Jundishapur
Journal of Medical Sciences

July, August 2022. Volume 21. Number 3

Research Paper

The Effect of Aerobic Training before Alzheimer's Induction on the Expression of Calcineurin and Ca^{2+}/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Gene in the Hippocampus of Rats with Alzheimer's Disease

Mehrara Souri[1], Aliasghar Ravasi[1], Aylar Birar[2], Faeze Heydari[3], Haniyeh Yousefzadeh[1],* Abbas Hosseini[1]

1. Departmant of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
2. Departmant of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. Department of Physical Education and Sport Sciences, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Souri M, Ravasi A, Birar A, Heydari F, Yousefzadeh H, Hosseini A. [The Effect of Aerobic Training before Alzheimer's Induction on the Expression of Calcinurin and Ca^{2+}/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Gene Hippocampus in Rats with Alzheimer's Disease (Persian). Jundishapur Journal of Medical Sciences. 2022; 21(3):362-375. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2548

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2548

CC BY NC

ABSTRACT

Background and Objectives Regular aerobic exercise improves learning, memory, and cognitive and Synaptic Plasticity in Alzheimer's disease (AD) patients. The aim of this study was to evaluate the levels of calcineurin and Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II mRNA after four weeks of aerobic training exercises and before AD induction in the hippocampus of male Wistar rats.

Subjects and Methods Thirty 8-week-old rats with an average weight of 195±20 g were initially randomly divided into two groups of aerobic exercise or rest for four weeks. Then, each group was divided into three groups of AD, sham, and injection. Then, 48 hours after the last training session, Aβ1-42, or DMSO was injected into the hippocampus. Finally, after the isolation of the hippocampus, CaN mRNA and CaMKII mRNA levels were measured.

Results The results of this study showed that there was a significant difference between the groups in mRNA CaN and CaMKII mRNA levels ($P<0.05$). The results showed that aerobic exercise and AD pre-induction had a significant effect on increasing calcineurin and Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II levels.

Conclusion Overall, the findings of the present study showed that four weeks of aerobic training improves the molecular signaling of neuroplasticity in AD rats.

Keywords Aerobic Training, Alzheimer's Diseases, Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II, Calcineurin, Synaptic Plasticity

Received: 10 Jun 2021
Accepted: 25 Jun 2022
Available Online: 23 July 2022

**** Corresponding Author:***
Abbas Hosseini
Address: Exercise Physiology, Departmant of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
Tel: +98 (937) 5252969
E-Mail: abas.hoseiny69@gmail.com

Jundishapur
Journal of Medical Sciences

Extended Abstract

Introduction

Millions of people around the world are suffering from Alzheimer's disease (AD), and this disease is characterized by advanced and irreversible destruction of neurons [1]. Currently, the amyloid-beta (Aβ) hypothesis is strongly supported based on the fact that the early neuropathological signs of AD are extracellular deposits of Aβ plaques and the formation of optic fiber intracellular cells [2]. Although not all features of AD have been completely recapitulated, various animal models of AD have shown important features similar to the onset of the disease in humans. AD animals have a certain impairment in learning and memory function and have problems in various behavioral tasks, such as Morris blue maze, radial maze, and radial blue maze [2]. In addition to cognitive deficits, AD transgenic mice also have non-cognitive disorders (temper tantrums) compared to their wild-type counterparts. Learning and memory impairment in AD animals at the cellular level showed increased long-term depression (LTD) and suppressed long-term potentiation (LTP) [3]. In addition to progressive memory loss, patients with AD often exhibit noncognitive symptoms, such as depression, anxiety, and aggression that worsen as the disease progresses [3, 4]. Therefore, there is an urgent need for a new therapeutic approach that can improve cognitive deficits and reduce non-cognitive impairments. Available evidence shows the beneficial effect of regular exercise on both cognitive and non-cognitive functions in humans and laboratory animals [2, 3]. Trained animals showed an improved performance in spatial learning and memory tasks, such as Morris's water maze (MWM) and radial water maze (RAWM) [4، 5]. The aim of this study was to investigate the effect of aerobic exercise before AD induction on calcium calmodulin kinase type II and calcineurin expression levels in the hippocampus of male Wistar AD rats.

Methods

The subjects of this research were 30 eight-week-old-maleWistar rats with an average weight of 195±20 grams, which were obtained from the Pasteur Institute in Tehran. After a week of familiarization with the environment, all rats were exposed to the treadmill running for one week (10 minutes at a speed of 10 m/min and five days a week). Then, the rats were divided into two groups by a simple random method: the exercise group and the rest group. The sports activity group performed aerobic exercise for four weeks, and the rest group was exposed to the silent treadmill running at the same time as the exercise group so that the environmental conditions were the same for all rats. The aerobic training protocol was such that the rats were trained on the treadmill five days a week for four weeks. The speed of the treadmill in the first and second weeks of training was 10 m/min, which was performed in two 15-minute shifts with a 5-minute break in between. In the third and fourth weeks, the speed and number of turns increased to three and four, respectively, with three 5-minute breaks between them [9]. The rats were divided into three groups by a simple random method and each group was again divided into two subgroups. After sacrificing the rats, the tissues for immunohistochemistry were kept at 4°C. RT-PCR method was used to measure the expression levels of CaMKII mRNA and CaN mRNA.

Results

The results of the present study showed that there was a significant difference in the CaMKII levels between the groups (sig=0.0001, η2=0.98, F=192.83). There was a significant difference in the CaN levels between the groups (sig=0.0001, η2=0.98, F=296.53). The results of Tukey's post hoc test showed that there was a significant difference between the Aβ injection group-rest and Aβ injection - aerobic exercise in the level of CaMKII (P=0.0001) and also between the Aβ injection group - rest and DMSO injection - aerobic exercise (P=0.0001). In addition, there was a significant difference between Aβ injection group - aerobic exercise and DMSO injection - rest (P=0.0001), Aβ injection group - aerobic exercise and no injection - rest (P=0.0001), and Aβ injection group - aerobic exercise and without injection - aerobic training (P=0.0001). Also, there was a significant difference between the DMSO injection- rest and DMSO injection- aerobic training group (P=0.0001). In addition, there was a significant difference between the DMSO injection group - aerobic exercise and no injection - rest (P=0.0001) and the DMSO injection group - aerobic exercise and no injection - aerobic exercise (P=0.0001). The results showed that there was no significant difference in the levels of CaN (P=1.00) between the Aβ injection-rest group and the Aβ injection-aerobic exercise group, but there was a significant difference in the rest of the groups.

Discussion

The findings of the present study showed the neuroprotective effect of exercise in the AD model. CaMKII phosphorylation decreased in Aβ rats. The possible mechanisms of the protective effects of exercise activity against brain dysfunction caused by Aβ are different. One potential role is probably the maintenance of molecules

that affect the central and peripheral nervous systems. The main factor among these molecules is CaMKII, especially the α subunit. Although α-CaMKII is the most abundant protein known in the brain, it is also present in skeletal muscle with an apparently nonfunctional kinase role [28]. In addition, it is well established that α-CaMKII plays a key role in learning and memory processes, as well as the induction and durability of LTP [6، 7]. Genetic knockout of the α-CaMKII gene results in cognitive deficits and LTP inhibition. Heterozygous mice lacking a genetic mutation in α-CaMKII showed deficits in memory and behavioral performance indicative of mood changes [29]. Consistent with the findings of the present study, other studies also have shown that regular exercise increases CaMKII mRNA expression in rat hippocampus and CaMKII expression and activity in human skeletal muscles [30]. These exercise-induced molecular effects appear to contribute to the ability of exercise to prevent AD-induced depression. According to the findings of the present study and the cellular importance of the mechanisms involved in the improvement of cognitive and memory factors, it is recommended to investigate the other variables, including Aβ plaques, tau protein, and BDNF in future studies of aerobic exercises in periods of 8 to 12 weeks in human and animal samples. Also, cognitive tests should be investigated in future studies. In general, the findings of the present study showed that four weeks of moderate-intensity aerobic exercise on a treadmill increased and improved neuronal plasticity and cell signaling and prevented memory disorders in male Wistar AD rats.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran (Code: IR.UT.SPORT.REC.1396018).

