

The effect of continuous training with and without caloric restriction on the expression genes of amyloid beta and tau proteins in the brain tissue aged male rats

Houri Karimi¹, Mahtab Moazzami^{2*1}, Ali Yaghoubi³

1. Ph.D candidate, Department of Physical Education and Sport Science, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

2. Associate Professor, Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

Received: 04 May 2024; Accepted: 6 August 2024, Published: 20 December 2024

Abstract

Background and Purpose: Alzheimer's is a neurodegenerative disease characterized by the loss of memory and perception, which affects people's daily activities and lives. One of the main features of this disease is the formation of extracellular amyloid plaques consisting of beta amyloid protein deposition outside the cell and neurofibrillary tangles inside the neuron caused by the accumulation of tau proteins. The purpose of this study was to investigate the effect of continuous training with and without caloric restriction on the expression of amyloid beta and tau protein genes in the brain tissue of aged male rats.

Materials and methods: 36 old male mice were randomly divided into four control groups, continuous training group and continuous training group with restriction and caloric restriction group according to the entry criteria (same food, homogeneity in terms of age and weight, and same maintenance conditions). The training program was implemented in training groups for six weeks in the form of five training sessions per week with two weeks of preparation. The training protocol was implemented by gradually increasing the training duration from ten to twenty minutes and the training intensity by gradually increasing from 10 meters per minute to 20 meters per minute. 30 grams of special food was taken per day for each mouse, and in the caloric restriction group, 30% was deducted from the total food intake at the beginning. Then, according to the weight they lost, the percentage of food removed reached 20%. Height and weight measurements and brain tissue sampling were done 24 hours after the last exercise and with 12 hours of fasting. Analysis of results between groups of normal data was done using ANOVA statistical method in SPSS statistical software.

Results: The results showed that there is no significant difference between the 4 studied groups in the expression of beta amyloid gene in the brain tissue of old male rats ($p>0.05$). However, the results of analysis of variance showed that there was a significant difference between the 4 investigated groups on tau protein gene expression in old male rats ($p<0.05$).

Conclusion: According to the factors obtained from the study, it seems that continuous training with and without caloric restriction has not been able to change the expression of tau gene and amyloid beta gene in old male rats.

Keywords: Aging, Tau gene, Beta amyloid gene, Continuous exercise, Caloric restriction.

¹. Corresponding author

Mahtab Moazzami

Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Tel: 09153156705

Email: moazami@um.ac.ir

تأثیر تمرین تداومی با و بدون محدودیت کالری در بیان ژن‌های آمیلوئید بتا و پروتئین‌های Tau در بافت مغز رت‌های نر پیر

حوری کریمی^۱، مهتاب معظمی^{۱*}، علی یعقوبی^۲

۱. دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۴، تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۹/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: آلزایمر یک بیماری تخریب نورونی است که مشخصه آن فقدان حافظه و ادراک می باشد که این زوال حافظه اعمال روزمره و زندگی افراد را تحت تأثیر قرار می دهد. از مشخصات عمده این بیماری، تشکیل پلاک های آمیلوئیدی خارج سلولی متشکل از رسوب پروتئین آمیلوئیدی بتا در خارج سلول و رشته های درهم تنیده‌ی داخل نورونی ناشی از تجمع پروتئین های تائو می باشد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین تداومی با و بدون محدودیت کالری در بیان ژن های آمیلوئید بتا و پروتئین تائو در بافت مغز رت های نر پیر بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۶ سر رت نر پیر با توجه به معیارهای ورود (غذای یکسان، همگن بودن از نظر سن و وزن و شرایط نگهداری یکسان) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، تمرین تداومی، گروه تمرین تداومی با محدودیت و گروه بدون محدودیت کالری تقسیم شدند. برنامه تمرینی برای گروه های تمرینی شش هفته به صورت پنج جلسه تمرینی در هفته و با دو هفته آماده سازی اجرا شد. پروتکل تمرینی با افزایش تدریجی مدت زمان تمرین از ده تا بیست دقیقه و شدت تمرین با افزایش تدریجی از ۱۰ متر در دقیقه تا ۲۰ متر در دقیقه اجرا شد. روزانه به ازای هر سر موش ۳۰ گرم غذای مخصوص در نظر گرفته شد که در گروه محدودیت کالری در ابتدا ۳۰ درصد و در ادامه مطابق با وزنی که از دست داده بودند، درصد غذای حذف شده به ۲۰ درصد رسید. اندازه‌گیری قد و وزن و بافت برداری از مغز ۲۴ ساعت پس از آخرین تمرین و با ۱۲ ساعت ناشتایی انجام گرفت و برای تحلیل نتایج بین گروهی در داده های نرمال از روش آماری تحلیل واریانس آنوا در نرم افزار آماری SPSS استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری بین چهار گروه مورد بررسی در بیان ژن آمیلوئید بتا در بافت مغز رت های نر پیر وجود ندارد ($P>0/05$). با این حال، نتایج آزمون تحلیل واریانس نشان داد که بین چهار گروه مورد بررسی بر بیان ژن پروتئین تائو در رت های نر پیر تفاوت معنی داری وجود داشت ($P<0/05$).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از مطالعه به نظر می رسد، تمرین تداومی با و بدون محدودیت کالری نتوانسته است موجب تغییر معنی دار در هیچ یک از گروه های تمرینی بر بیان ژن تائو و ژن آمیلوئید بتا در بافت مغز رت های نر سالمند با نگاه پیشگیری از آلزایمر شود.

