فیزیولوژی ورزشی شماره ۳۱، پاییز ۱۳۹۵. صص ۱۸۸-۱۷۱

نقش تمرین هوازی و دریافت مکمل امگا سه بر سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری‌شده با هوموسیستئین

رضا قراری عارفی[۱]، مرضیه ثاقب‌جو[۲]، مهدی هدایتی[۳]، رزیتا فتحی[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشگاه بیرجند
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشگاه بیرجند*
۳. دانشیار بیوشیمی، دانشگاه علوم‌پزشکی شهید بهشتی
۴. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشگاه مازندران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۲۲

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی و دریافت مکمل امگا سه بر سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری‌شده با هوموسیستئین می‌باشد. بدین‌منظور، ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (سن ۱۲ هفته و میانگین وزن ۱۱/۹۱±۲۲۲/۳۱ گرم) به شش گروه مساوی آلزایمری + امگا سه، آلزایمری + تمرین، آلزایمری + تمرین + امگا سه، کنترل سالم، شم و کنترل آلزایمری تقسیم شدند. شایان‌ذکر است که برای القای آلزایمر از تزریق هوموسیستئین با دوز ۰/۶ مولار به درون بطن مغز استفاده شد و تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه (۶۰ دقیقه در هر جلسه، پنج روز در هفته روی نوار گردان) اعمال گردید. گروه‌های مکمل در مدت هشت هفته، روزانه ۸۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، مکمل امگا سه دریافت کردند. لازم‌به‌ذکر است که سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو به روش الایزا اندازه‌گیری گشت. تحلیل داده‌ها نیز با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام شد ($P<0.05$). نتایج نشان می‌دهد که سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو هیپوکامپ در گروه‌های آلزایمری + تمرین، آلزایمری + مکمل امگا سه و کنترل سالم نسبت به گروه کنترل آلزایمری به‌صورت معناداری پایین‌تر بود (مقادیر P به‌ترتیب ۰/۰۳، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۳). درمقابل، سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو هیپوکامپ در گروه آلزایمری + تمرین + مکمل امگا سه نسبت به گروه کنترل آلزایمری تفاوت معناداری نداشت ($P=0.34$). به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی و مصرف امگا سه به‌طور مستقل می‌توانند باعث کاهش پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری گردند و نیز این‌که استفادهٔ هم‌زمان از دو شیوه باعث تعدیل اثر هریک از این مداخلات می‌شود.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، اسید چرب امگا سه، آلزایمر، پروتئین تاو، هوموسیستئین

* نویسندهٔ مسئول Email: m_saghebjoo@birjand.ac.ir

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین بیماری تحلیل‌برندهٔ عصبی[1] در افراد سالخورده است (۱). این بیماری با علائم بالینی اختلال در حافظه و ادراک، اختلالات رفتاری و روانی و اختلال در فعالیت‌های روزانهٔ زندگی مشخص می‌شود (۲). دو علت آسیب‌شناسی این بیماری به‌صورت گسترده موردمطالعه قرار گرفته است که عامل اول، تجمع پپتید آمیلوئید بتا[2] (Aβ) است (که رسوبات به‌صورت پلاک آمیلوئیدی می‌توانند درون مغز تجمع کنند و تشکیل پلاک‌های پیری دهند) (۳) و دومین عامل، تجمع پروتئین‌های هایپرفسفریلهٔ تاو[3] می‌باشد (که به‌شکل نوروفیبریل‌های درهم‌پیچیده[4] می‌باشد) (۳،۴). رابطهٔ بین این دو آسیب‌شناسی تاکنون به‌صورت کامل شناخته نشده است، اما برای درمان موفقیت‌آمیز آن، این احتمال وجود دارد که نیاز به کاهش هر دو عامل باشد. مدل‌های موش آلزایمری برای بررسی روش‌های درمانی جدید با این امید که این یافته‌ها قابل‌تعمیم به انسان باشد بسیار مفید خواهد بود (۳).

تاو، پروتئینی متصل به میکروتوبول است و پروتئینی ساختاری و عملکردی در دستگاه عصبی می‌باشد (۵) که توسط فسفاتازها و کینازها تنظیم می‌شود (۴) و عمدتاً در سلول‌های عصبی دستگاه عصبی مرکزی بیان می‌شود (۶). به‌لحاظ عملکردی، پروتئین تاو نقش مهمی در محافظت، ثبات و گسترش اتصال میکروتوبول‌ها و ساختار ریخت‌شناسی طبیعی نورون‌ها دارد و در انتقال پیام در نورون‌ها بااهمیت می‌باشد (۷). این پروتئین، جفت‌شدن میکروتوبول‌ها را در بافت طبیعی افزایش می‌دهد و مراحل فعال رشد و تجمع آن‌ها را محدود می‌کند. جهش‌های ژن تاو با پیرایش نامناسب mRNA پیغامبر آن، سبب تغییرات غیرطبیعی پس از ترجمه از قبیل هایپرفسفریله‌شدن و نیز ایجاد تعدادی از اختلالات تحلیل‌برندهٔ عصبی می‌شود که درمجموع به تاو پاتی[5] (آسیب‌های تاو) معروف می‌باشد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که فسفریله‌شدن پروتئین تاو می‌تواند منجر به مرگ ناگهانی نورون‌ها شود. شایان‌ذکر است که نقش هایپرفسفریله‌شدن پروتئین تاو را در آسیب‌های عصبی نمی توان انکار کرد (۹،۸). درمورد آسیب‌های ناشی از فسفریله‌شدن تاو می‌توان به بیماری آلزایمر، پارکینسون و مولتیپل اسکلروزیس (ام.اس) اشاره نمود (۱۰). درخصوص علت رابطهٔ بین فسفوریلاسیون پروتئین تاو و اختلال در عملکرد عصبی اطلاعات دقیقی وجود ندارد، اما دو فرضیهٔ مهم در این مورد مطرح می‌باشد. فرضیهٔ اول بیان می‌کند که ازدست‌دادن عملکرد ممکن است به-

1. Neurodegenerative Disorder
2. Beta Amyloid Peptide
3. Hyper Phosphorylation of the Tau Protein
4. Neurofibrillary Tangles
5. Tauopathies

علت کاهش اتصال پروتئین فسفوریلهٔ تاو به میکروتوبول ایجاد شود و درنتیجه، باعث ایجاد بی‌ثباتی در میکروتوبول و اختلال در نقل‌وانتقال آکسون گردد. فرضیهٔ دوم نیز بیان می‌کند که افزایش پروتئین فسفریلهٔ تاو منجر به تجمع اثرات سمی در سلول‌های عصبی می‌شود. مطالعات اخیر در مدل‌های موش‌های تراریخته نشان می‌دهد که افزایش پروتئین فسفریلهٔ تاو باعث کاهش سلول‌های عصبی و اختلال در حافظه می‌شود و سرکوب بیان آن نیز منجر به بهبود در حافظه و افزایش تعداد اتصالات سیناپسی می‌گردد (۴).