Funding

This study was extracted from Mehrara Soori's master's, approved by the Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tehran. It was not funded by any organization.

Authors contributions

Conceptualization: Aliasqar Ravasi and Abbas Hosseini; investigation: Mehrara Soori and Abbas Hosseini; Editing & review: Faeze Heydari and Abbas Hosseini; visualization: Hanieh Yousefzadeh and Aylar Birar; Supervision and Project administration: Aliasqar Ravasi; Funding acquisition: Faculty of Physical Education and Sports Sciences University of Tehran.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the staff of the animal laboratory of Pasteur Institute of Iran for their cooperation.

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور
مرداد و شهریور ۱۴۰۱. دوره ۲۱. شماره ۳

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین هوازی پیش از القای آلزایمر بر بیان ژن کلسینورین و پروتئین کیناز وابسته به Ca^{2+}/ کالمودلین II هیپوکمپ رت‌های مبتلابه بیماری آلزایمر

مهرآرا صوری[۱]، علی‌اصغر رواسی[۱]، آیلار بیرار[۲]، فائزه حیدری[۳]، هانیه یوسف زاده[۱]، *عباس حسینی[۱]

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Souri M, Ravasi A, Birar A, Heydari F, Yousefzadeh H, Hosseini A. [The Effect of Aerobic Training before Alzheimer's Induction on the Expression of Calcinurin and Ca2+/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Gene Hippocampus in Rats with Alzheimer's Disease (Persian)]. Jundishapur Journal of Medical Sciences. 2022; 21(3):362-375. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2548

doi https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2548

CC BY NC

چکیده

زمینه و هدف فعالیت ورزشی منظم هوازی سبب بهبود یادگیری، افزایش میزان حافظه و متغیرهای شناختی و نوروپلاستیسیتی بیماران آلزایمری می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی میزان کلسینورین و کلسیم کالمودولین کیناز II پس از ۴ تمرین هوازی و پیش از القای آلزایمر در هیپوکمپ رت‌های نر نژاد ویستار می‌باشد.

روش بررسی ۳۰ رت ۸ هفته‌ای با میانگین وزن ۲۰±۱۹۵ گرم در ابتدا به‌صورت تصادفی به دو گروه تمرین هوازی یا استراحت به‌مدت ۴ هفته تقسیم شدند. سپس هر گروه به ۳ گروه بیماری آلزایمر، شم و تزریق تقسیم گردید. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، تزریق Aβ1-42 یا DMSO به درون هیپوکمپ صورت پذیرفت. در انتها پس از جداسازی هیپوکمپ mRNA CaN و mRNA CaMKII اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها نتایج این پژوهش نشان داد که بین گروه‌ها، در متغیرهای mRNA CaN و mRNA CaMKII تفاوت معناداری وجود دارد (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد که تمرین هوازی و پیش از القای آلزایمر بر افزایش میزان کلسینورین و افزایش کلسیم کالمودولین کیناز II تأثیر معناداری دارد.

نتیجه‌گیری به‌طور کلی یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ۴ هفته تمرین هوازی پیش از القای آلزایمر سبب بهبود سیگنالینگ مولکولی پلاستیسیتی سیناپسی می‌شود.

کلیدواژه‌ها تمرین هوازی، آلزایمر، کلسیم/کالمودولین کیناز II، کلسینورین، پلاستیسیتی سیناپسی

تاریخ دریافت: ۲۰ خرداد ۱۴۰۰
تاریخ پذیرش: ۰۴ تیر ۱۴۰۱
تاریخ انتشار: ۰۱ مرداد ۱۴۰۱

* **نویسنده مسئول:**
عباس حسینی
نشانی: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش.
تلفن: ۵۲۵۲۹۶۹ (۹۳۷) ۹۸+
رایانامه: abas.hoseiny69@gmail.com

مقدمه

میلیون‌ها انسان در سرتاسر جهان به بیماری آلزایمر[1] مبتلا هستند. این بیماری به تجزیه پیشرفته و غیرقابل برگشت نورون‌ها شناخته می‌شود [۱]. در حال حاضر، فرضیه آمیلوئید براساس این واقعیت که نشانه‌های نوروپاتولوژیک اولیه AD، رسوبات خارج سلولی پلاک آمیلوئید و تشکیل سلول‌های درون سلولی فیبر نوری می‌باشند، به شکلی قوی حمایت می‌شود [۲]. با وجود اینکه تمام ویژگی‌های AD کاملاً بازسازی نشده‌اند، مدل‌های مختلف حیوانی AD نشانه‌های مهم شبیه به ظهور بیماری در انسان را نشان داده‌اند. حیوانات AD دارای اختلال مشخصی از یادگیری و عملکرد حافظه هستند که در وظایف مختلف رفتاری مانند ماز آبی موریس، ماز شعاعی و ماز آبی شعاعی دچار مشکل هستند [۲]، موش‌های پیر ترنس ژنیک AD علاوه‌بر نقص شناختی، همچنین اختلالات غیرشناختی (مثلاً کج‌خلقی) را نسبت‌به همتایان نوع وحشی خود نشان می‌دهند. اختلال یادگیری و حافظه در حیوانات AD در سطح سلولی، افزایش افسردگی بلندمدت[2] (LTD) و پتانسیل بلند مدت سرکوب شده[3] (LTP) را نشان می‌دهند [۳]. به‌علاوه با از دست دادن پیشرفته حافظه، بیماران مبتلابه AD اغلب علائم غیرشناختی مانند افسردگی، اضطراب و پرخاشگری را نشان می‌دهند که با پیشرفت بیماری بدتر می‌شود [۳, ۴]. بنابراین، نیاز فوری به یک رویکرد درمانی جدید وجود دارد که بتواند نقص‌های شناختی را بهبود بخشد و همچنین اختلالات غیرشناختی را کاهش دهد. شواهد موجود نشان می‌دهد که اثر مفیدی از تمرین منظم در هر دو عملکرد شناختی و غیرشناختی در انسان و حیوانات آزمایشگاهی وجود دارد [۲, ۳]. حیوانات تمرین کرده یک عملکرد بهبود یافته در یادگیری فضایی و وظایف حافظه از قبیل ماز آبی موریس[4] و ماز شعاعی آبی[5] را نشان دادند [۴، ۵].