واژه‌های کلیدی: سالمندی، ژن تائو، ژن آمیلوئید بتا، تمرین تداومی، محدودیت کالری.

^۱ نویسنده مسوول

مهتاب معظمی

نشانی: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تلفن: ۰۹۱۵۳۱۵۶۷۰۵

ایمیل: moazami@um.ac.ir

مقدمه

پیری یک فرآیند بیولوژیکی پیشرونده و اجتناب ناپذیر است که موجب زوال و اختلال اندام‌ها می‌شود (۱). اگرچه پیری یک بیماری نیست، ولی عامل خطر برای اکثر بیماری‌های مزمن نظیر آلزایمر در نظر گرفته می‌شود که پیامدهای اقتصادی و هزینه‌های بهداشتی زیادی را به خانواده تحمیل می‌کند (۲).

آلزایمر یک بیماری تخریب نورونی است که مشخصه آن فقدان حافظه و ادراک است و این زوال حافظه در اعمال روزمره و زندگی افراد دخیل می‌باشد (۳). مشخصات عمده این بیماری عبارتند از تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی خارج سلولی متشکل از رسوب پروتئین آمیلوئیدی بتا ($A\beta$)^۱ در خارج سلول و رشته‌های درهم تنیده داخل نورون‌ها متشکل از پروتئین‌های تائو (Tau)^۲ (۴). پروتئین‌های تائو در حفظ ساختار میکروتوبول‌ها و عملکرد درست نورون‌ها نقش مهمی را بر عهده دارند، ولی اگر ملکول‌های فسفات به آن‌ها وصل شوند، باعث جدا شدن آن‌ها از میکروتوبول‌ها و در نهایت تجزیه توبول‌ها می‌شوند، سپس ملکول‌های تائو با هم جمع می‌شوند و باعث تشکیل کلاف‌هایی می‌شوند که از مهم‌ترین اجزاء میکروتوبول‌های پروتئین تائو می‌باشند و زمانی که هایپرفسفریله شوند در نورون‌ها تجمع پیدا می‌کنند، منجر به بروز اختلال در عملکرد سلول می‌شوند (۵). تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که فسفریله شدن تائو می‌تواند منجر به مرگ ناگهانی نورون‌ها شود، هایپرفسفریله شدن تائو در آسیب‌های عصبی نقش بسیار پررنگی را ایفا می‌کند که در این زمینه می‌توان به بیماری آلزایمر، پارکینسون و مولتیپل اسکلروز اشاره کرد (۶).

طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی مبتلایان به بیماری آلزایمر تا سال ۲۰۵۰ با رشد سه برابری به ۱۵۲ میلیون نفر خواهند رسید، این در حالی است که در حال حاضر تعداد مبتلایان به آلزایمر ۵۰ میلیون نفر است، طبق این گزارش بیماری آلزایمر سالانه ۸۱۸ میلیارد دلار هزینه در بر دارد و براساس پیش‌بینی‌ها تا سال ۲۰۳۰ و با افزایش دو برابری تعداد مبتلایان این هزینه‌ها به بیش از دو تریلیون دلار خواهد رسید. بیماری آلزایمر کیفیت زندگی افراد مبتلا را تحت تأثیر قرار می‌دهد و هزینه اقتصادی و عاطفی زیادی را به بیمار، اطرافیان بیمار و جامعه تحمیل می‌کند (۷). آن‌چه که اهمیت دارد این است که سن یک عامل خطر عمده در این بیماری بوده و ۶۵ سالگی به عنوان سن شروع بیماری آلزایمر در نظر گرفته می‌شود و بعد از ۶۵ سالگی به ازای هر ۵ سال افزایش سن، احتمال ابتلاء افراد به این بیماری دو برابر می‌شود (۲).