علاوه‌براین، هوموسیستئین[1] یک مادهٔ متابولیکی میانجی مهم در سوخت‌وساز اسیدآمینه‌های حاوی گوگرد است و یک عامل خطر مستقل برای بیماری‌های عروق مغزی محسوب می‌شود. همچنین، - اسیدآمینه‌ای تحریکی است که به‌صورت قابل‌توجهی آسیب اکسیداتیو سلول‌های عصبی را افزایش می‌دهد. سطح بالای هوموسیستئین باعث مرگ سلول‌های عصبی در نواحی مختلفی از جمله ناحیهٔ هیپوکامپ (به‌عنوان مرکز حافظه و یادگیری)، قشر مغز و سلول‌های گرانول مخچه می‌شود. سطح پلاسمایی بیشتر از ۱۴ میکرومولار، به‌عنوان هایپرهوموسیستئینمیا[2] می‌باشد که به‌عنوان یک عامل خطر مستقل برای چندین بیماری تخریب‌کنندهٔ عصبی مانند بیماری آلزایمر، سکتهٔ مغزی و زوال عقل شناخته می‌شود. به‌تازگی پیشنهاد شده است که تزریق هوموسیستئین به درون بطن مغز، به آسیب حافظهٔ کوتاه‌مدت و بلندمدت منجر می‌شود. یکی از دلایلی که هوموسیستئین باعث ایجاد سمیت می‌شود این است که از طریق شکل‌گیری گونه‌های اکسیژن فعال سبب ایجاد استرس اکسیداتیو درون‌سلولی می‌شود که درنهایت، منجر به التهاب و مرگ سلول‌های عصبی می‌شود (۹).

علاوه‌براین، نقش عوامل ژنتیکی در بروز بیماری آلزایمر کمتر از یک درصد می‌باشد و نشان‌دهندهٔ این است که در اکثر موارد، عوامل محیطی نقش مهمی در بروز بیماری آلزایمر بازی می‌کند (۱۱). با توجه به شیوع این اختلالات، علاقهٔ علمی و بالینی زیادی به‌وجود آمده است تا روش‌های جدیدی توسعه یابند که بتوانند از شروع زودهنگام این بیماری جلوگیری نمایند و یا باعث کاهش پیشرفت بیماری شوند. بااین‌حال، شواهد نشان می‌دهد که داشتن یک رژیم غذایی و شیوهٔ زندگی سالم می‌تواند به پیش‌گیری از زوال عقل زودرس کمک نماید. همچنین، مصرف اسیدهای چرب اشباع‌نشده به‌ویژه اسید چرب امگا سه (۲)، ورزش منظم، اجتناب از مصرف غذاهای چرب، نکشیدن سیگار، نخوردن الکل و حفظ فعالیت‌های ذهنی و اجتماعی تا دوران پیری می‌تواند در کاهش خطر ابتلا به بیماری آلزایمر و زوال عقل کمک نماید (۱۲). مطالعات همه‌گیرشناسی نشان می‌دهد که افزایش مصرف اسیدهای چرب اشباع‌نشدهٔ امگا سه حاوی دوکوزاهگزانوییک اسید (DHA)[3]، با کاهش خطر

1. Homocysteine
2. Hyperhomocysteinemia
3. Docosahexaenoic acid

بیماری آلزایمر همراه می‌باشد. دوکوزاهگزانوییک اسید، فراوان‌ترین اسید چرب امگا سه در مغز می‌باشد. یافته‌های حاصل از مطالعات حیوانی از این فرضیه حمایت می‌کند که شاید DHA به‌واسطهٔ دارابودن خواص آنتی‌اکسیدانی و مکانیزم‌های حفاظتی عصبی و اثرات ضدآمیلوئیدی، یک روش درمانی برای بیماری آلزایمر باشد (۲). دراین‌راستا، ما[1] و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که پیروی از یک رژیم غذایی همراه با امگا سه به‌مدت چهار ماه باعث کاهش معنادار متغیرهای مرتبط با بیماری آلزایمر و بهبود عملکرد شناختی در موش‌های تراریختهٔ آلزایمری می‌شود (۱۳). آرندش[2] و همکاران (۲۰۰۷) نیز بیان کردند که یک رژیم غذایی سرشار از اسیدهای چرب امگا سه، تأثیری بر متغیرهای خونی مرتبط با آلزایمر و عملکرد شناختی در موش‌های تراریختهٔ آلزایمری ندارد (۱۴). علاوه‌براین، نتایج مشابهی توسط دوور[3] و همکاران (۲۰۰۹) و فروند[4] و همکاران (۲۰۰۹) در افراد مسن در-معرض بیماری آلزایمر مشاهده شده است (۱۵،۱۶).

در برخی از پژوهش‌ها نشان داده شده است که ورزش استقامتی طولانی‌مدت می‌تواند سطح پروتئین هایپرفسفریلهٔ تاوی را به‌صورت محسوسی کاهش دهد و به موازات آن، سطح پروتئین دفسفریلهٔ تاوی را افزایش دهد (۱۷). درهمین‌رابطه، لیم[5] و همکاران (۲۰۰۹) عنوان کردند که سه ماه تمرین استقامتی باعث کاهش پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری می‌شود. آن‌ها نتیجه گرفتند که ورزش استقامتی طولانی‌مدت ممکن است یک پتانسیل درمانی برای کاهش آسیب‌شناسی پروتئین تاو را ارائه نماید (۱۷). بلاربی[6] و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی تأثیر نه ماه تمرین ارادی در موش‌های آلزایمری‌شده پرداختند و نشان دادند که نه ماه تمرین ارادی باعث کاهش پروتیئن فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری می‌شود (۱۸). همچنین، این احتمال وجود دارد که ورزش طولانی‌مدت، تشکیل تجمعات نوروفیبریلی را سرکوب نماید. کاهش در پروتئین هایپرفسفریلهٔ تاوی می‌تواند به‌دلیل مهار یا فعال‌سازی تاوکینازها باشد (۱۷)، اما لیانگ[7] و همکاران (۲۰۱۰) نشانگرهای زیستی مرتبط با آلزایمر را در مایع مغزی ـ نخاعی افراد سالمند فعال و غیرفعال مقایسه نمودند و اختلاف معناداری را در میزان پروتئین تاو و هایپرفسفریلهٔ تاو بین دو گروه مشاهده نکردند (۱۹).