بیان LTP و LTD به ورود کلسیم به سلول پس سیناپسی نیاز دارد، به گونه‌ای که سطح بالایی از کلسیم درون سلولی باعث LTP می‌شود، اما تنها افزایش متوسطی در کلسیم می‌تواند منجربه LTD شود. درحالی‌که بیان LTP به عمل کینازها وابسته است، فسفاتازها مسئول بیان LTD هستند [۶]. دو مرحله مهم LTP به‌خوبی شناخته شده‌اند؛ مرحله ابتدایی E-LTP که تا سه ساعت طول می‌کشد و فاز طولانی مدت آخر (L-)، که تا بیش از سه ساعت یا چند روز طول می‌کشد. در سیناپس‌ها، E-LTP و L-LTP به‌ترتیب به‌عنوان آنالوگ‌های سلولی حافظه کوتاه‌مدت و بلندمدت درنظر گرفته می‌شوند. یک تمرین تکی تحریک فرکانسی بالا[6] (HFS) باعث E-LTP، با فرآیند مستقل پروتئینی می‌شود. آزادسازی گلوتامات گیرنده‌های گلوتامات پس سیناپسی را فعال می‌کند و همراه با آن غشای پس سیناپسی را به‌طور کافی دپلاریزه می‌کند، انسداد Mg^{2+} گیرنده‌های ان-متیل-دی-آسپارتات[7] اجازه ورود کلسیم به درون سلول را از بین می‌برد. هجوم یون Ca^{2+}/کالمودولین را از نروگرانین[8] جدا می‌کند و پروتئین کیناز Ca^{2+}/کالمودولین نوع II[9] را فعال می‌کند، که پس از فعال‌شدن به‌طور خودکار فسفوریله می‌شود. CaMKII به‌عنوان یک مولکول حیاتی عمل می‌کند که مدت زمان فعال‌شدن آن تعیین‌کننده انتقال یا پایداری LTP می‌باشد [۶، ۷].

ورزش منظم باعث کاهش آسیب مغزی می‌شود، عملکرد شناختی را افزایش می‌دهد و از کاهش حافظه در مغز پیر جلوگیری می‌کند [۸]. علاوه‌بر مطالعات حیوانی، تجزیه‌وتحلیل اپیدمیولوژیک در انسان نشان می‌دهد که ورزش منظم می‌تواند به‌عنوان یک درمان پیشگیرانه در برابر اختلالات شناختی (مثلاً فراموشی، زوال عقل) با حداقل هزینه و اثرات جانبی عمل کند [۶]. به‌نظر می‌رسد حفاظت عصبی ازطریق مکانیزم‌های مختلف مولکولی ازجمله تنظیم‌کننده نوروتروفین‌ها (مانند: BDNF[10]) و دیگر مولکول‌های مرتبط با عملکرد یادگیری و حافظه ازجمله CaMKII و کلسینورین[11]، که به نوبه خود باعث افزایش LTP و بهبود عملکرد در حافظه می‌شود، تأثیر می‌گذارد [۶]. در پژوهشی اخیراً حیوانات تمرین کرده نسبت‌به حیوانات بی‌تحرک عملکرد حافظه فضایی (به‌عنوان مثال MWM یا RAWM) بهتری را نشان دادند. همچنین با مسیر شنا کوتاه‌تر خطای کمتری را در پیداکردن پلت فرم هدف انجام دادند [۲]. علاوه‌بر این، گزارش شده است که فعالیت ورزشی بروی تردمیل اختلالات حافظه در موش‌هایی که تحت درمان با الکل [۸] یا محرومیت از خواب [۹، ۱۰] را بهبود می‌بخشد. علاوه‌بر این، مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که اختلالات شناختی ناشی از روند طبیعی پیری، انسداد مغزی یا پاتولوژی نیز می‌تواند توسط فعالیت ورزشی منظم بهبود یابد. فعالیت ورزشی علاوه‌بر اثرگذاری مفید بر روی عملکرد شناختی، همچنین به‌عنوان سایر درمان‌های دارویی یا روان درمانی برای اختلالات اضطراب و افسردگی اثبات شده است [۱۱]. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی پیش از آلقای آلزایمر بر کلسیم کالمودولین کیناز نوع II و کلسینورین در هیپوکمپ رت‌های آلزایمری نر نژاد ویستار است.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه آزمایشگاهی

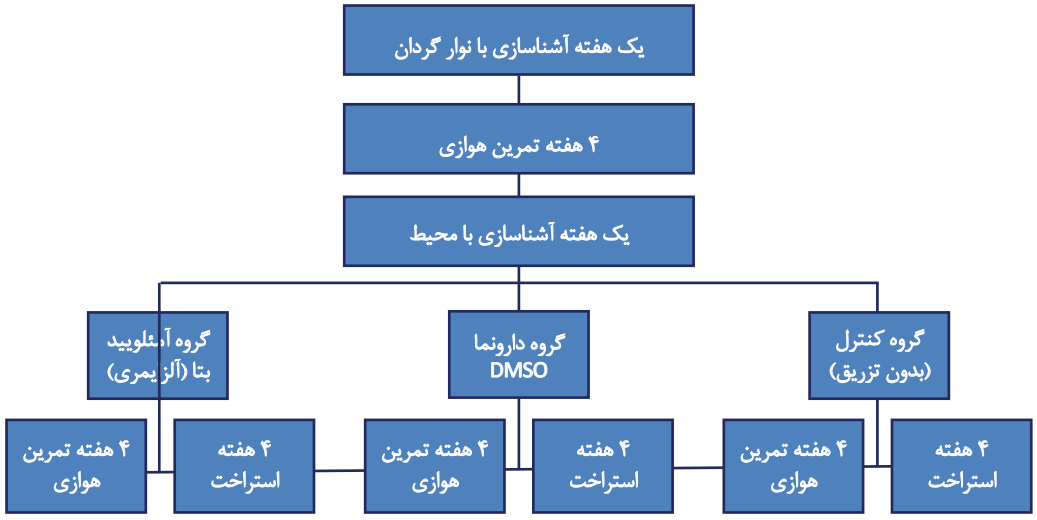
1. Alzheimers Disease (AD)
2. Long-Term Depression (LTD)
3. Long-Term Potentiation (LTP)
4. Morris Water Maze (MWM)
5. Radial Arm Water Maze (RAWM)
6. High Frequency Stimulation (HFS)
7. N-methyl-D-aspartate (NMDA)
8. Neurogranin (NMDA)
9. Ca2+/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Ii (CaMKII)
10. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)
11. Calcineurin (CaN)

تصویر ۱. شماتیکی از نحوه اجرای مداخله تمرینی

انجام شد. آزمودنی‌های تحقیق حاضر را تعداد ۳۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۰±۱۹۵ گرم تشکیل می‌دادند که از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. رت‌ها در دما ۲۲-۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت حدود ۴۵ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲-۱۲ نگهداری می‌شدند و در دسترسی به آب و غذای استاندارد محدودیتی نداشتند. تمام موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی این مطالعه براساس دستورالعمل مصوب کمیته اخلاق دانشکده تربیت‌بدنی دانشگاه تهران و انستیتو پاستور صورت پذیرفت. تمامی مراحل مطالعه به تأیید کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران با شماره مجوز IR.UT.SPORT.REC.1396018 رسید. بعد از یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری، تمامی رت‌ها به منظور آشناسازی با نوارگردان به‌مدت یک هفته (۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و پنج روز در هفته) در معرض آن قرار گرفتند. سپس رت‌ها به روش تصادفی ساده در ابتدا به دو گروه تقسیم شدند: گروه ورزش و گروه استراحت؛ گروه فعالیت ورزشی ۴ هفته تمرین هوازی را اجرا کردند. گروه استراحت هم‌زمان با گروه تمرین و با مدت مشابه با آن‌ها در معرض نوارگردان خاموش قرار گرفتند تا شرایط محیطی برای همه رت‌ها یکسان باشد.

