نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش مقاله پژوهشی ص ۶۵-۵۷
دوره ۷، شماره ۱۴، پاییز و زمستان ۱۳۹۸ تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۷

تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن GAP-43 و CAP-1 در بافت مخچه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

شیوا جهانی گلبر[۱]، عباسعلی گائینی[۲]، مریم کوشکی جهرمی[۳*]، محسن ثالثی[۳]، جواد نعمتی[۴]

۱. دانش آموخته دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، واحد بین الملل، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳. دانشیار بخش علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۴. استادیار بخش علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: پروتئین وابسته به رشد ۴۳ (GAP-43) و پروتئین وابسته به آدنیلات سیکلاز ۱ (CAP-1) با ترمیم سلول‌های عصبی ارتباط دارند، اما هنوز نقش تمرین ورزشی بر این دو پروتئین در مخچه مشخص نشده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین استقامتی بر بیان ژن GAP-43 و CAP-1 در بافت مخچه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود. **روش تحقیق:** بیست سر موش صحرایی سالم نر نژاد ویستار به روش تصادفی به ۲ گروه، آزمایش (۱۰ سر) و کنترل (۱۰ سر) تقسیم شدند؛ گروه آزمایش ۵ روز در هفته به مدت ۶ هفته با سرعت بین ۱۱ تا ۱۸ متر بر دقیقه و بین ۱۰ تا ۳۰ دقیقه تمرین کردند. گروه کنترل هیچ‌گونه تمرین ورزشی نداشتند. از روش کمی سازی Real time-PCR و $2^{-\Delta\Delta_{CT}}$ برای اندازه گیری بیان ژن استفاده شد. از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد و به علت طبیعی نبودن پراکندگی یافته‌ها، از آزمون آماری ناپارامتریک یومن-ویتنی در سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بهره‌برداری گردید. **یافته‌ها:** افزایش معنی داری در بیان ژن پروتئین‌های GAP-43 ($p=۰/۰۰۲$) و CAP-1 ($p=۰/۰۰۲$) در گروه آزمایش نسبت به کنترل مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** با توجه به نقش مهم پروتئین‌های GAP-43 و CAP-1 در ترمیم سیستم عصبی، به نظر می‌رسد تمرین استقامتی با افزایش بیان ژن این دو پروتئین، به عنوان یک روش غیر تهاجمی در ترمیم یا بازسازی سلولی و بهبود عملکرد مخچه موثر است.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، پروتئین GAP-43، پروتئین CAP-1، مخچه.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

* نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، میدان ارم، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، بخش علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: koushkie53@yahoo.com
DOI: 10.22077/JPSBS.2018.1204.1356

مقدمه

تحقیقات سال‌های اخیر نشان داده است که بین بیماری‌های عصبی و بی‌تحرکی، ارتباط مستقیم وجود دارد. مخچه ناحیه مهمی از مغز خلفی است که نقش اصلی در تعادل، کنترل هیجان‌ها، اعمال ظریف و دقیق بازی می‌کند (تیمان[1] و دیگران، ۲۰۱۰). مخچه با ساختاری بسیار متراکم و درهم پیچیده، در زیر قشر مخ و در پشت مغز قرار گرفته است و بعضی اوقات به آن پس مغز نیز می‌گویند. در انسان‌ها مخچه ۱۰ تا ۱۵ درصد وزن مغز، ۴۰ درصد از سطح مغز و ۵۰ درصد از سلول‌های عصبی مغز را تشکیل می‌دهد (زرف[2]، ۲۰۱۶). نشان داده شده است که فعالیت‌های بدنی منظم به عنوان یک ضرورت برای زندگی سالم، می‌توانند بر همه اندام‌ها و سیستم‌های بدن تأثیر بگذارند و شواهد نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی بر روی عملکرد سیستم عصبی مرکزی نقش ارزنده‌ای دارند. مطالعات سلولی در موش‌های صحرایی نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی در پیشگیری و یا تاخیر در مرگ سلول‌های مخچه مؤثرند (چئون[3]، ۲۰۱۵). از آنجا که آسیب‌های مغزی عامل اصلی ناتوانی‌های دراز مدت است، توسعه استراتژی‌های توانبخشی که می‌تواند بر نتایج عملکردی تأثیر بگذارد، نیازمند جزئیات پاسخ‌های شکل‌پذیری عصبی است. بهبود عملکرد پس از استرس مغزی، عمدتاً به خواص نوروپلاستی مغز مرتبط است (گراسلی و استراتا[4]، ۲۰۱۳).