1. Ma
2. Arendash
3. Devore
4. Freund
5. Leem
6. Belarbi
7. Liang

با توجه به اطلاعات موجود، یافته‌های پژوهشی درزمینهٔ تأثیر مستقل تمرین ورزشی و مصرف امگا سه بر سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو، از توافق جمعی برخوردار نمی‌باشد. ازسوی‌دیگر، پژوهش‌های انجام‌شده درزمینهٔ تأثیر هم‌زمان انجام تمرین ورزشی و مصرف امگا سه بر سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو محدود است؛ لذا، در پژوهش حاضر به‌دنبال پاسخ‌گویی به این سؤال هستیم که درصورت بروز بیماری آلزایمر، آیا انجام تمرین هوازی و مصرف مکمل امگا سه به‌صورت مستقل می‌تواند باعث کاهش سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو شود؟ و نیز این‌که درصورت تأثیر مثبت احتمالی تمرین هوازی و مصرف مکمل امگا سه به‌تنهایی، آیا اعمال هم‌زمان این دو متغیر نیز می‌تواند منجر به بروز اثرات تجمعی در کاهش سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو شود؟

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع مطالعات تجربی است و به‌منظور انجام آن از ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با دامنهٔ وزنی ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم و سن هشت هفته استفاده شد که از انیستیتو پاستور شمال ایران (آمل) خریداری شدند و به آزمایشگاه جوندگان دانشکدهٔ علوم ورزشی دانشگاه مازندران منتقل گشتند. موش‌ها در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت هوای ۵±۵۰ درصد و چرخهٔ روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در قفس‌های پلی‌کربنات (پنج موش در هر قفس) نگهداری شدند. پس از رسیدن موش‌ها به دامنهٔ وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم، کانول‌گذاری و القای هوموسیستئین در گروه‌های آلزایمری و شم انجام شد. شایان‌ذکر است که در تمامی مراحل پژوهش، حیوانات دسترسی آزاد به غذا و آب داشتند. همچنین، لازم‌به‌ذکر است که تمامی مراحل اجرایی پژوهش شامل: کانول‌گذاری، القای آلزایمر، اجرای پروتکل تمرین، کشتار و بافت‌برداری، براساس آیین‌نامهٔ کمیتهٔ اخلاق در پژوهش زیستی دانشگاه مازندران انجام گرفت. ذکر این نکته ضروری است که تعداد موش‌ها در تمام گروه‌ها مساوی در نظر گرفته شد (۱۰ سر در هر گروه)، اما پس از جراحی و مراحل تمرین، درمجموع، ۱۲ سر موش به‌علت مرگ و یا ناتوانی در انجام تمرین مربوطه از گروه‌ها حذف شدند؛ بنابراین، تعداد نمونه‌های هر گروه تا پایان مطالعه به شرح ذیل بود: آلزایمری + امگا سه (هشت سر)، آلزایمری + تمرین (نه سر)، آلزایمری + تمرین + امگا سه (هشت سر)، کنترل سالم (نه سر)، شم (شش سر) و کنترل آلزایمری (هشت سر).

آماده‌سازی و تزریق درون‌بطنی[1] هوموسیستئین: هوموسیستئین مورداستفاده از شرکت سیگما[2] - (ساخت کشور آمریکا، تهیه‌شده از شرکت پادگین طب تهران) خریداری شد و برای تزریق آن، ابتدا

1. Intracerebroventricular (ICV) Injection
2. Sigma

پودر هوموسیستئین در بافر فسفات سالین[1] (PBS) ریخته شد و با افزودن اسید هیدروکلریک (یک مولار)، پودر هوموسیستئین درون PBS حل گردید. سپس، pH محلول با افزودن محلول سود NaOH (۰/۱ مولار) روی ۷/۴ تنظیم گشت و محلول هوموسیستئین تازه در غلظت ۰/۶ مولار آماده شد. در مرحله بعدی، در گروه شم، حلال هوموسیستئین (شامل اسید هیدروکلریک، PBS و NaOH می باشد که pH روی ۷/۴ تنظیم شد) و در گروه‌های آلزایمری، محلول هوموسیستئین درون بطن مغز تزریق گردید (۲۰). بدین‌منظور، موش‌های گروه‌های آلزایمری و شم با تزریق درون‌صفاقی کتامین و زایلازین (به‌ترتیب با دوز ۵۰ و چهار میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس، سر موش درون دستگاه استروتاکس[2] قرار داده شد و جمجمهٔ موش براساس اطلس پاکسینوس و واتسون[3] جهت‌گیری گردید. پس از یک برش ساجیتال، درز برگما و لامبدا مشخص گشت و سوراخی با مته براساس مختصات (۰/۸) میلی‌متر خلفی از برگما[4]، (۱/۵) میلی‌متر جانبی از درز ساژیتال[5] و (۳/۷) میلی‌متر بطنی[6] حفر گردید. سپس، کانول‌های بریده‌شده به‌طول ۱۰ میلی‌متر از جنس سر سوزن شماره ۲۲ توسط کانول راهنمای دستگاه استروتاکس، درون بطن مغز قرار داده شد و به کمک سیمان دندان‌پزشکی به جمجمه متصل گردید. یک هفته پس از کانول‌گذاری و ترمیم زخم، به‌وسیلهٔ یک سرنگ هامیلتون با قطر کانول ۰/۳ میلی‌متر، یک میکرولیتر از محلول هوموسیستئین و یا حلال هوموسیستئین با سرعت یک میکرولیتر در هر دو دقیقه به‌ترتیب به درون بطن مغز موش‌های گروه های آلزایمری و شم تزریق گشت و کانول سرنگ هامیلتون به‌مدت پنج دقیقه در محل نگه داشته شد تا محلول یا حلال هوموسیستئین در بطن مغز با انتشار غیرفعال از نوک کانول انجام شود (۲۰). ذکر این نکته ضروری است که هوموسیستئین جهت تزریق به‌صورت تازه تهیه گردید؛ زیرا، محلول حاصل به‌سرعت رسوب می‌کند.

آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال[7]: به‌منظور بررسی تغییرات رفتاری و اطمینان از ایجاد بیماری آلزایمر، از آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال (آزمون شاتل باکس)[8] استفاده شد. دستگاه شاتل باکس، وسیله‌ای جهت درک و بررسی حافظه و یادگیری برای حیواناتی نظیر موش می‌باشد که در آن از نور به‌عنوان محرک شرطی استفاده می‌شود. این آزمون شامل: مرحلهٔ یادگیری و مرحلهٔ

1. Phosphate Buffered Saline
2. Stereotax
3. Paxinos & Watson
4. Posterior to Bregma
5. Lateral to the Sagittal Suture
6. Ventrally
7. Passive Avoidance Test
8. Shuttle Box Test

حافظهٔ کوتاه‌مدت می‌باشد. شایان‌ذکر است که یک روز پس از مرحلهٔ یادگیری، آزمایش به‌خاطر-آوری انجام شد؛ بدین‌ترتیب که حیوان در محیط روشن دستگاه قرار می‌گرفت و پس از ۳۰ ثانیه، درب گیوتینی باز می‌شد و مدت‌زمانی که طول می‌کشید تا موش وارد اتاقک تاریک شود، ثبت می-گردید. ذکر این نکته ضروری است که جهت تأیید آلزایمری‌بودن می‌بایست زمان تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک نسبت به گروه کنترل سالم به‌صورت معناداری کمتر باشد (۲۰).