پروتکل تمرین هوازی به این صورت بود که رت‌ها روی نوارگردان، ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته به تمرین می‌پرداختند. سرعت نوارگردان در هفته‌های اول و دوم تمرین، ۱۰ متر بر دقیقه بود که در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آن اجرا شد. در هفته سوم و چهارم به‌ترتیب سرعت و تعداد نوبت‌ها به سه و چهار نوبت افزایش یافت که با ۳ وقفه ۵ دقیقه‌ای بین آنها به فعالیت پرداختند (تصویر شماره ۱) [۹]. رت‌ها به روش تصادفی ساده به ۳ گروه تقسیم شدند و هر گروه نیز مجدداً به دو زیرگروه دیگر تقسیم شد (تصویر شماره ۲):

۱. گروه بدون تزریق (گروه کنترل)



تصویر ۲. شماتیک طرح مطالعه و تقسیم موش‌ها در گروه‌های مختلف

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد مطالعه در تحقیق حاضر

Gene	Forward/Reverse	Primer (5' 3')	Accession Number
MME	F	GCCTCAGCCGAAACTACAAG	XM_017590630.1
	R	ATAAAGCCTCCCCACAGCAT	
CaMKII	F	AACACTCTGCGTACCAAGGA	XM_017588831.1
	R	AGAAGGCTTCCACTCTGCTT	
CaN	F	CTACAACGAGTTTGCCAGCC	XM_008765393.1
	R	GTTTCCCAGTCGGTCCAGTA	
GAPDH	F	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	XM_017593963.1
	R	CATACTCAGCACCAGCATCACC	

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

MME: membrane metallo-endopeptidase (Neprilysin); CaMKII: Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II; CaN: calcineurin; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; F: forward primer; R: reverse primer

۱-۱. گروه کنترل این گروه به‌مدت ۴ هفته داخل قفس بودند و هیچ گونه فعالیتی نداشتند و به آن‌ها فقط آب و غذا داده شد (n=4).

۱-۲. گروه سالم: این گروه به‌مدت ۴ هفته تمرینات هوازی داشته‌اند (n=۴).

۲. گروه تزریق Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (sham)

۲-۱. کنترل+DMSO= رت‌ها در این گروه پس از تزریق DMSO به‌مدت ۴ هفته داخل قفس محافظت شدند و استراحت کردند (n=4).

۲-۲. گروه تمرین+DMSO= رت‌ها در این گروه پس از تزریق DMSO به‌مدت ۴ هفته تمرینات هوازی را انجام دادند (n=4).

۳. گروه آمیلوئید بتا (آلزایمری)

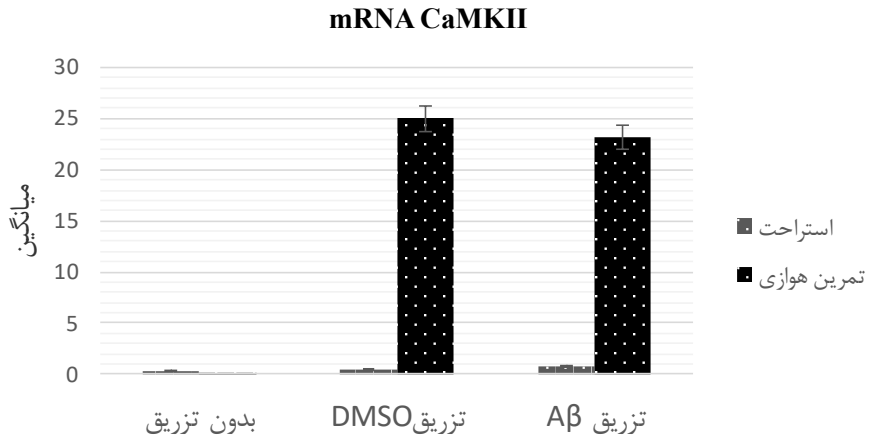
۳-۱. کنترل+آمیلوئید بتا= رت ها در این گروه پس از تزریق آمیلوئید بتا به‌مدت ۴ هفته داخل قفس نگهداری شدند و استراحت کردند (n=4).

۳-۲. گروه تمرین+آمیلوئید بتا= رت ها پس از تزریق آمیلوئید بتا به مدت ۴ هفته تمرینات هوازی را انجام دادند (n=4)

عمل جراحی و القای آلزایمر

به منظور آماده‌سازی Aβ، ابتدا پپتید Aβ1-42 انسانی (Abcam, cat. Ab120301) در محلول بافر DMSO 3 درصد (Sigma Aldrich, USA) با غلظت ۵ میکروگرم/میکرولیتر حل و سپس در مقادیر ۳۰ میکرولیتر به ازای هر ویال تقسیم و در دمای ۸۰- C° نگهداری شد. محلول آمیلوئیدبتا به‌مدت ۷ روز در دمای ۳۷ C° انکوبه شد تا بتا آمیلوئید به شکل فیبریل درآید [۱۲]. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و به‌دنبال استراحت شبانه، حیوانات توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس سر حیوانات در دستگاه استریوتاکس ثابت و با ایجاد شکافی طولی در بخش خلفی جمجمه، حفره‌ایی در موقعیت ۳/۸ عقب برگما (AP) و ۲/۲ میلی‌متر در طرفین شکاف طولی جمجمه ایجاد شد. سوزن میکرو سرنگ ۱ میکرولیتری همیلتون که در دستگاه استریوتاکس ثابت شده بود، ۲/۷ میلی‌متر پایین‌تر از سطح جمجمه قرار گرفت و تزریق درون هیپوکمپی Aβ1-42 (هر طرف ۱ میکرولیتر) صورت پذیرفت. تزریق به‌صورت آهسته و در مدت زمان ۵ دقیقه در هر سمت انجام می‌شد و پس از آن سوزن تزریق به مدت ۱ دقیقه در محل باقی می‌ماند و بعد خارج می‌شد [۱۳]. گروه شم نیز تمام مراحل آزمایشگاهی را همانند گروه تزریق Aβ1-42 تجربه کردند، با این تفاوت که در گروه sham میزان ۱ میکرو لیتر بافر DMSO 3 درصد، در هر یک از هیپوکمپ‌های دو سمت تزریق شد. جهت اطمینان از محل درست تزریق در مغز، سرنگ همیلتون با مختصات فوقالذکر در مغز دو حیوان خارج از مطالعه قرار گرفت. ۲۴ ساعت بعد، سر حیوان جدا و مغز از جمجمه استخراج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از سفتشدن نسج مغزی، مغز به‌صورت دستی برش داده شد و با میکروسکوپ موتیک از برش‌ها عکس‌برداری و محل نوروآناتومیکی نوک سوزن به‌وسیله اطلس پاکسینوس تأیید شد.