مشخص شده است که یکی از عوامل مرتبط با رشد کیفی و کمّی در نورون‌ها، پروتئین‌های وابسته به رشد ۴۳[5] (GAP-43) و پروتئین وابسته به آدنیلات سیکلاز ۱[6] (CAP-1) می‌باشند. GAP-43 در اوایل دهه ۱۹۸۰ به عنوان فسفوپروتئین متصل شونده به کالمودولین وابسته به غشا، شناسایی شد. این پروتئین در سازوکارهای مرتبط با رشد آکسونی، بازسازی آکسونی و شکل‌پذیری سیناپسی نقش مهمی ایفا می‌کند (وانگ و هوانگ[7]، ۲۰۰۷). GAP-43 یا نوروم‌ودولین یک پروتئین رشد درون سلولی است که نقش مهمی در فعال‌سازی انتقال سیگنال‌ها برای تنظیم سازمان سیتواسکلتون دارد. در طول توسعه، GAP-43 نقش کلیدی در رشد و هدایت نورونی دارد. این پروتئین برای رشد آکسون و برای ایجاد قطعی اتصالات عصبی سازمان یافته در سیستم عصبی بسیار مهم است (کاریل[8] و دیگران، ۲۰۱۷). این پروتئین می‌تواند در جوانه‌زدن آکسونی نقش قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. بنابراین پیدایش این پروتئین به عنوان شاخصی برای نشان دادن جوانه زدن آکسونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (میاک[9] و دیگران، ۲۰۰۲). علاوه بر این، پروتئین‌های وابسته به سیکلاز (CAPs) نیز در حفاظت عصبی نقش دارند، CAPها پروتئین‌های به شدت حفاظت شده، فراگیر و دو عملکردی هستند که سیتواسکلتون مبتنی بر اکتین را تعدیل می‌کنند و در مسیر پیام‌رسانی Ras ایفای نقش می‌کنند (کایزک[10] و دیگران، ۲۰۰۳). CAPها مشتمل بر ۴۵۰ تا ۵۵۰ اسیدآمینه بوده و چندین جهش و دامنه مجزا دارند. CAPها دارای دو ایزوفرم CAP-1 و CAP-2 می‌باشند (هلیسکس[11] و دیگران، ۲۰۱۰). CAP-1 در سراسر بدن بیان می‌شود و یک پروتئین بسیار فراوان است که به ساختارهای آکتین پویا متصل می‌شود. این پروتئین علاوه بر تنظیم فیبرهای اکتین، در فرآیندهایی مانند تشکیل ستون‌های سلولی، تحرک، مورفوژنز[12]، واسطه‌ای برای گیرنده‌های اندوسیتوزی و انتقال غشایی نقش دارد (ژانگ[13] و دیگران، ۲۰۱۳).

فعالیت‌های بدنی دارای تأثیرات مثبت بر سلامت و شناخت مغز است. فرآیندهای متابولیسم انرژی و شکل‌پذیری سیناپسی برای ارتقای سلامت مغز و تنظیم پروتئین مربوط به رشد و ترمیم سیستم عصبی، بسیار مهم هستند (نی و یانگ[14]، ۲۰۱۷). مکانیسم‌های سیناپسی مهم ناشی از تمرینات ورزشی، مستلزم دخالت چندین مولکول مرتبط با حفظ و تنظیم عملکرد مغز، از جمله عوامل نوروتروفیک[15]، پروتئین‌های انتقال، پروتئین‌های رونویسی و پروتئین‌های سیناپسی هستند (کاسیلهاس[16] و دیگران، ۲۰۱۲). GAP-43

1. Timmann
2. Zerf
3. Cheon
4. Grasselli & Strata
5. Growth associated protein 43
6. Adenylyl cyclase-associated protein 1
7. Wang & Huang
8. Carriel
9. Miyake
10. Kusik
11. Hliscs
12. Morphogenesic
13. Zhang
14. Nie & Yang
15. Neurotrophic factors
16. Cassilhas