تمرین هوازی با شدت پایین: پس از انجام کانول‌گذاری و القای آلزایمر و نیز رسیدن موش‌ها به سن ۱۲ هفته، اجرای برنامهٔ تمرین هوازی به‌مدت هشت هفته (پنج روز در هفته) روی نوار گردان آغاز شد. شایان‌ذکر است که برنامهٔ تمرین از سه مرحلهٔ آشنایی، اضافه‌بار و تثبیت بار تشکیل شده بود. در مرحلهٔ آشنایی (هفتهٔ اول)، موش‌ها هر روز به‌مدت ۱۵ـ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه روی نوار گردان راه رفتند. در مرحلهٔ اضافه‌بار (هفتهٔ دوم و سوم)، موش‌ها ابتدا به‌مدت ۱۲ دقیقه با سرعت ۱۲ متر در دقیقه روی نوار گردان راه رفتند و به‌تدریج طی دو هفته، به شدت و مدت فعالیت افزوده شد تا به‌میزان نهایی ۶۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه برسد. در مرحلهٔ حفظ یا تثبیت (هفتهٔ چهارم تا هشتم) نیز تمرین با همین شدت ادامه یافت. این شدت فعالیت معادل ۵۰ تا ۵۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی موش می‌باشد (۲۱،۲۲).

مصرف مکمل امگا سه: گروه‌های دریافت‌کنندهٔ امگا سه در مدت هشت هفته، روزانه ۸۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش، مکمل امگا سه[1] را به‌صورت خوراکی و به‌روش گاواژ دریافت کردند (۲۳). مکمل امگا سه مورداستفاده شامل: ۱۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر DHA و ۱۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA)[2] بود (۲۴).

آماده‌سازی بافت و روش اندازه‌گیری پروتئین فسفریلهٔ تاو: تمامی آزمودنی‌ها ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین و دریافت مکمل امگا سه، با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی-گرم به‌ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (چهار میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند (۲۰). به-منظور جمع‌آوری نمونه‌های هیپوکامپ، سر آزمودنی‌ها از ناحیهٔ گردن توسط قیچی مخصوص جدا شد. ابتدا، با استفاده از تیغ جراحی، جمجمه شکافته شد و مغز با احتیاط خارج گردید. سپس، مغز سالم توسط تیغ جراحی (دقیقاً) از وسط به دو نیم تقسیم شد و با توجه به مختصات هیپوکامپ و به کمک اطلس پاک سینوس، هیپوکامپ از دستگاه لمبیک جدا گردید. سپس، نمونه‌های هیپوکامپ جمع‌آوری‌شده برای اندازه‌گیری‌های بعدی در دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۰). همچنین، به‌منظور اندازه‌گیری سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو، ابتدا ۵۰ میلی‌گرم از بافت هیپوکامپ در

1. Menhaden Fish Oil, Sigma co Germany, Product Number: F8020
2. Eicosapentaenoic Acid

محلول بافر سیترات ـ سالین سرد قرار داده شد. درادامه، بافت مذکور توسط میکروهموژنایزر به‌مدت ۱۰ دقیقه هوموژن گردید. سپس، بافت هوموژن‌شده، سانتریفوژ گشت و مایع رویی به داخل اپندورف منتقل شد. از این محلول برای اندازه‌گیری پروتئین فسفریلهٔ تاو در بافت هیپوکامپ استفاده گردید. سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو هیپوکامپ به روش الایزا با استفاده از کیت پژوهشی مخصوص موش‌های صحرایی (ساخت شرکت کازابیو[1] چین، تهیه‌شده از شرکت پادگین طب تهران) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. شایان‌ذکر است که حساسیت کیت اندازه‌گیری، ۰/۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تغییرات آن نیز ۶/۸ درصد بود.

علاوه‌براین، به‌منظور تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس نسخه ۱۹[2] استفاده شد. آزمون شاپیرو ویلک نیز جهت تعیین طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها به‌کار رفت. آزمون لون نیز برای بررسی فرض برابری واریانس‌ها مورداستفاده قرار گرفت. با توجه به طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها و برقراری فرض برابری واریانس‌ها، تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (آنووا)[3] و آزمون تعقیبی توکی انجام شد. سطح معناداری نیز ($P<0.05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

مقادیر میانگین و انحراف معیار مربوط به وزن و داده‌های حاصل از آزمون شاتل باکس (زمان تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک) در جدول شماره یک نشان داده شده است.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

1. Cusabio
2. SPSS 19
3. ANOVA

جدول ۱ــ مقادیر وزن موش‌ها قبل و بعد از هشت هفته مداخله و داده‌های حاصل از آزمون شاتل باکس

شاخص / گروه	وزن (گرم)		زمان تاخیر در ورود به محفظه تاریک (ثانیه)
	پیش آزمون	پس آزمون	پیش آزمون
آلزایمر + امگا سه (تعداد=۸)	۲۲۷/۱۱±۲۵/۹۷	۳۰۳/۲۹±۱۳/۵۱	۲۳/۱۸±۷۵/#۲۰*
آلزایمر + تمرین (تعداد=۹)	۲۲۱/۱۱±۳۳/۷۰	۳۲۷/۴۴±۳۳/۹۰	۲۳/۱۵±۴۴/۹۶ #*
آلزایمر + تمرین + امگا سه (تعداد=۸)	۲۲۷/۱۱±۶۳/۹۰	۳۰۷/۳۱±۳۸/۷۰	۲۵/۲۵±۵۰/۵۲ #*
کنترل سالم (تعداد=۹)	۲۱۷/۱۳±۲۲/۹۰	۳۲۵/۳۸±۱۱/۹۰	۱۸۳/۸۲±۷۸/۲۹
شم (تعداد=۶)	۱۰±۲۲۰/۹۰	۳۱۴/۳۲±۱۷	۱۶۵/۴۵±۵۰/۱۰
کنترل آلزایمر (تعداد=۸)	۲۲۰/۹±۶۳/۹۰	۳۰۱/۲۴±۲۵/۹۰	۲۵/۲۱±۵۰/۷۸ #*

(میانگین±انحراف معیار)

* وجود تفاوت معنادار با گروه کنترل آلزایمری ($P<0.05$)

وجود تفاوت معنادار با گروه شم ($P<0.05$)

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی

براساس نتایج، بین زمان تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک بین گروه‌های پژوهش تفاوت معناداری مشاهده می‌شود ($P=0.001$). یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی درمورد مقایسهٔ جفتی زمان تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک در گروه‌های مختلف نیز نشان می‌دهد که این شاخص در ابتدای مطالعه در گروه‌های آلزایمری + امگا سه، آلزایمری + تمرین، آلزایمری + تمرین + امگا سه و کنترل آلزایمری درمقایسه با گروه کنترل سالم (مقادیر P به‌ترتیب ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۱) و گروه شم (مقادیر P به‌ترتیب ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۱) به‌طور معناداری کمتر می‌باشد. شایان‌ذکر است که بین گروه‌های کنترل سالم و شم، تفاوت معناداری مشاهده نمی‌شود ($P=0.96$).