پس از قربانی‌کردن رت‌ها، بافت‌هایی که برای ایمونوهیستو شیمیایی بودند، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند. برای اندازه‌گیری بیان CaMKII Mrna و CaN mRNA از



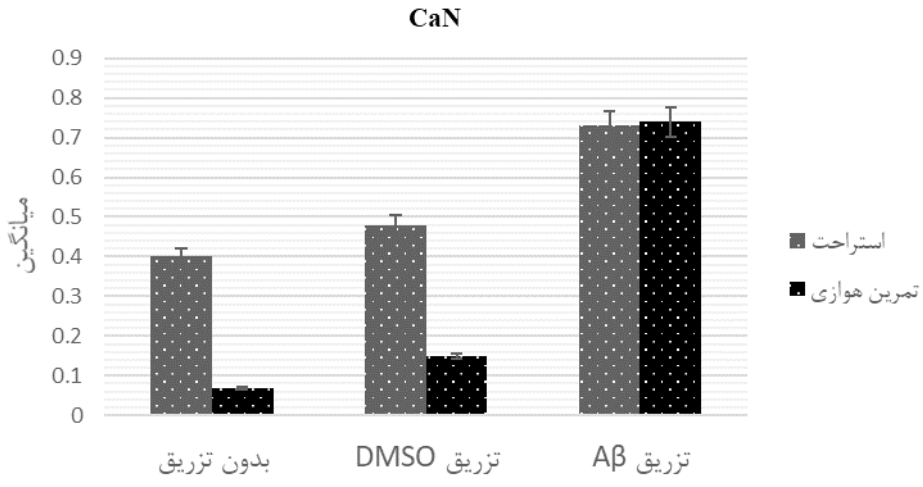
تصویر ۳. تغییرات میزان mRNA CaMKII در هیپوکمپ موش‌های مبتلا به بیماری آلزایمر

مجله علمی پزشکی جندی شاپور

روشRT-PCR استفاده شد. پس از جداسازی ناحیه هیپوکمپ راست از مغز، نیمی از آن برای اندازه‌گیری‌ها به‌کار رفت. بعد از هموژنایزکردن بافت هیپوکمپ، به‌منظور استخراج RNA بافت سانتریفیوژ گردید و با استفاده از آنزیم‌های مخصوص، cDNA سنتز شد. اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA با استفاده از روش کمی RT-PCR و با استفاده از طراحی پرایمر ژن صورت گرفت. ضمن اینکه از GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد. کمی کردن داده‌ها (نسبت بیان ژن موردنظر به ژن مرجع) با روش CTΔΔ-۲ صورت گرفت.

روش استخراج و آماده‌سازی بافت هیپوکمپ

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، پس از بیهوشی با اتر، سر حیوان به‌وسیله دستگاه گیوتین جدا و مغز کامل به سرعت 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- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت هیپوکمپ راست با روش هاونکوبی پودر گردید و جهت استخراج total RNA در ۱ میلی‌لیتر Isol RNA-Lysis reagent هموژن گردید. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول حاصل در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه، g۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق (۱۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. سپس با نسبت ۱ به ۵ کلروفرم با Isol اولیه مخلوط و به‌مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول به‌مدت ۳-۲ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میکروتیوب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به‌مدت ۱۵ دقیقه، g۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند،



تصویر ٤. تغییرات میزان mRNA CaN در موش‌های آلزایمری

مجله علمی پزشکی جندی شاپور

جدول ۲. یافته‌های آزمون توکی به‌منظور بررسی مقایسه تفاوت‌ها در متغیر کلسیم کالمودلین کیناز نوع ۲

گروه (I)	گروه (J)	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد	سطح معناداری
تزریق Aβ - استراحت	تزریق Aβ -تمرین هوازی	-۲۲/۴۳	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
	تزریقDMSO - استراحت	۰/۳۱	۱/۲۴	۱/۰۰
	تزریق DMSO- تمرین هوازی	-۲۴/۲۵	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ استراحت	۰/۴۸	۱/۲۴	۰/۹۹
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۰/۶۹	۱/۲۴	۰/۹۹
تزریق Aβ - تمرین هوازی	تزریقDMSO -استراحت	۲۲/۷۴	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
	تزریق DMSO -تمرین هوازی	-۱/۸۴	۱/۲۴	۰/۶۹
	بدون تزریق ـ استراحت	۲۲/۹۲	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۲۳/۱۲	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
تزریق DMSO - استراحت	تزریق DMSO -تمرین هوازی	-۲۴/۵۶	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ استراحت	۰/۱۷	۱/۲۴	۱/۰۰
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۰/۳۷	۱/۲۴	۱/۰۰
تزریقDMSO - تمرین هوازی	بدون تزریق ـ استراحت	۲۴/۷۳	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۲۴/۹۴	۱/۲۴	۰/۰۰۰۱
بدون تزریق ـ استراحت	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۲۰/۷۴	۱/۲۴	۱/۰۰

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. پلیت حاوی RNA در اتانول شست‌وشو و در ۲۰ میکرولیتر آب RNase-Free حل گردید.

تمام مراحل استخراج زیر هود و با مواد و وسائل کاملاً استریل انجام گرفت. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانو دراپ سنجیده و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۲/۱ -۱/۸ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. جهت اطمینان بیشتر از صحت تخلیص RNA، تعدادی از RNAs تخلیص شده به‌طور تصادفی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. سنتز cDNA به‌وسیله high-capacity cDNA reverse transcription kit و مطابق دستورالعمل آن انجام شد. تمام مراحل انجام کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase free انجام شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن CaM-KII و CaN با استفاده از پروتکل لیواک[12] و همکاران [۱۴]، روش کمی Real time-PCR در ابتدای کار میزان غلظت بهینه cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن (جدول شماره ۱) با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هرکدام به‌طور جداگانه مشخص گردید؛ 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 ۲۵۰ ng از cDNA انجام گرفت. برنامه Real time-PCR شامل: واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه، واسرشت در هر سیکل PCR در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه و باتوجه‌به دمای انلینگ پرایمرها هر سیکل به مدت ۳۰ ثانیه (۴۰ سیکل) درنظر گرفته شد. از ژن گلیسرآلدهید۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد و میزان بیان ژن موردنظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد [۱۴] و داده‌های بیان ژن با استفاده از از نرم افزار GraphPad PRISM 6 مورد بررسی و تحلیل قرار گرفتند.

برای بررسی طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. همچنین، آزمون لون برای بررسی همسان‌بودن واریانس‌ها به‌کار رفت. برای بررسی تغییرات متغیرهای وابسته در مراحل مختلف مطالعه، از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری یک‌راهه استفاده شد. جهت تجزیه‌و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. معناداری در سطح اطمینان ۹۵

12. Livak

جدول ۳. یافته‌های آزمون توکی به منظور بررسی مقایسه تفاوت ها در متغیر کلسینورین

گروه (ا)	گروه (ل)	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد	سطح معناداری
تزریق Aβ استراحت	تزریق Aβ. تمرین هوازی	-۰/۰۰۳	۰/۰۲	۱/۰۰
	تزریقDMSO. استراحت	۰/۲۵	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	تزریق DMSO. تمرین هوازی	۰/۵۸	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ استراحت	۰/۳۳	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۰/۶۶	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
تزریق Aβ. تمرین هوازی	تزریقDMSO. استراحت	۰/۲۵	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	تزریقDMSO.تمرین هوازی	۰/۵۸	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ استراحت	۰/۳۳	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۰/۶۶	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
تزریق DMSO. استراحت	تزریق DMSO. تمرین هوازی	۰/۳۲	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ استراحت	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۲۸
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۰/۴۰	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
تزریق DMSO. تمرین هوازی	بدون تزریق ـ استراحت	-۰/۲۴	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱
	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۲۰
بدون تزریق ـ استراحت	بدون تزریق ـ تمرین هوازی	۰/۳۲	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

درصد بررسی شد.

یافته‌ها

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در متغیر CaMKII بین گروه‌ها (sig=۰/۰۰۰۱، η^2=۰/۹۸، F=۱۹۲/۸۳)، تفاوت معناداری وجود دارد (تصویر شماره ۳). برای مقایسه جایگاه تفاوت‌ها بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید که نتایج آن در جدول شماره ۲ ارائه گردیده است.