اگرچه مطالعات متعددی نشان داده‌اند که پروتئین آمیلوئید بتا و پروتئین پیش‌ساز آن (APP)^۳ در مغز دارای نقش‌های فیزیولوژیکی می‌باشند (۸)، اما تجمع آن‌ها در مغز نیز عامل مهمی در ایجاد بیماری آلزایمر است، تصور می‌شود که تجمع پروتئین آمیلوئیدی بتا در مغز در نتیجه عدم تعادل در تولید و پاک‌سازی آن از مغز ایجاد می‌شود (۹). امروزه پلاک‌های آمیلوئیدی در محیط خارج سلولی و توده‌های NFT^۴ در داخل نورون، دو ویژگی عمده‌ی بیماری‌شناسی آلزایمر در مغز هستند که معمولاً با آنژیوپاتی آمیلوئید مغزی (CAA)^۵ نیز همراه هستند (۱۰، ۹). پلاک‌های پروتئین آمیلوئید بتا و آنژیوپاتی آمیلوئید مغزی شامل تجمعات رشته‌ای از پپتید آمیلوئید بتا هستند (۱۰، ۱۱). امروزه اندازه‌گیری این تغییرات بیماری‌شناسی طی کالبدشکافی برای سنجش ابتلا شخص به آلزایمر و میزان پیشرفت بیماری استفاده می‌شود. پروتئین آمیلوئید بتا یک پروتئین ۴ کیلو دالتونی با ۳۹ تا ۴۳ اسید آمینه است که در اشکال مونومری، الیگومری و در نهایت تجمعات بزرگی از پپتید‌های رشته‌ای دیده می‌شود و از پروتئولیز پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید ایجاد می‌شود، پروتئین پیش‌ساز

¹ Amyloid beta ($A\beta$)

² Tau protein

³ Amyloid-beta precursor protein (APP)

⁴ Neurofibrillary tangles (NFTs)

⁵ Cerebral amyloid angiopathy (CAA)

آمیلوئید در سلول های دستگاه عصبی بیان می شود و در اتصال سلول ها به هم، تماس سلول ها و اتصال به ماده خارج سلولی و اسکلت سلولی نقش دارد (۱). پروتئین پیش ساز آمیلوئید به وسیله سه نوع آنزیم تجزیه کننده پروتئین به نام های آنزیم های آلفا، بتا و گاما سکر تاز پردازش می شود. آلفا سکر تاز، پروتئین پیش ساز آمیلوئید بالغ موجود در غشاء پلاسمایی را برش می زند و از تشکیل پپتید آمیلوئید بتا جلوگیری می نماید. بتا و گاما سکر تاز طی یک روند طبیعی برش، پروتئین پیش ساز آمیلوئید را تجزیه می کنند و پپتیدهای آمیلوئید بتا را تشکیل می دهند. پروتئین پیش ساز آمیلوئید تحت تأثیر این آنزیم به انواع پروتئین آمیلوئید بتا، مثل آمیلوئید بتا ۴۰ (دارای ۴۰ اسید آمینه) و آمیلوئید بتا ۴۲ (دارای ۴۲ اسید آمینه) که خاصیت تجمع خود به خودی دارد، شکسته می شود (۱۲).

در حالی که مطالعات در یافتن درمان قطعی برای بیماری آلزایمر با شکست مواجه شده اند، سازوکارهای پیش گیری از ابتلا به بیماری و یا حداقل کند کردن سیر پیشرفت بیماری توجه ویژه ای را به خود جلب کرده است (۱۳). مطالعات پیشین نشان داده اند که فعالیت ورزشی یک نگرش غیردارویی محتمل برای کاهش خطر بیماری آلزایمر می باشد (۱۴). فعالیت ورزشی منظم نقش حفاظت نورونی داشته و نوتروفین ها را به صورت مثبت تنظیم می نماید (۱۵) و در عین حال، آثار مطلوبی بر شناخت، حجم مغز و فعالیت شبکه عصبی در مطالعات کنترل شده افراد مسن که از لحاظ ادراکی سالم هستند و بزرگسالان مبتلا به اختلال حافظه دارد (۱۶). هم چنین، افزایش فعالیت جسمانی به طور بالقوه از طریق کاهش سطوح آمیلوئید بتا در مغز، با کاهش خطر اختلال ادراکی و شیوع زوال عقلی همراه می باشد. تزریق 1Aβ-42 به درون هیپوکمپ رت ها به عنوان یک مدل حیوانی مناسب برای القای بیماری آلزایمر می باشد که پلاک های پیری مرتبط با کاهش حافظه مداوم قابل توجهی را ایجاد می کند (۱۷).