مقایسهٔ میانگین و انحراف معیار و نیز یافته‌های آزمون آماری درخصوص اثر تمرین هوازی و مصرف امگا سه بر سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در جدول شماره دو ارائه شده است. براساس یافته‌ها مشخص می‌شود که بین میانگین سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در گروه‌ها اختلاف معناداری وجود دارد ($P=0.005$).

جدول ۲ـ مقادیر پروتئین فسفریلهٔ تاو (میانگین±انحراف معیار) پس از هشت هفته مداخله

شاخص گروه	پروتئین فسفریلهٔ تاو (پیکوگرم بر میلی‌گرم بافت)	مقدار F	مقدار P
آلزایمر + امگا سه	۱۱۳/۶۲±۳۸/۵۹	۳/۹۹	٭۰/۰۰۵
آلزایمر + تمرین	۱۲۸/۵۶±۵۶/۵۳		
آلزایمر + تمرین + امگا سه	۱۶۴/۴۸±۳۸/۸۲		
کنترل سالم	۱۰۰/۵۸±۷۸/۱۸		
شم	۱۵۸/۱۰۰±۸۳/۰۵		
کنترل آلزایمر	۲۳۴/۸۸±۵۰/۰۹		

٭ وجود تفاوت معنادار بین گروه‌های موردمطالعه ($P<0.05$)

براساس اطلاعات جدول شماره سه، سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو هیپوکامپ در گروه کنترل آلزایمری نسبت به گروه کنترل سالم به‌صورت معناداری بالاتر می‌باشد ($P=0.003$). ازسوی‌دیگر، سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در گروه های آلزایمر + تمرین و آلزایمر + امگا سه نسبت به گروه کنترل آلزایمری به‌شکل معناداری پایین‌تر است (مقادیر P به‌ترتیب ۰/۰۳ و ۰/۰۱). همچنین، بین سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های گروه آلزایمر + تمرین + امگا سه نسبت به گروه کنترل آلزایمر، گروه آلزایمر + تمرین و گروه آلزایمر + امگا سه تفاوت معناداری مشاهده نمی‌شود (مقادیر P به‌ترتیب ۰/۳۴، ۰/۸۹ و ۰/۶۸).

جدول ۳ـ نتایج آزمون تعقیبی توکی

گروه‌ها		مقدار P
آلزایمر + امگا سه	آلزایمر + تمرین هوازی	۰/۹۹
	آلزایمر + تمرین هوازی + امگا سه	۰/۶۸
	کنترل سالم	۰/۹۹
	کنترل شم	۰/۸۲
	کنترل آلزایمر	٭۰/۰۱
آلزایمر + تمرین هوازی	آلزایمر + تمرین هوازی + امگا سه	۰/۸۹
	کنترل سالم	۰/۹۵
	شم	۰/۹۶
	کنترل آلزایمر	٭۰/۰۳

ادامه جدول ۳ـ نتایج آزمون تعقیبی توکی

	گروه‌ها	مقدار P
آلزایمر + تمرین هوازی + امگا سه	کنترل سالم	۰/۴۲
	شم	۰/۹۹
	کنترل آلزایمر	۰/۳۴
کنترل سالم	شم	۰/۶۰
	کنترل آلزایمر	۰/۰۰۳*

* وجود تفاوت معنادار بین دو گروه موردمطالعه ($P<0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

براساس نتایج آزمون شاتل باکس مشخص شد که تزریق محلول ۰/۶ مولار هوموسیستئین به درون بطن مغز موش‌ها در گروه‌های مداخله در ابتدای پژوهش، به آلزایمری‌شدن موش‌ها منجر گردید. از-سوی‌دیگر، سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو هیپوکامپ در گروه کنترل آلزایمری نسبت به گروه کنترل سالم به‌صورت معناداری بالاتر بود. شایان‌ذکر است که افزایش هوموسیستئین باعث هایپرفسفریلاسیون پروتئین تاو می‌شود که خود منجر به تخریب سلول‌های عصبی در بافت مغز می‌شود (۲۵). هایپرهوموسیستئین نیز با نشانه‌های زوال عقل مانند فسفوریلاسیون پروتئین تاو، افزایش تجمع آمیلوئید بتا، تشکیل کلافه‌های تارهای عصبی، التهاب و انحطاط سلول‌های عصبی همراه است (۹). درهمین‌رابطه، زانگ[1] و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که هوموسیستئین باعث تحریک فسفریلاسیون پروتئین تاو از طریق غیرفعال‌سازی پروتئین فسفاتاز 2A در هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود (۲۶). هوموسیستئین اسیدآمینهٔ غیرضروری، حاوی گوگرد تولیدشده در چرخهٔ متیونین است. هنگامی‌که سطح متیونین کم است، هوموسیستئین به متیونین تبدیل می‌شود. سپس متیونین توسط ATP به‌شکل فعال s- آدنوزیل متیونین[2] (SAM) تبدیل می‌شود. پس از دمتیلاسیون، SAM به s-آدنوزیل هوموسیستئین[3] (SAH) و درنهایت، به هوموسیستئین هیدرولیز می‌گردد (۲۷). همچنین، هنگامی‌که سطح متیونین زیاد شود، هوموسیستئین به سیستاتیونین[4] تبدیل می‌شود و متعاقب آن در یک واکنش برگشت‌ناپذیر به سیستئین تبدیل می‌شود؛ بنابراین، افزایش سطح هوموسیستئین با پتانسیل متیلاسیون کم همراه است که به‌وسیلهٔ رژیم غذایی حاوی