یکی از اولین پروتئین‌ها می‌باشد که به طور گسترده در علم پزشکی مورد مطالعه قرار گرفته است و نقش آن برای رشد آکسون در مخروط ها شرح داده شده است (گراسلی و استراتا، ۲۰۱۳). تاکنون مطالعات بسیار اندکی برای بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر عملکردهای GAP-43 در بافت‌های مختلف انجام شده است و شایان ذکر است که با بررسی صورت گرفته، مطالعاتی در راستای تاثیر تمرین ورزشی بر پروتئین GAP-43 در بافت مخچه باشد، مشاهده نکردیم. با این حال، در تحقیقی، تاثیر تمرین ورزشی بر بیان GAP-43 در هیپوکامپ موش‌های مسن بررسی شده است. در این مطالعه مشاهده شد که تمرین ورزشی اجباری و داوطلبانه به مدت ۸ هفته، بیان GAP-43 را افزایش می‌دهد، افزایشی که در گروه ورزش اجباری بیشتر بود. محققین به این نتیجه رسیدند که بیان GAP-43 در هیپوکامپ به طور قابل توجهی آسیب سکته مغزی را کاهش می‌دهد. همچنین محققان مطابق با تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که افزایش بیان GAP-43 در هیپوکامپ پس از تمرین ورزشی، باعث افزایش شناخت و انعطاف‌پذیری عصبی پس از سکته مغزی می‌شود (چئون، ۲۰۱۵). از طرفی، تحقیقی که تمرین ورزشی را بر روی پروتئین CAP-1 اندازه‌گیری کرده باشد نیز مشاهده نکردیم. با این وجود در زمینه بالینی ژانگ و دیگران (۲۰۱۳) به بررسی CAP-1 بر تنظیم عملکرد پروتئین کافلین، اکتین اسکلت سلولی و چسبندگی سلول پرداختند. این محققان پروتئین CAP-1 را حذف نموده و مشاهده کردند که حذف کردن CAP-1 در سلول‌های هلیا، منجر به تغییرات در اسکلت سلولی اکتین، فسفوریلاسیون کافلین و افزایش چسبندگی سلول می‌شود (نی و یانگ، ۲۰۱۷). ارتباط CAP-1 با بازسازی عصبی محیطی و مرکزی در شرایط تخریب عصبی نشان داده شده است (ژو[1] و دیگران، ۲۰۱۴). حتی در شرایط عدم تخریب عصبی نیز مشاهده شده که CAP-1 در رشد عصبی نقش دارد (لو[2] و دیگران، ۲۰۱۱).

در خصوص اثربخشی پروتکل های تمرینی بر تنظیم و عملکرد GAP-43 شواهدی وجود دارد؛ اما در خصوص تأثیر تمرین ورزشی بر CAP-1 تحقیقی یافت نشد. لذا با توجه به نقش تمرین ورزشی بر بهبود عملکرد نورونی و جلوگیری از گسترش شرایط تخریب عصبی و همچنین راه‌اندازی مسیرهای رشد یا مرگ سلولی در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی مختلف و اهمیت فیزیولوژیکی مخچه و نقش این دو پروتئین در ترمیم آکسون و نورون‌ها، هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر بیان GAP-43 و CAP-1 در بافت مخچه موش های صحرایی سالم بود.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی است که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفته است؛ در این مطالعه، ۲۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با میانگین وزن ۲/۱۱±۲۷۱ گرم انتخاب گردیده و به روش تصادفی به دو گروه آزمایش (۱۰ سر) و کنترل (۱۰ سر) تقسیم شدند؛ این حیوانات از انستیتو رازی خریداری و در قفس‌های پلی‌کربنات (هر قفسه ۴ سر) در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد، قرار گرفتند و در رطوبت هوای ۴۵ درصد، با چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و دسترسی آزاد به آب و غذا ویژه حیوانات آزمایشگاهی؛ نگهداری شدند. برنامه تمرینی تحقیق حاضر، شامل دویدن روی نوارگردان مخصوص حیوانات بود. پس از وزن کشی، موش‌ها برای آشنایی با نوارگردان به‌مدت یک هفته با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند؛ سپس مطابق برنامه تمرینی که بر اساس سرعت و مدت زمان بود، به‌مدت ۶ هفته و هفته‌ای ۵ جلسه به تمرین پرداختند (جدول ۱) (چا[3] و دیگران، ۲۰۱۱). در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند.