همان‌طورکه در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه تزریق Aβ ـ استراحت و تزریق Aβ ـ تمرین هوازی در میزانCaMKII (P=۰/۰۰۰۱). همچنین بین گروه تزریق Aβ ـ استراحت و تزریق DMSO ـ تمرین هوازی (P=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنادار وجود دارد. علاوه‌بر این، بین گروه تزریق Aβ ـ تمرین هوازی و تزریقDMSO ـ استراحت (P=۰/۰۰۰۱)، گروه تزریق Aβ ـ تمرین هوازی و بدون تزریق ـ استراحت (P=۰/۰۰۰۱)، گروه تزریق Aβ ـ تمرین هوازی و بدون تزریق ـ تمرین هوازی (P=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنادار وجود دارد. همچنین بین گروه تزریق DMSO ـ استراحت و تزریق DMSO ـ تمرین هوازی (P=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنادار وجود دارد.

به‌علاوه بین گروه تزریق DMSO ـ تمرین هوازی و بدون تزریق ـ استراحت (P=۰/۰۰۰۱) و گروه تزریق DMSO_ تمرین هوازی و بدون تزریق ـ تمرین هوازی (P=۰/۰۰۰۱) تفاوت معنادار وجود دارد.

دیگر نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در متغیر CaN بین گروه‌ها (sig=۰/۰۰۰۱، η^2=۰/۹۸، F=۲۹۶/۵۳)، تفاوت معناداری وجود دارد (تصویر شماره ۴). برای مقایسه جایگاه تفاوت‌ها بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید که نتایج آن در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

همان‌طورکه در جدول شماره ۳ مشاهده می‌شود، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه تزریق Aβ ـ استراحت و تزریق Aβ ـ تمرین هوازی در میزان CaN (P=۱/۰۰) تفاوت معناداری وجود ندارد؛ اما در مابقی گروه‌ها تفاوت معنادار وجود دارد.

بحث

در این مطالعه، اثر ۴ هفته فعالیت ورزشی بر روی تردمیل بر یادگیری و حافظه و پلاستیسیتی سیناپسی در مدل موش صحرایی AD مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های مطالعه حاضر

تأثیر محافظت عصبی فعالیت ورزشی در مدل AD را نشان می‌دهند. در موش‌های Aβ فسفوریلاسیون CaMKII کاهش یافت.

تصور می‌شود که شکاف پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید[13] توسط خانواده‌های از سکرتازها باعث تولید Aβ1-42 Aβ1-40 و دیگر قطعات پپتیده می‌شود. با وجود اینکه، Aβ1-40 به‌عنوان فراوان‌ترین محصولات شکاف APP محسوب می‌شود، تصور می‌شود که Aβ1-42 یک آبشار آمیلوئیدوژنیک منجربه AD را شروع می‌کند [۱۵]. در شرایط فیزیولوژیک، پروتئین‌های آمیلوئید خارج سلولی می‌توانند توسط میکروگلیا برداشته شوند یا توسط نپریلیزین در مدت کوتاهی بعد از تولیدشان تخریب شوند [۱۶]. درنتیجه، عدم‌آزادسازی کافی Aβ، تجمع آمیلوئید و رسوب پلاک خارج سلولی را بهبود می‌بخشد [۱۵]. مکانیزم دقیقی که به‌وسیله آن تشکل پلاک آمیلوئید به AD منجر میشود، مشخص نیست. با این حال، پژوهشگران پی بردند که تجمع آمیلوئید منجر به نوروتوکسیتی می‌شود که اغلب با استرس اکسیداتیو، اختلال تنظیم کلسیم ازطریق تشکیل کانال آمیلوئید و گیرنده‌های گلوتامات، عدم‌تعادل متابولیکی و تغییرات مضر مسیرهای انتقال درون سلولی ارتباط دارد [۱۷]. علاوه‌بر این، مشتقات Aβ، هیپر فسفوریلاسیون تائو را ازطریق مدولاسیون کینازهایی که این پروتئین را فسفرولیه می‌کنند، تسهیل می‌کند [۱۸].

یافته‌های تحقیق دائو[14] و همکاران [۱۱] نشان داد که آسیب‌شناسی AD منجر به اختلالات غیرشناختی می‌شود و این اثرات مضر را می‌توان به‌وسیله فعالیت ورزشی منظم پیشگیری کرد (از محدودیت‌های مطالعه حاضر). شواهد فراوان نشان می‌دهد که ورزش منظم برای بهبود یادگیری و از دست دادن حافظه ناشی از محرومیت از خواب، استرس از دست دادن عزیزان و آلزایمر سودمند است [۹، ۱۹-۲۱]. مطالعه‌ای اخیراً نشان داد که در مدل موش‌های AD 3×Tg-AD، ورزش داوطلبانه مانع از اضطراب و کمبود عاطفه می‌شود [۱۹]. با این حال، مکانیزمی که توسط آن فعالیت ورزشی باعث اثرات محافظت عصبی در مغز AD می‌شود، هنوز معلوم نیست. ادعا شده است که با کاهش فشار استرس اکسیداتیو ناشی از AD (یعنی کاهش افزایش غیر طبیعی پراکسیداسیون لیپید)، فعالیت ورزشی باعث کاهش علائم غیر شناختی مرتبط با بیماری می‌شود. علائم رفتاری و روانشناختی کاهش یافته ناشی از فعالیت ورزشی در مدل AD مطالعه حاضر همراه با جلوگیری از تغییرات آسیب‌زای در سطوح سیگنال مهم مولکولی نظیر فسفوریلاسیون CaMKII و CaN همراه بوده است. این داده‌های آزمایشگاهی به خوبی با اثرات ضد انعقادی فعالیت ورزشی در بیماران مبتلابه AD مطابقت دارد [۹، ۱۹].

اینکه چگونه فعالیت عضلانی اثرات محافظتی را در CNS آغاز می‌کند، تاکنون پاسخی قطعی نداشته است، هرچند شواهدی مبنی‌بر "هماهنگی متقابل" بین عضلات اسکلتی و CNS وجود دارد. با افزایش سرعت دویدن، فرکانس تخلیه سلول‌های هرمی هیپوکامپ CA1 و اینترنورون‌ها افزایش می‌یابد [۲۲]. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که عضله می‌تواند عوامل متعددی را ایجاد کند که اثرات محافظتی روی مغز دارند [۲۳]. با وجودی که مکانیسم دقیق مولکولی مسئول اعمال متقابل بین عضلات اسکلتی و CNS هنوز روشن است، داده‌های آزمایشگاهی از دو مکانیسم حمایت می‌کنند. اولاً رویدادهای مرتبط با تعادل انرژی نقش مهمی در عملکرد CNS دارند [۲۴]. به‌عنوان مثال، فعالیت ورزشی بیان هیپوکمپی مولکول میتوکندری، uncoupling protein 2 (UCP2) را به‌صورت افزایشی تنظیم می‌کند، که به نوبه خود میتوکندری های عصبی را از استرس اکسیدانی محافظت می‌کند، تولید ATP را افزایش می‌دهد و سطح کلسیم طبیعی را تنظیم می‌کند [۲۵]. علاوه‌بر این، UCP2 همچنین می‌تواند سیگنالینگ BDNF و واسطه‌های پایین دستی آن مانند CREB و CaMKII را تعدیل کند [۲۶]. دوم، اینترلوکین -۶، یک سیتوکین ایمنی است که ممکن است مسئول عمل متقابل بین محیط و CNS باشد. طی تمرینات ورزشی، افزایش IL-6 با کاهش سطح گلیکوژن ارتباط دارد، که به نوبه خود می‌تواند تنظیم‌کننده مثبت هوموستاز گلوکز در مغز باشد [۲۷].