1. Zhang
2. S-adenosyl Methionine
3. S-adenosyl Homocysteine
4. Cystathionine

اسیدفولیک و ویتامین ب ـ کمپلکس (۲۷)، امگا سه (۴) و فعالیت بدنی (۲۸) می‌تواند پلاک تشکیل‌شده توسط پپتید آمیلوئید بتا و کلافه‌های تارهای عصبی و نیز فرم هایپرفسفریلهٔ پروتئین تاو را کاهش دهد (۲۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های گروه تمرین نسبت به گروه کنترل آلزایمری به‌شکل معناداری پایین‌تر بود. در گروه تمرین آلزایمری همرا با مصرف امگا سه نیز تغییر معناداری در پروتئین فسفریلهٔ تاو نسبت به گروه کنترل آلزایمری مشاهده نشد. همچنین، سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در گروه کنترل آلزایمری مصرف‌کنندهٔ امگا سه درمقایسه با گروه کنترل آلزایمری متعاقب هشت هفته مصرف امگا سه به‌طور معناداری پایین‌تر بود. در تأیید این یافته‌ها، لکی[1] و همکارن (۲۰۱۴) اثرات فعالیت بدنی و مصرف امگا سه را بر عملکرد شناختی در افراد بزرگ‌سال موردبررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که فعالیت بدنی همراه با مصرف امگا سه، تأثیر افزایشی یا فزاینده‌ای بر عملکرد مغزی ندارد و مصرف امگا سه، اثرات فعالیت بدنی بر عملکرد مغزی را تعدیل می‌کند. علاوه‌براین، حجم بالای فعالیت بدنی و مصرف مقادیر زیاد اسیدهای چرب امگا سه، هر دو به‌صورت مستقل باعث بهبود عملکرد شناختی خواهند شد. با توجه به این که اثرات زیستی اسیدهای چرب امگا سه و فعالیت بدنی با هم تداخل دارند، مصرف اسیدهای چرب ممکن است اثرات فعالیت بدنی بر عملکرد عصبی را تغییر دهد (۲۹). دراین‌راستا، بیود[2] و همکاران (۲۰۱۱) اثر طولانی‌مدت تمرین هوازی را بر برخی از متغیرهای محافظتی عصبی در هیپوکامپ و قشر مغز موش‌های سالم بررسی کردند. یافته‌های آن‌ها بیانگر این بود که ۳۶ هفته تمرین هوازی (پنج روز در هفته به‌مدت ۳۰ دقیقه در روز با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه) باعث کاهش معنادار پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های سالم می‌شود (۲۸). یوم[3] و همکاران (۲۰۱۱) نیز به بررسی تأثیر سه ماه تمرین هوازی (با سرعت ۱۲ متر در دقیقه، به‌مدت ۶۰ دقیقه و پنج روز در هفته) بر موش‌های تراریختهٔ آلزایمری پرداختند و گزارش کردند که تمرین هوازی با شدت پایین باعث کاهش پروتئین فسفریلهٔ تاو می‌شود (۳۰). علاوه‌براین، اوهیا وکو[4] و همکاران (۲۰۱۴) - تأثیر ۱۲ هفته تمرین هوازی (با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه، پنج جلسه در هفته و ۴۰ دقیقه در هر جلسه) را بر آسیب‌شناسی تاو در موش‌های تراریختهٔ آلزایمری بررسی کردند. براساس یافته‌های آن-ها مشخص شد که تمرین هوازی باعث بهبود حرکت عمومی و فعالیت‌های اکتشافی و نیز کاهش معنادار پروتئین فسفریلهٔ تاو در نخاع و هیپوکامپ می‌شود (۳۱). مطالعات در ارتباط با تمام افراد،

1. Leckie
2. Bayod
3. Um
4. Ohia-Nwoko

به‌ویژه افراد سال‌خورده به‌وضوح نشان داده است که انجام ورزش منظم باعث بهبود حافظه، یادگیری و عملکرد اجرایی و نیز مقابله با آتروفی مغز مرتبط با بیماری‌های وابسته به سن می‌شود که این امر برای فرایندهای شناختی بسیار مهم می‌باشد (۲۸).

علاوه‌براین، به احتمال زیاد، اسیدهای چرب امگا سه وظایف مشابهی در مغز و دیگر بافت‌ها دارند (تولید ایکوزانوئید ضدالتهابی) که باعث حفظ یا افزایش عملکرد مغز می‌شود. دوکوزاهگزانوییک اسید، سیالیت غشا و فرایندهای غشایی را در غشای سلول‌های مغز بهبود می‌بخشد که ممکن است از طریق توانایی اتصال به لیگاندها و شروع یک سری از فرایندهای انتقال پیام به عملکرد مغز کمک نماید (۳۲). ازآن‌جاکه اسیدهای چرب امگا سه دارای خواص ضدالتهابی می‌باشد و شاخص‌های التهابی در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر افزایش می‌یابد؛ بنابراین، منطقی به‌نظر می‌رسد که اسیدهای چرب امگا سه بتواند بروز بیماری آلزایمر را با کاهش عوامل التهابی و نیز افزایش عوامل غیرالتهابی و نوروتروفین به تأخیر بیندازد (۳۲). دراین‌راستا، فروند و همکاران (۲۰۱۳) اثر شش ماه مصرف اسید چرب امگا سه غنی از DHA را بر انتقال اسیدهای چرب امگا سه و نشانگرهای آلزایمر در پلاسما و مایع نخاعی ـ مغزی بیماران مبتلا به آلزایمر موردبررسی قرار دادند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که مصرف امگا سه به‌مدت شش ماه باعث تغییر قابل‌توجهی در DHA پلاسما و مایع نخاعی ـ مغزی شده است؛ درحالی‌که در گروه دارونما هیچ تغییری مشاهده نشد. همچنین، شاخص‌های مرتبط با بیماری آلزایمر (سطح پروتئین تاو تام، پروتئین فسفریلهٔ تاو و آمیلوئید بتا-۴۲) در مایع نخاعی ـ مغزی کاهش غیرمعناداری داشت و رابطهٔ معکوسی بین تغییرات سطح DHA در مایع نخاعی ـ مغزی با پروتئین تاو تام و پروتئین فسفریلهٔ تاو مشاهده شد (۳۳). گرین[1] و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه روی موش‌های آلزایمری تراریخته نشان دادند که ۱۲ ماه مصرف DHA باعث کاهش فسفوریلاسیون پروتئین تاو می‌شود (۳). نتایج مشابهی نیز در پژوهش ما و همکاران (۲۰۰۹) پس از تجویز روغن ماهی به موش‌های تراریختهٔ آلزایمری مشاهده شد (۱۳). در هر دو پژوهش، کاهش فسفریلاسیون پروتئین تاو به مهار c-جون n-ترمینال کیناز[2](JNK) نسبت داده شد. c-جون n-ترمینال کیناز یک عضو از خانوادهٔ پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن[3](MAPK) می‌باشد که تنظیم‌کنندهٔ طیف وسیعی از فرایندهای زیستی دخیل در ایجاد تومور و اختلالات عصبی است (۳۴). همچنین، یافته‌های آن‌ها نشان داد که مصرف مقادیر کم امگا سه و کاهش نسبت امگا سه به امگا ۶ در رژیم غذایی منجر به تشدید آسیب پروتئین تاو در موش‌های تراریخته می‌شود (۳،۱۳).