1. Zhu
2. Lu
3. Chae

جدول ۱. جزئیات برنامه تمرینی گروه آزمایش

هفته ها	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)
اول	۱۰	۱۰
دوم	۱۰	۲۰
سوم	۱۴-۱۵	۲۰
چهارم	۱۴-۱۵	۳۰
پنجم	۱۷-۱۸	۳۰
ششم	۱۷-۱۸	۳۰

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بیهوش و قربانی شدند. پس از شکافتن جمجمه، بافت مخچه جدا گشته و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای اجرای سنجش آزمایشگاهی مورد نظر نگهداری شد. برای استخراج RNA و cDNA، حدود ۵۰ میلی‌گرم بافت مخچه به صورت جداگانه جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. به منظور برداشتن اجزاء پروتئینی، محصول حاصل در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفروم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. محصول در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبی از هم جدا شدند. سپس بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس در ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوز شد. پلت حاوی RNA در اتانول شستشو و در ۲۰ میکرولیتر آب RNAS-Free حل گردید. غلظت RNA مورد سنجش قرار گرفت (Eppendorff, Germany) و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA و با به کارگیری Random hexamer primer و آنزیم transcriptase Mmulv Reverse انجام گرفت. سپس جهت اندازه‌گیری سطوح بیان mRNA پروتئین‌های GAP-43 و CAP-1 از روش کّمی Real time-PCR با به کارگیری Primixsyber green II استفاده شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و هر واکنش به صورت duplicate صورت پذیرفت. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های GAP-43 و CAP-1 در بانک ژنی NBCI و توسط شرکت ماکروژن کره[1] انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ گزارش شده است. برنامه دمایی مورد استفاده در Real time-PCR شامل ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ به مدت ۱۵ ثانیه، و ۶۰ به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد. برای اطمینان از اختصاصی عمل کردن پرایمرها، بخشی از مستر میکس با PCR معمولی اجرا شد. محصول بر روی ژل آگاروز برده شد و در صورت نیاز نیز برای تعیین توالی، ارسال گردید.

در این تحقیق تمامی داده‌ها بر اساس میانگین و انحراف استاندارد توصیف شد. جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف[2] استفاده شد و با توجه به نتایج این آزمون و نداشتن توزیع طبیعی در دو گروه، از روش آماری ناپارامتریک یومن-ویتنی[3] استفاده گردید. در این مطالعه، تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ انجام گرفت.

1. Macrogen Inc., Seoul, Korea
2. Kolmogrov - Smirnov
3. U Mann Whitney

جدول۲. توالی پرایمری استفاده شده در پژوهش حاضر

Genes	Primer sequence	Gene Bank
Gap-43	For: 5′CTGATAACTCGCCGTCCTCC-3′	AH002175.2
	Rev: 5′TTAACATCCCTGGTGCGTCC-3′	
Cap-1	For: 5′GGCCTGTGGCAAAAGAACTG-3′	NM_022383.2
	Rev: 5′CCTGCTTCAGCTCAGTGTCA-3′	

یافته‌ها

نتایج آزمون یومن- ویتنی در جدول ۳ آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود، تفاوت معنی‌داری در وزن دو گروه کنترل و آزمایش وجود ندارد (p=۰/۷۲).

جدول ۳. مقایسه متغیرها در دو گروه کنترل و آزمایش با روش آماری یومن-ویتنی

متغیرها	گروه ها	میانگین رتبه	U	p
وزن	کنترل	۲۲/۰۰	۲۸/۰۰	۰/۷۲
	آزمایش	۲۳/۵۰		
GAP-43	کنترل	۳/۵۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲*
	آزمایش	۹/۵۰		
CAP-1	کنترل	۳/۵۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲*
	آزمایش	۹/۵۰		

*نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح p<۰/۰۵.