به خوبی مشخص شده است که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند بیان چند مولکول مرتبط با عملکرد شناختی (مثلاً BDNF، CaMKII) که عملکردهای آن به شدت تحت‌تأثیر آسیب‌شناسی AD قرار می‌گیرند، را تعدیل کند. به‌عنوان مثال، در طول القاء LTP سطح p-CaMKII به علت اختلال ناشی از AD فسفوریلاسیون CaMKII کاهش می‌یابد [۲۸]. در موش صحرایی سالم، HFS منجر به افزایش سطوح CaMKII فسفوریله شده و CaMKII تام می‌شود. داده‌های مطالعه دائو و همکاران نشان داد که HFS قادر نیست به میزان قابل توجهی سطح p-CaMKII را در موش‌های Aβ افزایش می‌دهد و این تغییر ازطریق فعالیت ورزشی جلوگیری می‌شود حتی اگر سطح کل CaMKII در همه گروه‌ها بعد از HFS تغییری نداشته باشد [۱۱]. این یافته نشان می‌دهد که بیماری به‌طور عمده پروسه فسفوریلاسیون فعال شده توسط CaMKII را هدف قرار می دهد که یک مرحله حیاتی برای القاء LTP است. علاوه‌بر مهار LTP، قرارگرفتن در معرض آمیلوئید می‌تواند منجر به تنظیم افزایشی مقادیر فسفاتازهایی شود که فعال‌سازی CaMKII را تنظیم می‌کنند. PP2B (CaN) یک مکانیسم جابه‌جایی LTP درنظر گرفته می‌شود زیرا کینازهای آن را غیرفعال می‌کند. در موش صحرایی سالم، HFS انتظار می‌رود سطح PP2B را افزایش دهد، که تصور می‌شود برای جلوگیری از اشباع LTP مهم است [۱۱]. یافته‌های مطالعه دائو و همکاران نشان داد که القاء LTP سطوح PP2B را در موش‌های کنترل تحریک شده و موش‌های Aβ به‌طور معناداری افزایش داد اما

13. Amyloid Precursor Protein (APP)
14. Dao

بر روی موش‌های تمرین کرده تأثیرگذار نیست. روی هم رفته، این یافته‌ها نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی تأثیر مثبت بر روی حافظه و LTP دارد که احتمالاً به‌وسیله بازیابی تعادل فسفاتاز کیناز طبیعی عمل می‌کند که با یافته‌های پژوهش حاضر همسو است [۱۱].

مکانیسم های احتمالی اثرات محافظتی فعالیت ورزشی در برابر اختلال عملکرد مغز ناشی از پپتیدهای آمیلوئید متفاوت هستند. یکی از نقش‌های بالقوه، احتمالاً حفظ مولکول‌هایی است که بر سیستم عصبی مرکزی و محیطی تأثیر می‌گذارد؛ عامل اصلی در میان این مولکول‌ها CaMKII، به‌ویژه زیر گروه α است. با وجودی‌که α-CaMKII فراوان‌ترین پروتئین شناخته شده در مغز است، همچنین در ماهیچه اسکلتی با نقش ظاهری غیرکارکردی کیناز نیز وجود دارد [۲۸]. علاوه‌بر این، به خوبی تأیید شده است که α-CaMKII نقش کلیدی در فرایندهای یادگیری و حافظه و همچنین القاء و دوام LTP دارد [۶، ۷]. ناک‌اوت کردن ژنتیکی ژن α-CaMKII منجر به نقص شناختی و انسداد LTP می‌شود. موش‌های هتروزیگوت که فاقد جهش ژنتیکی در α-CaMKII هستند، نقص در حافظه و عملکرد رفتاری نشان‌دهنده تغییر خلق‌وخوی را نشان دادند [۲۹]. همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهد که ورزش منظم بیان mRNA CaMKII هیپوکامپ موش صحرایی و بیان و فعالیت CaMKII در عضلات اسکلتی انسان را افزایش می‌دهد [۳۰]. به‌نظر می‌رسد این اثرات مولکولی ناشی از تمرین به توانایی ورزش برای جلوگیری از افسردگی ناشی از AD کمک می‌کند. باتوجه‌به یافته‌های مطالعه حاضر و اهمیت سلولی مکانیسم‌های درگیر در بهبود عوامل شناختی و حافظه، توصیه می‌شود در مطالعات آینده از تمرینات هوازی در دوره‌های ۸ تا ۱۲ هفته‌ای در نمونه‌های انسانی و حیوانی برای بررسی متغیرهای دیگر ازجمله پلاک‌های آمیلوئید بتا، پروتئین تائو و BDNF استفاده شود. همچنین آزمون‌های شناختی نیز در مطالعات آینده بررسی شود.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد ۴ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط بروی تردمیل سبب افزایش و بهبود سیگنالینگ سلولی پلاسیسیتی نورونی و جلوگیری از اختلالات حافظه در موش‌های آلزایمری ویستار نر می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعات بر روی موش‌های صحرایی نر آلزایمر ویستار انجام شده است و محققین اصول اخلاقی هلسینکی را در برخورد با حیوانات به‌طور کامل رعایت کرده‌اند و به تأیید کمیته اخلاق دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران با شماره IR.UT.SPORT.REC.1396018. رسیده است.

حامی مالی

این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهرآرا صوری با شماره ۸۲۶ در دانشگاه تهران است. حامی مالی مطالعه معاونت پژوهشی دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران بوده است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: علی‌اصغر رواسی و عباس حسینی؛ تحقیق و بررسی: مهرآرا سوری و عباس حسینی؛ تدوین و نگارش نهایی: فائزه حیدری و عباس حسینی، تصویرسازی: هانیه یوسف‌زاده و آیلار بیرار؛ سرپرست و مدیریت پروژه: علی‌اصغر رواسی؛ تأمین مالی: دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران.

تعارض منافع

باتوجه‌به اظهارنظر نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافعی در مقاله حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از پرسنل و مسئولین آزمایشگاه موش انستیتو پاستور ایران برای همکاری با عوامل پروژه قدردانی می‌شود.

References

[1] Shamsipour S, Sharifi G, Taghian F. An 8-week administration of Bifidobacterium bifidum and Lactobacillus plantarum combined with exercise training alleviates neurotoxicity of Aβ and spatial learning via acetylcholine in alzheimer rat model. J Mol Neurosci. 2021; 71(7):1495-505. [DOI:10.1007/s12031-021-01812-y] [PMID]

[2] Khodadadi D, Gharakhanlou R, Naghdi N, Salimi M, Azimi M, Shahed A, et al. Treadmill exercise ameliorates spatial learning and memory deficits through improving the clearance of peripheral and central amyloid-beta levels. Neurochem Res. 2018; 43(8):1561-74. [DOI:10.1007/s11064-018-2571-2] [PMID]

[3] Law CK, Lam FM, Chung RC, Pang MY. Physical exercise attenuates cognitive decline and reduces behavioural problems in people with mild cognitive impairment and dementia: A systematic review. J Physiother. 2020; 66(1):9-18. [DOI:10.1016/j.jphys.2019.11.014] [PMID]

[4] Dana A, Fallah Z, Moradi J, Ghalavand A. [The effect of cognitive and aerobic training on cognitive and motor function, and brain-derived neurotrophic factors in elderly men (Persian)]. J Motor Learn Movement. 2019; 10(4):537-52. [DOI:10.22059/jmlm.2018.252689.1352]

