ژن هیپوکامپی گیرنده TrkB گروه کنترل سالم هفته اول به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل سالم هفته آخر بود (P=۰/۰۰۱ و M=۲/۱). علاوه بر این نتایج حاکی از آن بود که بیان ژن هیپوکامپی گیرنده TrkB در گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر هفته اول به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل سالم هفته اول بود (P=۰/۰۰۱ و M=۲/۸۶). این در حالی بود که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن هیپوکامپی گیرنده TrKB در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل سالم هفته آخر (P=۰/۵۴ و M=۰/۸۶) و گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر هفته آخر مشاهده نشد (p=۰/۹۹ و M=-۰/۵۱) (شکل ۲).



شکل ۱. سطوح بیان ژن هیپوکامپی BDNF در گروه‌های تحقیق

* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم قربانی هفته اول

† اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم قربانی هفته آخر



شکل ۲. سطوح بیان ژن هیپوکامپی گیرنده TrkB در گروه‌های تحقیق

* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم قربانی هفته اول

† اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم قربانی هفته آخر

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثرات یک دوره تمرینات استقامتی با شدت متوسط بر بیان ژن هیپوکمپی BDNF و گیرنده TrkB در موش‌های صحرایی صحرایی آلزایمری شده با نوروتوکسین تری‌متیل‌تین بود. نتایج نشان داد مقدار بیان ژن هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB در گروه کنترل سالم هفته آخر کمتر از گروه کنترل سالم هفته اول بود. همچنین القای آلزایمر با نوروتوکسین تری‌متیل‌تین موجب کاهش سطوح هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB در موش‌های صحرایی گردید. به عبارتی سطوح بیان ژن هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB در گروه کنترل سالم هفته آخر، کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر هفته اول و گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر هفته آخر به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل سالم قربانی هفته اول بود. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش سن یکی از اصلی ترین عوامل خطرزا برای کاهش عملکرد شناختی و کاهش نروتروفین ها است (۱۳). به نظر کاهش بیان ژن هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB، به افزایش استرس اکسایشی وابسته به سن، در نمونه های حیوانی و انسانی باشد. با توجه به اینکه رادیکال‌های آزاد و عوامل استرس اکسایشی تمایل به ترکیب سریع با پروتئین‌ها دارند و موجب تغییراتی در ساختار آنها می‌کنند، موجب تخریب سلول‌های گلیا و گیرنده‌های نوروتروفین در سطح سلول و حتی نوروتروفین‌های آزاد در سیتوزول می‌شوند (۱۳). همچنین افزایش سن با افزایش عوامل التهابی، نقص در سیستم ایمنی و التهابی موجب کاهش سطوح BDNF و گیرنده TrKB می گردد (۱۰). در راستای مطالعه حاضر مشاهده شده است که عملکرد شناختی در حیوانات سالمند نسبت به حیوانات جوان‌تر کاهش می‌یابد؛ همچنین در این مطالعه گزارش شده است که سطوح BDNF و گیرنده TrKB در موش‌های سالمند پس از سکته مغزی نسبت به موش های