بر اساس نتایج جدول ۳، آماره p (۰/۰۰۲) بر اساس مقدار U (۰/۰۰۱) از سطح معنی‌داری آزمون (۰/۰۵) کمتر می‌باشد. به همین علت، می توان گفت ۶ هفته تمرین استقامتی بر بیان GAP-43 در بافت مخچه موش‌های صحرایی نر سالم نژاد ویستار تاثیر افزایشی دارد. همچنین، آماره p (۰/۰۰۲) بر اساس مقدار U (۰/۰۰۱) از سطح معنی‌داری آزمون (۰/۰۵) کمتر می‌باشد؛ به همین علت می‌توان گفت ۶ هفته تمرین استقامتی بر بیان CAP-1 در بافت مخچه موش‌های صحرایی نر سالم نژاد ویستار تاثیر افزایشی دارد.

بحث

تفاوت معنی داری بین گروه‌های مختلف در بیان ژن پروتئین GAP-43 و CAP-1 مشاهده شد. این نتایج افزایش معنی دار قابل ملاحظه‌ای را در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل نشان داد. GAP-43 یکی از اولین پروتئین‌ها می‌باشد که به طور گسترده در علم پزشکی مورد مطالعه قرار گرفته است و نقش آن برای رشد آکسون در مخروط‌ها شرح داده شده است (گراسلی و دیگران، ۲۰۱۳). تاکنون مطالعات بسیار اندکی برای بررسی تمرین ورزشی و نقش عملکردهای GAP-43 در بافت مخچه انجام شده است و شایان ذکر است که محققان حاضر مطالعه‌ای که در راستای تاثیر تمرین ورزشی بر پروتئین GAP-43 در بافت مخچه باشد را مشاهده نکردند. با این وجود، در مطالعه‌ای پارک[1] و دیگران (۲۰۱۶) به بررسی تاثیر تمرین هوازی بر بیان GAP-43 در نخاع

1. Park

موش‌های صحرایی مبتلا به آرتریت پرداختند. در این مطالعه ۳ هفته پس از القاء استئوآرتریت، گروه تمرین ۴ هفته (۵ روز در هفته) به مدت ۳۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه و تقریباً ۶۰ تا ۷۰ درصد حداکثر VO_2 بر روی نوارگردان دویدند. نتایج این مطالعه افزایش معنی دار بیان ژن GAP-43 گروه تمرین را نسبت به گروه کنترل به دنبال ۴ هفته تمرین هوازی نشان داد. این محققان با توجه به نتایج مطالعه خود و افزایش بیان ژن GAP-43 توسط تمرین ورزشی، بیان کردند که تمرین ورزشی باعث افزایش بیان GAP-43 در نخاع می‌شود و این افزایش می‌تواند به بازسازی سلول‌های عصبی نخاعی به علت استئوآرتریت مزمن آسیب دیده کمک کند. همچنین افزایش بازسازی سلول‌های عصبی که به علت پاسخ التهابی آسیب دیده بود، تأثیر مثبتی برکاهش درد داشت. نتایج این مطالعه هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر است، زیرا که ۶ هفته تمرین ورزشی هوازی نیز منجر به افزایش سطوح بیان ژن پروتئین GAP-43 بافت مخچه در تحقیق حاضر شد. بنابراین از نتایج هر دو مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که تمرین ورزشی می‌تواند با افزایش پروتئین‌های مهم در سیستم عصبی، منجر به افزایش بازسازی سلول‌های عصبی شود و این بازسازی می‌تواند اثرات مفیدی از قبیل کاهش درد، ترمیم آکسون، جوانه زدن آکسونی و دیگر عوامل مرتبط با افزایش پروتئین GAP-43 را موجب شود (میاک[1] و دیگران، ۲۰۰۲؛ کوسیک[2] و دیگران، ۲۰۱۰). بنابراین، با توجه به اثرات سودمند پروتئین GAP-43 در ترمیم و کاهش آسیب می‌توان نتیجه گرفت که افزایش سطوح این پروتئین می‌تواند از آسیب مخچه و دیگر عوارض مربوط به این آسیب جلوگیری کند. دیگر محققان نیز نتایج جدیدی را گزارش کرده‌اند و نشان داده‌اند که بهبود عملکرد پس از آسیب مخچه مربوط به پاسخ‌های واکنش‌پذیر GAP-43 در پیش مخچه و عمق مخچه است (فنگ[3] و دیگران، ۲۰۱۷). در مطالعات، پاسخ‌های واکنشی مخچه با توجه به پتانسیل شکل‌پذیری سیستم مغزی در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است و یافته‌ها نقش کلیدی GAP-43 را در طول زمان بهبودی علائم مخچه، برای پارامترهای موازی رفتاری، نوروبیولوژی و واکنش‌های عصبی نشان داده‌اند (نی و یانگ، ۲۰۱۷). این یافته‌ها در راستای عملکردهای GAP-43 است که در غلظت‌های بالا در مخروط‌های رشد و پایانه‌های پیش‌سیناپسی، به شدت با بازسازی نورونی، انعطاف‌پذیری سیناپسی و فرآیندهای بازسازی همراه است. همچنین محققان دیگری نشان داده اند که دویدن موش‌های صحرایی بر روی نوارگردان، منجر به تنظیم بالای GAP-43 می‌شود. این محققان به این نتیجه رسیدند که افزایش سطوح پروتئین GAP-43 بر اثر تمرین ورزشی می‌تواند نقش مهمی در منشاء آکسونی ایفا کند و یک نشانگر موثر برای رشد مخروط‌های نورونی است (تسای[4] و دیگران، ۲۰۱۳). بنابراین، سطح مناسب GAP-43 برای بیان ژن‌های عصبی که برای توسعه مخچه مهم هستند، ضروری است (فنگ و دیگران، ۲۰۱۷). با توجه به مطالعات گذشته در اثبات عملکردهای مهم GAP-43 برای رونویسی و ترمیم ژن‌های عصبی در پاتوژنز مخچه (شینودا[5] و دیگران، ۲۰۱۱) و شبکه مولکولی تحت کنترل GAP-43 در توسعه مغزی (تاسی و دیگران، ۲۰۱۳)؛ نتایج تحقیق حاضر احتمالاً نقش مهم ورزش در حفظ یا حتی تکامل مخچه را نشان می‌دهد.