1. Green
2. C-Jun N-Terminal Kinase
3. Mitogen Activated Protein Kinase

علاوه‌براین، هوجمنس[1] و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی مروری، اثر طولانی‌مدت مصرف مکمل امگا سه را روی آسیب‌شناسی بیماری آلزایمر در مدل‌های حیوانی آلزایمری موردبررسی قرار دادند. یافته‌های حاصل حاکی از آن است که مصرف طولانی‌مدت امگا سه باعث کاهش میزان ازدست‌رفتن نورون‌ها و بهبود متغیرهای مرتبط با بیماری آلزایمر در مدل‌های حیوانی می‌شود (۳۵). نتایج یک مطالعهٔ متاآنالیز نیز نشان داد که افزایش مصرف ۱۰۰ گرم ماهی در هفته با کاهش ۱۱ درصدی بیماری آلزایمر همراه می‌باشد (۳۶).

درمجموع، پژوهش حاضر دارای محدودیت‌هایی مانند تعداد کم حجم نمونه، عدم امکان بررسی تأثیر مقادیر متفاوت مکمل امگا سه و شدت‌های متفاوت تمرین بود. هرچند، بسیاری از پژوهشگران استفاده از داروهای مختلف برای درمان آلزایمر را پیشنهاد داده‌اند، اما عموماً هرکدام دارای اثرات جانبی نیز می‌باشند؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد تغییر در شیوهٔ زندگی مانند داشتن یک رژیم غذایی مناسب و انجام فعالیت‌های ورزشی می‌تواند به‌عنوان روش‌های مکمل در کنار درمان‌های دارویی در نمونه‌های حیوانی موردمطالعه قرار گیرد تا درصورت کسب نتایج مثبت و تکرار و تأیید یافته‌ها در مطالعات کارآزمایی بالینی بتواند مورداستفادهٔ بیماران قرار گیرد.

پیام مقاله: با توجه به نتایج این پژوهش به‌نظر می‌رسد تمرین ورزشی و مصرف امگا سه هرکدام به‌صورت مستقل می‌تواند از طریق کاهش سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری، باعث کاهش میزان ازدست‌رفتن نورون‌ها و بهبود متغیرهای مرتبط با بیماری آلزایمر گردد. همچنین، براساس نتایج پژوهش حاضر و با توجه به این‌که انجام تمرین ورزشی هم‌زمان با مصرف امگا سه، تغییر معناداری در سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ آزمودنی‌های آلزایمری ایجاد نکرد؛ لذا، ایجاد تداخل در اثرات زیستی اسیدهای چرب امگا سه و فعالیت بدنی دور از انتظار نمی‌باشد. البته، به‌دلیل کمبود مطالعات دراین‌زمینه، بررسی و مطالعات بیشتر کاملاً ضروری است.

1. Hooijmans

منابع

1. Lin T W, Shih Y H, Chen S J, Lien C H, Chang C Y, Huang T Y, et al. Running exercise delays neurodegeneration in amygdala and hippocampus of Alzheimer's disease (APP/PS1) transgenic mice. Neurobiol Learn Mem. 2015; 118: 189-97.
2. Hong-Qi Y, Zhi-Kun S, Sheng-Di C. Current advances in the treatment of Alzheimer's disease: Focused on considerations targeting Aβ and tau. Transl Neurodegener. 2012; 1(1): 1-12.
3. Green K N, Martinez-Coria H, Khashwji H, Hall E B, Yurko-Mauro K A, Ellis L, et al. Dietary docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid ameliorate amyloid-β and tau pathology via a mechanism involving presenilin 1 levels. J Neurosci. 2007; 27(16): 4385-95.
4. Tepper K, Biernat J, Kumar S, Wegmann S, Timm T, Hübschmann S, et al. Oligomer formation of tau protein hyperphosphorylated in cells. J Biol Chem. 2014; 289(49): 34389-407.
5. Li H L, Wang H H, Liu S J, Deng Y Q, Zhang Y J, Tian Q, et al. Phosphorylation of tau antagonizes apoptosis by stabilizing β-catenin, a mechanism involved in Alzheimer's neurodegeneration. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104(9): 3591-6.
6. Liu Z, Li T, Li P, Wei N, Zhao Z, Liang H, et al. The ambiguous relationship of oxidative stress, Tau Hyperphosphorylation, and autophagy dysfunction in Alzheimer's disease. Oxid Med Cell Longev. 2015; 2015:352723.
7. Trinczek B, Biernat J, Baumann K, Mandelkow E, Mandelkow E. Domains of tau protein, differential phosphorylation, and dynamic instability of microtubules. Mol Biol Cell. 1995; 6(12): 1887-902.
8. Wang J Z, Liu F. Microtubule-associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. Prog Neurobiol. 2008; 85(2): 148-75.
9. Kamat P, Vacek J, Kalani A, Tyagi N. Homocysteine induced cerebrovascular dysfunction: A link to alzheimer's disease etiology. Open Neurol J. 2015; 9: 9-14.
10. Liu S J W J. Alzheimer-like tau phosphorylation induced by wortmannin in vivo and its attenuation by melatonin. Acta Pharmacol Sin. 2002; 23: 183-7.
11. Nation D A, Hong S, Jak A J, Delano-Wood L, Mills P J, Bondi M W, et al. Stress, exercise, and Alzheimer's disease: A neurovascular pathway. Med Hypotheses. 2011; 76(6): 847-54.
12. Abubakari A R, Naderali M M, Naderali E K. Omega-3 fatty acid supplementation and cognitive function: Are smaller dosages more beneficial? Int J Gen Med. 2014; 7: 463-73. (In Persian).
13. Ma Q L, Yang F, Rosario E R, Ubeda O J, Beech W, Gant D J, et al. β-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: Suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. J Neurosci. 2009; 29(28): 9078-89.
14. Arendash G, Jensen M, Salem N, Hussein N, Cracchiolo J, Dickson A, et al. A diet high in omega-3 fatty acids does not improve or protect cognitive performance in Alzheimer's transgenic mice. Neuroscience. 2007; 149(2): 286-302.