صحرایی جوان پس از سکته مغزی به طور معنی داری کاهش می‌یابد (۱۰). افزایش سن با کاهش سطوح BDNF و پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی از آن مرتبط است به گونه‌ای که افزایش سن موجب کاهش بیان ژن این پروتئین‌ها می‌شود(۱۳). از سویی دیگر با توجه به تأثیر نوروتوکسین تری‌متیل‌تین بر کاهش بیان ژن هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB ، به نظر می‌رسد این نوروتوکسین که به طور گسترده جهت شبیه سازی بیماری آلزایمر مورد استفاده محققین قرار می‌گیرد با افزایش التهاب و استرس اکسایشی موجب آپوپتوز در میکروگلیاها و استروسیت‌ها شده و با کاهش پلاستیسیته نورون و نقص عملکرد نوروترانسمیترها همراه است؛ به گونه ای که در مطالعات گوناگون نشان داده شده است که این نوروتوکسین با افزایش رادیکال‌های آزاد، التهاب و آپوپتوز موجب کاهش پلاستیسیته نورون و نقص در سنتز نوروتروفین‌ها در هیپوکامپ می‌گردد (۳و۱۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته تمرین استقامتی اثر معنی‌داری بر افزایش بیان ژن هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB نسبت به گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر هفته اول، کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر قربانی هفته آخر و گروه کنترل سالم قربانی هفته آخر نداشت. محققین بر این اعتقادند که تمرینات ورزشی با بهبود عملکرد شناختی در ارتباط هستند، به گونه‌ای که تغییر سبک زندگی از غیر فعال بودن به فعالیت های ورزشی موجب بهبود حافظه و یادگیری در افراد سالمند می‌گردد. مکانیسم‌های سلولی مولکولی که در نتیجه انجام فعالیت‌های ورزشی روی می‌دهد منجر به آنژیوژنز، نوروژنز، افزایش فضای سیناپسی و بهبود عملکرد آن و در نهایت افزایش حافظه و پلاستیسیته نورون های سیستم عصبی مرکزی می‌گردد (۶). اگرچه محققین زیادی اثرات مطلوب تمرینات ورزشی را بر بهبود نوروتروفین‌هایی همچون BDNF را عنوان کرده‌اند اما به نظر می‌رسد اثر گذاری تمرینات ورزشی به سطوح پایه این متغیرها وابسته است. همچنین عنوان شده است که ممکن است تمرینات ورزشی خود مقداری استرس اکسایشی نیز تولید کنند (۸و۲۲). به گونه ای که مطالعات نشان می دهند افزایش استرس اکسیداتیو موجب کاهش نوروترانسمیتر ها و نوروتروفین ها در سرم و بافت هیپوکامپ می شود (۵ و۹۱). در این راستا محققین اشاره نمودند که کاهش FNDB متعاقب فعالیت های ورزشی در مردان جوان و میانسال به طور قابل توجهی به ساعت های تمرین در هفته وابسته بود (۶)؛ همچنین از آنجا که در مطالعه حاضر نوروتوکسین تری‌متیل‌تین سطوح پایه BDNF و گیرنده TrKB را به طور قابل توجهی کاهش داد، به نظر می رسد معنی دار نبودن افزایش BDNF و گیرنده TrKB در گروه تمرین استقامتی را به افزایش استرس اکسایشی، افزایش لاکتات و افزایش کورتیکواسترون‌ها مرتبط دانست، که احتمالا نقش مهاری در بیان BDNF دارند (۸). همسو با مطالعه حاضر فریرا و همکاران[1] (۲۰۱۱) نشان دادند که دو هفته و روزانه ۲۰ دقیقه تمرین استقامتی با شدت متوسط اثر معنی داری بر تغییرات BDNF در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نداشت (۸). سویا و همکاران[2] (۲۰۰۷) نیز مشاهده کردند که

1 Ferreira et al.
2 Soya et al.

یک دوره تمرین استقامتی با شدت متوسط اثر معنی‌داری بر افزایش BDNF در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی ندارد (۲۲). این در حالی است که آلبک و همکاران[1] (۲۰۰۶) عنوان کرده‌اند که هفت هفته تمرینات استقامتی با شدت متوسط موجب افزایش سطوح نوروتروفین‌ها در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی سالمند شده است (۱). به نظر می‌رسد تفاوت در نتایج مطالعه حاضر و مطالعه آلبک و همکاران (۲۰۰۶) به سطوح پایه متغیرها، تفاوت در نمونه آماری و پرتکل تحقیقی مرتبط باشند. برخی محققین تمرینات تناوبی شدید را برای افزایش سطوح هیپوکامپی BDNF و گیرنده TrKB توصیه نموده‌اند (۱۴). با توجه به نقش عواملی چون آمیلوئید بتا، و استرس اکسایشی در تغییرات BDNF و گیرنده TrKB به نظر می‌رسد یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر عدم اندازه گیری این متغیر ها در کنار متغیرهای تحقیق حاضر باشد، از این رو پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی به ویژه در شبیه‌سازی بیماری آلزایمر این متغیرها نیز مورد ارزیابی قرار گیرند. همچنین با توجه به تأثیر نوع تمرین بر تغییرات متغیرهای تحقیق حاضر به نظر می‌رسد از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر در نظر نگرفتن تمرینات متفاوت و مدت زمان‌های متفاوت جهت کسب اطلاعات بیشتر در این زمینه باشد، از این رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی اثر انواع تمرینات ورزشی با شدت و مدت‌های مختلف بر تغییرات BDNF و گیرنده TrKB در بافت هیپوکامپ مورد بررسی قرار گیرد. به طور کلی به نظر می‌رسد، تمرین استقامتی با شدت پروتکل این تحقیق اثر معنی داری بر افزایش BDNF و گیرنده TrKB در مدل شبیه سازی شده دژنراتیو هیپوکامپ ندارد، اما مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