تاکنون تاثیر تمرین ورزشی بر عملکردهای CAP-1 در بافت مخچه بررسی نشده است. از طرفی، بیشتر مطالعات انجام شده بر روی پروتئین CAP-1 و نقش آن به عنوان پروتئین مخروط رشد نورون و به عنوان تنظیم کننده مورفولوژی مخروط رشد، با استفاده از بازسازی آکتین-F بوده است. دیگر نقش‌های آن از قبیل ارتباط با بازسازی عصبی محیطی و مرکزی در شرایط تخریب عصبی و نقش آن برای رشد عصبی، کمتر بررسی شده است (تیمان و دیگران، ۲۰۱۰). افزایش بیان ژن CAP-1 در نتایج تحقیق حاضر در بافت مخچه نیز مشاهده شد و نشان دهنده این مطلب است که یکی از راه‌های افزایش سطوح این پروتئین، تمرین ورزشی است که می‌تواند با افزایش سطوح این پروتئین، منجر به

1. Miyake
2. Kusik
3. Feng
4. Tsai
5. Shinoda

تاثیرات مفید آن برای آسیب‌های مغزی نخاعی و دیگر بیماری‌های مرتبط با مغز شود. از آنجا که آسیب‌های مغزی عامل اصلی ناتوانی‌های درازمدت است، افزایش سطوح پروتئین‌های GAP-43 و CAP-1 می‌تواند بر نتایج عملکردی و آسیب‌های بافتی مغز تأثیر بگذارد و منجر به پاسخ‌های شکل‌پذیری عصبی و ترمیم آسیب‌های عصبی شود.