[5] Patten AR, Yau SY, Fontaine CJ, Meconi A, Wortman RC, Christie BR. The benefits of exercise on structural and functional plasticity in the rodent hippocampus of different disease models. Brain Plast. 2015; 1(1):97-127. [DOI:10.3233/BPL-150016] [PMID] [PMCID]

[6] Kojima H, Rosendale M, Sugiyama Y, Hayashi M, Horiguchi Y, Yoshihara T, et al. The role of CaMKII-Tiam 1 complex on learning and memory. Neurobiol Learn Mem. 2019; 166:107070. [DOI:10.1016/j.nlm.2019.107070] [PMID]

[7] Blitzer RD, Iyengar R, Landau EM. Postsynaptic signaling networks: Cellular cogwheels underlying long-term plasticity. Biol Psychiatry. 2005; 57(2):113-9. [DOI:10.1016/j.biopsych.2004.02.031] [PMID]

[8] Helfer JL, Goodlett CR, Greenough WT, Klintsova AY. The effects of exercise on adolescent hippocampal neurogenesis in a rat model of binge alcohol exposure during the brain growth spurt. Brain Res. 2009; 1294:1-11. [DOI:10.1016/j.brainres.2009.07.090] [PMID] [PMCID]

[9] 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. Neurobiol Dis. 2012; 45(3):1153-62. [DOI:10.1016/j.nbd.2011.12.039] [PMID]

[10] Sauvet F, Arnal PJ, Tardo-Dino PE, Drogou C, Van Beers P, Erblang M, et al. Beneficial effects of exercise training on cognitive performances during total sleep deprivation in healthy subjects. Sleep Med. 2020; 65:26-35. [DOI:10.1016/j.sleep.2019.07.007] [PMID]

[11] Dao AT, Zagaar MA, Levine AT, Salim S, Eriksen JL, Alkadhi KA. Treadmill exercise prevents learning and memory impairment in Alzheimer's disease-like pathology. Curr Alzheimer Res. 2013; 10(5):507-15. [DOI:10.2174/1567205011310050006] [PMID] [PMCID]

[12] Doost Mohammadpour J, Hosseinmardi N, Janahmadi M, Fathollahi Y, Motamedi F, Rohampour K. Non-selective NSAIDs improve the amyloid-β-mediated suppression of memory and synaptic plasticity. Pharmacol Biochem Behav. 2015; 132:33-41. [DOI:10.1016/j.pbb.2015.02.012] [PMID]

[13] Paxinos G, Watson C. The rat brain in sterotaxic coordinates. San Diego: Peress Academic; 1998. [Link]

[14] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001; 25(4):402-8. [DOI:10.1006/meth.2001.1262] [PMID]

[15] Ciccone L, Shi C, Di Lorenzo D, Van Baelen AC, Tonali N. The positive side of the Alzheimer's disease amyloid cross-interactions: the case of the Aβ 1-42 peptide with tau, TTR, CysC, and ApoA1. Molecules. 2020; 25(10):2439. [DOI:10.3390/molecules25102439] [PMID] [PMCID]

[16] Wang S, Colonna M. Microglia in Alzheimer's disease: A target for immunotherapy. J Leukoc Biol. 2019; 106(1):219-27. [DOI:10.1002/JLB.MR0818-319R] [PMID]

[17] Capone R, Jang H, Kotler SA, Connelly L, Teran Arce F, Ramachandran S, et al. All-d-enantiomer of β-amyloid peptide forms ion channels in lipid bilayers. J Chem Theory Comput. 2012; 8(3):1143-52. [DOI:10.1021/ct200885r] [PMID] [PMCID]

[18] John A, Reddy PH. Synaptic basis of Alzheimer's disease: Focus on synaptic amyloid beta, P-tau and mitochondria. Ageing Res Rev. 2021; 65:101208. [DOI:10.1016/j.arr.2020.101208] [PMID] [PMCID]

[19] García-Mesa Y, Pareja-Galeano H, Bonet-Costa V, Revilla S, Gómez-Cabrera MC, Gambini J, et al. Physical exercise neuroprotects ovariectomized 3xTg-AD mice through BDNF mechanisms. Psychoneuroendocrinology. 2014; 45:154-66. [DOI:10.1016/j.psyneuen.2014.03.021] [PMID]

[20] Yu F, Vock DM, Zhang L, Salisbury D, Nelson NW, Chow LS, et al. Cognitive effects of aerobic exercise in Alzheimer's disease: A pilot randomized controlled trial. J Alzheimers Dis. 2021; 80(1):233-44. [DOI:10.3233/JAD-201100] [PMID] [PMCID]

[21] De Sousa RAL, Rodrigues CM, Mendes BF, Improta-Caria AC, Peixoto MFD, Cassilhas RC. Physical exercise protocols in animal models of Alzheimer's disease: A systematic review. Metab Brain Dis. 2021; 36(1):85-95. [DOI:10.1007/s11011-020-00633-z] [PMID]

[22] da Costa Daniele TM, de Bruin PFC, de Matos RS, de Bruin GS, Maia Chaves C, de Bruin VMS. Exercise effects on brain and behavior in healthy mice, alzheimer's disease and parkinson's disease model-a systematic review and meta-analysis. Behav Brain Res. 2020; 383:112488. [DOI:10.1016/j.bbr.2020.112488] [PMID]

[23] Paroni G, Bisceglia P, Seripa D. Understanding the amyloid hypothesis in alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2019; 68(2):493-510. [DOI:10.3233/JAD-180802] [PMID]

[24] Jafari M, ghalavand A, Rajabi H, Khaledi N, Motamedi4 P. [A review of the effect of exercise training on neuromuscular junction in throughout life: A logical analysis of animal experimental studies (Persian)]. Razi J Med Sci. 2021; 28(3):37-47. [Link]

[25] Jiménez-Maldonado A, Rentería I, García-Suárez PC, Moncada-Jiménez J, Freire-Royes LF. The impact of high-intensity interval training on brain derived neurotrophic factor in brain: A mini-review. Front Neurosci. 2018; 12:839. [DOI:10.3389/fnins.2018.00839] [PMID] [PMCID]

[26] Zagaar M, Dao A, Levine A, Alhaider I, Alkadhi K. Regular exercise prevents sleep deprivation associated impairment of long-term memory and synaptic plasticity in the CA1 area of the hippocampus. Sleep. 2013; 36(5):751-61. [DOI:10.5665/sleep.2642] [PMID] [PMCID]

[27] Raines C, Frosig T, Escobar KA, Cotter JA, Schick EE. Acute resistance exercise at varying volume loads does not enhance plasma interleukin-6. Int J Kinesiol Sports Sci. 2020; 8(1):37-42. [Link]

[28] Alzoubi KH, Alhaider IA, Tran TT, Mosely A, Alkadhi KK. Impaired neural transmission and synaptic plasticity in superior cervical ganglia from β-amyloid rat model of Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res. 2011; 8(4):377-84. [DOI:10.2174/1567205117957453 11] [PMID]

[29] Reese LC, Laezza F, Woltjer R, Taglialatela G. Dysregulated phosphorylation of Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase II-α in the hippocampus of subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. J Neurochem. 2011; 119(4):791-804. [PMID] [PMCID]

[30] Rose AJ, Frøsig C, Kiens B, Wojtaszewski JF, Richter EA. Effect of endurance exercise training on Ca2+-calmodulin-dependent protein kinase II expression and signalling in skeletal muscle of humans. J Physiol. 2007; 583(2):785-95. [DOI:10.1113/jphysiol.2007.138529] [PMID] [PMCID]