1 Albeck et al.

منابع

1. Albeck DS, Sano K, Prewitt GE, Dalton L. (2006). Mild forced treadmill exercise enhances spatial learning in the aged rat. Behav Brain Res, 168: 345-348.
2. Arvin H, Tavakol L. (2017). Effect of 8 weeks selected Spark Motor Program on brain derived neurotrophic factor in intellectually disabled educable boys. J Physic Act Horm, 1: 13-22.
3. Baziyar Y, Edalatmanesh MA, Hosseini SA, Zar A. (2016). The effects of endurance training and gallic acid on BDNF and TNF-α in male rats with Alzheimer. Int J Appl Exerc Physiol, 5: 45-54.
4. Cummings J, Lee G, Ritter A, Sabbagh M, Zhong K. (2019). Alzheimer's disease drug development pipeline: 2019. Alzheimer's Dement (New York, N Y), 5: 272-293.
5. Dabidi, R. V., Hosseinzadeh, S., Mahjoub, S., Hosseinzadeh, M., & Myers, J. (2013). Endurance exercise training and diferuloyl methane supplement: changes in neurotrophic factor and oxidative stress induced by lead in rat brain. Biology of sport, 30(1), 41–46.
6. De la Rosa A, Solana E, Corpas R, Bartrés-Faz D, Pallàs M, Vina J, et al. (2019). Long-term exercise training improves memory in middle-aged men and modulates peripheral levels of BDNF and Cathepsin B. Sci Rep, 9: 3337.
7. Eremenko E, Mittal K, Berner O, Kamenetsky N, Nemirovsky A, Elyahu Y, et al. (2019). BDNF-producing, amyloid β-specific CD4 T cells as targeted drug-delivery vehicles in Alzheimer's disease. EBioMedicine, 43: 424-434.
8. Ferreira AFB, Real CC, Rodrigues AC, Alves AS, Britto LRG. (2011). Short-term, moderate exercise is capable of inducing structural, BDNF-independent hippocampal plasticity. Brain Res, 1425: 111-122.
9. Fonseca-Gomes J, Jerónimo-Santos A, Lesnikova A, Casarotto P, Castrén E, Sebastião AM, et al. (2019). TrkB-ICD fragment, originating from BDNF receptor cleavage, is translocated to cell nucleus and phosphorylates nuclear and axonal proteins. Front Mol Neurosci, 12: 4.
10. Houlton J, Zhou LYY, Barwick D, Gowing EK, Clarkson AN. (2019). Stroke induces a BDNF-dependent improvement in cognitive flexibility in aged mice. Neural Plast, 2019: 1460890.
11. Iuliano E, di Cagno A, Cristofano A, Angiolillo A4, D'Aversa R4, Ciccotelli S, et al. (2019). Physical exercise for prevention of dementia (EPD) study: background, design and methods. BMC Public Health, 19: 659.
12. Kaur S, Sharma N, Nehru B. (2018). Anti-inflammatory effects of Ginkgo biloba extract against trimethyltin-induced hippocampal neuronal injury. Inflammopharmacology, 26: 87-104.
13. Lee Y Il, Kim YG, Pyeon HJ, Ahn JC, Logan S, Orock A, et al. (2019). Dysregulation of the SNARE-binding protein Munc18-1 impairs BDNF secretion and synaptic neurotransmission: a novel interventional target to protect the aging brain. GeroScience, 41: 109-123.
14. Luo L, Li C, Deng Y, Wang Y, Meng P, Wang Q. (2019). High-intensity interval training on neuroplasticity, balance between brain-derived neurotrophic factor and precursor brain-derived neurotrophic factor in poststroke depression rats. J Stroke Cerebrovasc Dis, 28: 672-682.