یکی از محدودیت های مهم تحقیق حاضر انجام این مطالعه بر روی موش های سالم بود و تعمیم نتایج آن به آسیب های عصبی نیاز به مطالعات بیشتر و استفاده از نمونه های مبتلا به آسیب عصبی دارد. محدودیت دیگر تحقیق حاضر عدم اندازه‌گیری عملکرد های مربوط به مخچه شامل تعادل و هماهنگی حرکات بود. با توجه به تعداد محدود نمونه های مورد مطالعه، عدم انجام این تحقیق بر روی نمونه‌های انسانی و محدودیت تحقیقات انجام شده؛ توصیه قطعی تر و تعمیم آن به نمونه‌های انسانی، به انجام تحقیقات بیشتری به ویژه بر روی نمونه های انسانی نیاز دارد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده و یافته‌های تحقیق حاضر، تمرین ورزشی یک مکانیزم مهم برای بالا بردن ظرفیت مغز برای رشد آکسون، شکل‌پذیری سیناپسی و عملکرد شناختی است. نتایج این مطالعه که منجر به افزایش بیان GAP-43 و CAP-1 بعد از تمرین ورزشی شد، می‌تواند نشان دهنده تاثیر مفید تمرین به عنوان یک روش غیرتهاجمی برای بیان ژن این پروتئین‌ها در سلول‌های عصبی باشد که در نهایت می تواند منجر به افزایش در بازسازی عصبی و ترمیم آسیب‌های سیستم عصبی شود. بنابراین، تمرین ورزشی هوازی می تواند جهت رشد، بازسازی یا عملکرد سلول های مخچه و در نتیجه عملکردهای مربوط به آن شامل تعادل و هماهنگی حرکات؛ توصیه گردد. اگر چه جهت توصیه قطعی، مطالعات بیشتری همراه با اندازه‌گیری‌های عملکرد مورد نیاز است.

قدردانی و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری می‌باشد و از آقای دکتر مسعود رحمتی جهت همکاری در اجرا طرح و آزمایشگاه پاستور جهت انجام آزمایش های مربوطه، قدردانی می گردد.

منابع

Carriel, V., Garzón, I., Campos, A., Cornelissen, M., & Alaminos, M. (2017). Differential expression of GAP-43 and neurofilament during peripheral nerve regeneration through bio-artificial conduits. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 11***(2), 553-563.**

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

Chae, C. H., Jung, S. L., An, S. H., Jung, C. K., Nam, S. N., & Kim, H. T. (2011). Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. *Journal of Physiology and Biochemistry, 67***(2), 235-241.**

Cheon, S. H. (2015). The effect of a skilled reaching task on hippocampal plasticity after intracerebral hemorrhage in adult rats. *Journal of Physical Therapy Science, 27***(1), 131-133.**

Feng, W., Kawauchi, D., Körkel-Qu, H., Deng, H., Serger, E., Sieber, L., … & Hanna, B. S. (2017). Chd7 is indispensable for mammalian brain development through activation of a neuronal differentiation programme. *Nature Communications, 8*, **14758.**

Grasselli, G., & Strata, P. (2013). Structural plasticity of climbing fibers and the growth-associated protein GAP-43. *Frontiers in Neural Circuits, 7***, 25.**

Hliscs, M., Sattler, J. M., Tempel, W., Artz, J. D., Dong, A., Hui, R., … & Schüler, H. (2010). Structure and function of a G-actin sequestering protein with a vital role in malaria oocyst development inside the mosquito vector. *Journal of Biological Chemistry, 285***(15), 11572-11583.**

Kusik, B. W., Hammond, D. R., & Udvadia, A. J. (2010). Transcriptional regulatory regions of gap43 needed in developing and regenerating retinal ganglion cells. *Developmental Dynamics: an Official Publication of the American Association of Anatomists*, *239***(2), 482–495.**

Lu, J., Nozumi, M., Takeuchi, K., Abe, H., & Igarashi, M. (2011). Expression and function of neuronal growth -associated proteins (nGAPs) in PC12 cells. *Neuroscience Research, 70***(1), 85-90.**

Miyake, K., Yamamoto, W., Tadokoro, M., Takagi, N., Sasakawa, K., Nitta, A., … & Takeo, S. (2002). Alterations in hippocampal GAP-43, BDNF, and L1 following sustained cerebral ischemia. *Brain Research, 935***(1), 24-31.**

Nie, J., & Yang, X. (2017). Modulation of synaptic plasticity by exercise training as a basis for ischemic stroke rehabilitation. *Cellular and Molecular Neurobiology, 37***(1), 5-16.**

Park, S. J., Jung, N. J., & Na, S. S. (2016). The effects of exercise on the GAP-43 expression in the spinal cord of arthritis-induced rats. *Journal of Physical Therapy Science, 28***(10), 2921-2923.**