15. Devore E E, Grodstein F, van Rooij F J, Hofman A, Rosner B, Stampfer M J, et al. Dietary intake of fish and omega-3 fatty acids in relation to long-term dementia risk. Am J Clin Nutr. 2009; 90(1): 170-6.
16. Freund-Levi Y, Hjorth E, Lindberg C, Cederholm T, Faxen-Irving G, Vedin I, et al. Effects of omega-3 fatty acids on inflammatory markers in cerebrospinal fluid and plasma in Alzheimer's disease: The omegAD study. Dement Geriatr Cogn Disord. 2009; 27(5): 481-90.
17. Leem Y H, Lim H J, Shim S B, Cho J Y, Kim B S, Han P L. Repression of tau hyperphosphorylation by chronic endurance exercise in aged transgenic mouse model of tauopathies. J Neurosci Res. 2009; 87(11): 2561-70.
18. Belarbi K, Burnouf S, Fernandez-Gomez F J, Laurent C, Lestavel S, Figeac M, et al. Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology. Neurobiol Dis. 2011; 43(2): 486-94.
19. Liang K Y, Mintun M A, Fagan A M, Goate A M, Bugg J M, Holtzman D M, et al. Exercise and Alzheimer's disease biomarkers in cognitively normal older adults. Ann Neurol. 2010; 68(3): 311-18.
20. Hosseinzadeh S, Roshan V D, Pourasghar M. 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. Iran J Psychiatry Behav Sci. 2013; 7(1): 37-44. (In Persian).
21. Garekani E T, Mohebbi H, Kraemer R R, Fathi R. Exercise training intensity/ volume affects plasma and tissue adiponectin concentrations in the male rat. Peptides. 2011; 32(5): 1008-12. (In Persian).
22. Fathei M. The effect of eight weeks aerobic exercise on thyroid hormones in female rats with polycystic ovary syndrome. Intl j Sport Std. 2014; 4(3): 355-60
23. Gama C S, Canever L, Panizzutti B, Gubert C, Stertz L, Massuda R, et al. Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: A study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia. Schizophr Res. 2012; 141(2): 162-7.
24. Ma H, Wang J, Wang J, Li Y, Li J. Fish oil ameliorates the allograft arteriosclerosis of intestine on rats. Pediatr Transplant. 2007; 11(2): 173-9.
25. Ramesh B N, Rao T S, Prakasam A, Sambamurti K, Rao K J. Neuronutrition and Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2010; 19(4): 1123-39.
26. Zhang C E, Tian Q, Wei W, Peng J H, Liu G P, Zhou X W, et al. Homocysteine induces tau phosphorylation by inactivating protein phosphatase 2A in rat hippocampus. Neurobiol Aging. 2008; 29(11): 1654-65.
27. Zhuo J M, Wang H, Praticò D. Is hyperhomocysteinemia an Alzheimer's disease (AD) risk factor ,an AD marker, or neither? Trends Pharmacol Sci. 2011; 32(9): 562-71.
28. Bayod S, Del Valle J, Canudas A M, Lalanza J F, Sanchez-Roigé S, Camins A, et al. Long-term treadmill exercise induces neuroprotective molecular changes in rat brain. J Appl Physiol. 2011; 111(5): 1380-90.
29. Leckie R L, Manuck S B, Bhattacharjee N, Muldoon M F, Flory J M, Erickson K I. Omega-3 fatty acids moderate effects of physical activity on cognitive function. Neuropsychologia. 2014; 59: 103-11.

30. Um H S, Kang E B, Koo J H, Kim H T, Kim E J, Yang C H, et al. Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse model of Alzheimer's disease. Neurosci Res. 2011; 69(2): 161-73.
31. Ohia-Nwoko O, Montazari S, Lau Y S, Eriksen J L. Long-term treadmill exercise attenuates tau pathology in P301S tau transgenic mice. Mol Neurodegener. 2014; 9(1): 1-17.
32. Su H M. Mechanisms of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. J Nutr Biochem. 2010; 21(5): 364-73.
33. Freund L Y, Vedin I, Cederholm T, Basun H, Faxén I G, Eriksdotter M, et al. Transfer of omega-3 fatty acids across the blood-brain barrier after dietary supplementation with a docosahexaenoic acid-rich omega-3 fatty acid preparation in patients with Alzheimer's disease: The omegAD study. J Intern Med. 2013; 275: 428-36.
34. Davies C, Tournier C. Exploring the function of the JNK (c-Jun N-terminal kinase) signalling pathway in physiological and pathological processes to design novel therapeutic strategies. Biochem Soc Trans. 2012; 40(1): 85-9.
35. Hooijmans C R, Pasker-de Jong P C, de Vries R B, Ritskes-Hoitinga M. The effects of long-term omega-3 fatty acid supplementation on cognition and Alzheimer's pathology in animal models of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. J Alzheimers Dis. 2012; 28(1): 191-209.
36. Wu S, Ding Y, Wu F, Li R, Hou J, Mao P. Omega-3 fatty acids intake and risks of dementia and Alzheimer's disease: A meta-analysis. Neurosci Biobehav Rev. 2015; 48: 1-9.

شیوه استناد دهی

قراری عارفی رضا ، ثاقب جو مرضیه ، هدایتی مهدی ، فتحی رزیتا. نقش تمرین هوازی و دریافت مکمل امگا سه بر سطح پروتئین فسفریلهٔ تاو در هیپوکامپ موش های آلزایمری شده با هوموسیستئین. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۵؛ ۸(۳۱): ۸۸-۱۷۱.

Gharari Arefi. R, Saghebjoo. M, Hedayati. M, Fathi R. The Role of Aerobic Training and Omega-3 Supplement Intake on Phosphorylated Tau Protein in the Hippocampus of Alzheimer Induced Rats with Homocysteine. Sport Physiology. Fall 2016; 8 (31): 171-88. (Persian)

The Role of Aerobic Training and Omega-3 Supplement Intake on Phosphorylated Tau Protein in the Hippocampus of Alzheimer Induced Rats with Homocysteine

R. Gharari Arefi[1], M. Saghebjoo[2], M. Hedayati[3], R. Fathi[4]

1. Ph.D Student at University of Birjand
2. Associate Professor at University of Birjand*
3. Associate Professor at Shahid Beheshti University of Medical Sciences
4. Associate Professor at University of Mazandaran

Received Date: 2014/09/08 Accepted Date: 2014/12/13

Abstract

The aim of this study was to assess the impact of eight weeks aerobic training and omega-3 supplement intake on phosphorylated Tau protein in the hippocampus of Alzheimer induced rats with homocysteine. For this purpose, 60 Wistar male rats (twelve-weeks-old and weight 222.31±11.91 g), divided into six groups, including: Alzheimer's rat + Omega-3, Alzheimer's rat + training, Alzheimer's rat + training + Omega-3, healthy control rat, control sham and Alzheimer's control rat. Alzheimer's disease induced by injection of homocysteine (60mM) into the rat brain ventricle. Training with a speed of 20 m/min (60 minutes at each session and five days a week on the treadmill) was applied. The supplement group, was received Omega-3 supplement 800mg/kg of body weight, daily for eight weeks. Level of phosphorylated tau protein measured using ELISA method. In data analysis, a one-way analysis of variance and Tukey test as a post hoc, were used ($P<0.05$). The obtained results showed that the level of phosphorylated Tau protein in hippocampus of Alzheimer's rat + training, Alzheimer's + Omega-3 and healthy control, were lower than the Alzheimer's control group (P value 0.03, 0.01 and 0.003 respectively). In addition, there was no significant difference level of phosphorylated tau protein in hippocampus of Alzheimer's + training + Omega-3 and the control group ($P=0.34$). It seems that aerobic training and omega-3 supplement, both can be reduced independently phosphorylated tau protein in the hippocampus of Alzheimer's rats and simultaneous use of the two methods, ameliorates the effect each of these interventions.

Keywords: Aerobic Training, Omega 3 Fatty Acids, Alzheimer, Tau protein, Homocysteine

*Corresponding Author Email:m_saghebjoo@birjand.ac.ir