15. Mitra S, Behbahani H, Eriksdotter M. (2019). Innovative therapy for Alzheimer's disease-with focus on biodelivery of NGF. Front Neurosci, 13: 38.
16. Ng TKS, Ho CSH, Tam WWS, Kua EH, Ho RC-M. (2019). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in patients with Alzheimer's disease (AD): A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Mol Sci, 20: 257.
17. Prpar Mihevc S, Majdič G. (2019). Canine cognitive dysfunction and Alzheimer's disease - two facets of the same disease? Front Neurosci, 13: 604.
18. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani M, Nasehi M. (2017). The effects of high-intensity interval training with supplementation of Ffaxseed oil on BDNF mRNA expression and pain feeling in male rats. Ann Appl Sport Sci, 5: 1-12.
19. Roh, H. T., & So, W. Y. (2017). The effects of aerobic exercise training on oxidant-antioxidant balance, neurotrophic factor levels, and blood-brain barrier function in obese and non-obese men. Journal of sport and health science, 6(4), 447–453.
20. Salehi OR, Hosseini SA, Farkhaie F, Farzanegi P, Zar A. (2019). The effect of moderate intensity endurance training with genistein on brain-derived neurotrophic factor and tumor necrosis factor-α in diabetic rats. J Nutr Fasting Heal, 7: 44-51.
21. Sanders, L. M. J., Hortobágyi, T., Karssemeijer, E. G. A., Van der Zee, E. A., Scherder, E. J. A., & Van Heuvelen, M. J. G. (2020). Effects of low-and high-intensity physical exercise on physical and cognitive function in older persons with dementia: a randomized controlled trial. Alzheimer's research & therapy, 12(1), 1-15.
22. Soya H, Nakamura T, Deocaris CC, Kimpara A, Iimura M, Fujikawa T, et al. (2007). BDNF induction with mild exercise in the rat hippocampus. Biochem Biophys Res Commun, 358: 961-967.
23. Tari AR, Norevik CS, Scrimgeour NR, Kobro-Flatmoen A, Storm-Mathisen J, Bergersen LH, et al. (2019). Are the neuroprotective effects of exercise training systemically mediated? Prog Cardiovasc Dis, 62: 94-101.
24. Zhang Z, Wang B, Fei A. (2019). BDNF contributes to the skeletal muscle anti-atrophic effect of exercise training through AMPK-PGC1α signaling in heart failure mice. Arch Med Sci, 15: 214-222.

Metabolism and Exercise
A bioannual journal

Vol 9, Number 2, 2019-2020

University Of Guilan

The effect of eight weeks moderate-intensity endurance training on hypocampic brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor gene expression in the rats with hippocampal degeneration model

Akbari F[1], Moghadasi M [2]*, Farsi S [3], Edalatmanesh MA[4]

Received: 11/12/2019 Accepted: 20/8/2020

Abstract

Aim: Alzheimer disease is characterized by progressive cognitive decline accompanied with hypocampic neurotrophins reduction. The effects of exercise on hypocampic changes in these patients are not well known. The purpose of the present study was to examine the effect of eight weeks moderate-intensity endurance training on hypocampic brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine kinase B (TrkB) receptor gene expression in the rats with hippocampal degeneration model.

Method: In this experiment, twenty-four mature Sprague-dawley male rats were subjected to Alzheimer's disease through intraperitoneally injection of 8 mg/kg Trimethytin (TMT) and then were divided into (1) Alzheimer-infected control group, (2) endurance training, and (3) sham to study the impact of the disease on the variables. Sixteen healthy rats were assigned to the control group that eight rats sacrifice at first week and eight rats sacrifice at last week. The rats in the endurance training group ran on a treadmill with the speed of 15 to 20 meters per minute for 15 to 30 minutes in each session, 3 times a week for 8 weeks. To analyze the results, one-way ANOVA and Tukey post hoc test were run using SPSS.

Results: The results revealed that induction of Alzheimer's disease by TMT decreases the BDNF (P=0.001) and TrkB receptor (P=0.001) gene expression in rats. The results, also indicated that there were no significant differences in hypocampic BDNF (P=0.25) and TrkB receptor (P=0.99) gene expression between endurance training group and sham group.

Conclusion: According to the study results, it seems that endurance training with specific intensity and duration utilized in this study had not significant effect on changes of hypocampic BDNF and TrkB receptor gene expression in the rats with hippocampal degeneration model. Further studies are needed in this field.

Keywords: Endurance training, Brain-derived neurotrophic factor, Tyrosine kinase B receptor, Hippocampus, Alzheimer disease.

1.Ph.D candidate in exercise physiology, 2. Associate professor in exercise physiology, Islamic Azad University, Shiraz branch, 3. Assistant professor in exercise physiology, Islamic Azad University, Larestan branch, 4. Assistant professor in physiology, Islamic Azad University, Shiraz branch

*****Email: mehrzad.moghadasi@gmail.com