Shinoda, Y., Sadakata, T., Nakao, K., Katoh-Semba, R., Kinameri, E., Furuya, A., … & Furuichi, T. (2011). Calcium-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) promotes BDNF secretion and is critical for the development of GABAergic interneuron network. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 108***(1), 373-378.**

Timmann, D., Drepper, J., Frings, M., Maschke, M., Richter, S., Gerwig, M. e., & Kolb, F. (2010). The human cerebellum contributes to motor, emotional and cognitive associative learning. A review. *Cortex, 46***(7), 845-857.**

Tsai, S. W., Tung, Y. T., Chen, H. L., Shen, C. J., Chuang, C. H., Tang, T. Y., & Chen, C. M. (2013). Treadmill running upregulates the expression of acetylcholine receptor in rat gastrocnemius following botulinum toxin A injection. *Journal of Orthopaedic Research, 31***(1), 125-131.**

Wang, C., & Huang, X. (2007). Effects of continuous peripheral nerve block by tetrodotoxin on growth associated protein-43 expression during neuropathic pain development. *Neural Regeneration Research, 2***(6), 350-354.**

Zerf, M. (2016). Impact of theoretical courses on physical health performance. *BLDE University Journal of Health Sciences, 1***(1), 44.**

Zhang, H., Ghai, P., Wu, H., Wang, C., Field, J., & Zhou, G. L. (2013). Mammalian adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP-1) regulates cofilin function, the actin cytoskeleton, and cell adhesion. *Journal of Biological Chemistry, 288***(29), 20966-20977.**

Zhu, X., Yao, L., Guo, A., Li, A., Sun, H., Wang, N., … & Cao, J. (2014). CAP-1 was associated with actin and involved in Schwann cell differentiation and motility after sciatic nerve injury. *Journal of Molecular Histology, 45***(3), 337-348.**

Abstract

The effects of endurance exercise training on gene expression of GAP-43 and CAP-1 in cerebellar tissue of male Wistar rats

Shiva Jahani Golbar[1], Abbasali Gaini[2], Maryam Koushkie Jahromi[3]*, Mohsen Salesi[3], Javad Nemati[4]

1. Graduate Student of PhD in Exercise Biochemistry and Metaboblism, International Division, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2. Full Professor, Departmrnt of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
3. Associate Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Science & Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran
4. Assistant Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Science & Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Background and Aim: Growth associated protein 43 (GAP-43) and Adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP-1) are related to nerve cells restorations. But the role of physical exercise on these two proteins in cerebellum has not been clarified yet. The purpose of present study was investigating the influence of six weeks endurance exercise training on gene expression of GAP-43 and CAP-1 in cerebellar tissue of male Wistar rats. **Materials and Methods**: Twenty healthy male Wistar rats were selected and divided into two groups of including experimental (n=10) and control (n=10). Experimental group performed aerobic exercise, five days per week for six weeks with the speed of 11-18 m/min for 10-30 minutes. Control group did not have any exercise training program. Real time-PCR and $2^{-\Delta\Delta_{CT}}$ were used for biochemistry analysis. Statistical test of Kolmogorov-Smirnov was used for evaluating the data normality, and cosidering the violation of normal distribution, U Mann Whitney test was applied for comparing the groups. **Results:** Gene expression of GAP-43 (p=0.002) and CAP-1 (p=0.002) proteins increased significantly in the experimental compared to control group. **Conclusion:** Given the important role of GAP-43 and CAP-1 proteins in improving the nervous syetem, it seems that endurance exercise training can play a key role as a non-invasive method in increasing the gene expression of the proteins in cerebellum and so recovering and regeneration of cells and improving cerebelluar function.

Keywords: Endurance exercise, GAP-43 protein, CAP-1 protein, Cerebellum.

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, vol. 7, no. 14, Fall & Winter 2019/2020
Received: Dec 16, 2017 Accepted: Jan 7, 2018

***Corresponding Author, Address: Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Science & Psychology, Shiraz university, Eram Sq, Shiraz, Iran;**
Email:koushkie53@yahoo.com **DOI: 10.22077/JPSBS.2018.1204.1356**