فعالیت ورزشی به ویژه فعالیت ورزشی هوازی اثرات مفیدی بر سلامت مغز و عملکرد شناختی مغز دارد و اثرات مخرب بیماری های نورولوژیک مانند آلزایمر، پارکینسون و افسردگی را کاهش می دهد. اثرات مفید فعالیت ورزشی بر مغز بیش تر در نواحی هیپوکمپ و شکنج دندانه ای مشاهده می شود و این اثرات مفید شامل افزایش جریان خون و اندازه هیپوکمپ در انسان ها، تغییرات مورفولوژیکی در دندریت و برآمدگی های دندریتی، افزایش پلاستیسیته سیناپسی، نورونز و کاهش سطح آمیلوئید بتا مغز در حیوانات با شیوه های مختلف فعالیت ورزشی می باشد (۱۸). در حالی که مطالعات در یافتن درمان قطعی برای بیماری آلزایمر با شکست مواجه شده اند، سازوکارهای پیش گیری از ابتلا به بیماری و یا حداقل کند کردن سیر پیشرفت بیماری توجه ویژه ای را به خود جلب کرده است، مطالعات اخیر نشان می دهد که فعالیت ورزشی یک نگرش غیردارویی محتمل برای کاهش خطر بیماری آلزایمر می باشد (۱۹). فعالیت ورزشی منظم نقش حفاظت نورونی داشته و باعث تنظیم مثبت نوتروفین ها می گردد. یکی از عناصر مهمی که اثرات مفید فعالیت ورزشی را بر مغز القاء می کند، کاهش بار پروتئین تائو می باشد. نتایج مطالعات درباره تغییرات پروتئین تائو و عوامل دخیل در پاک سازی آن به دنبال تمرین ورزشی متناقض است، به طوری که کاهش، عدم تغییر و افزایش آن گزارش شده است. سوال این است که توصیه به تمرین و فعالیت بدنی در افراد سالمند تا چه حد می تواند اهمیت داشته باشد. با توجه به این که تاکنون پژوهشی درباره مقایسه اثر تمرین تداومی با و بدون محدودیت کالری بر بیان ژن های آمیلوئید بتا و پروتئین تائو در رت های نر پیر انجام نشده است پژوهش حاضر درصدد بررسی آن می باشد.

روش پژوهش

مطالعه حاضر در دسته پژوهش های تجربی قرار می گیرد. ۳۶ سرت نر پیر نژاد ویستار با ۲۶ ماه سن و محدوده وزنی ۴۰۰ گرم با معیار های ورود به پژوهش شامل شرایط فیزیکی یکسان حیوانات تهیه شدند (کلیه نمونه ها از یک مرکز آزمایشگاهی

خریداری شدند). حیوانات در قفس‌های مخصوص (پلی کربنات به ابعاد ۲۰×۲۷×۴۷ سانتی متر با آب خوری) و شرایط آزمایشگاهی یکسان تحت سیکل ۱۲:۱۲ و دمای ۲۲ درجه سانتی گراد (دماسنج جیوه‌ای ساخت ایران) و رطوبت ۵۰ درصد (رطوبت سنج ساخت ایران) نگهداری شدند. رت‌ها با غذای ویژه حیوانات (پلت آزمایشگاهی ساخت ایران) و آب مورد نیاز به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی تغذیه شدند، پس از خریداری و آشنا سازی با محیط به مدت ۲۶ ماه زندگی طبیعی و غذای مساوی با سایر رت‌ها داشتند. پس از انتقال به آزمایشگاه برای مدتی غذای مصرفی آن‌ها از طریق اندازه گیری غذای باقی مانده ثبت گردید. سپس ابتدا ۳۰ درصد غذای دریافتی هر روزشان کاهش یافت و در ادامه مطابق با وزنی که از دست داده بودند درصد غذای حذف شده به ۲۰ درصد رسید.

بعد از گذشت یک هفته و سازگاری با محیط آزمایشگاه، وزن بدن نیز به منظور دریافت دوز مناسب تغذیه روزانه ثبت شد. وزن بدن توسط ترازوی دیجیتال مدل (P8) ارزیابی شد. حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه مختلف تقسیم شدند که با توجه به آمار نهایی حاصل از دوره تحقیق و نیز آنالیز آزمایشگاهی در گروه تمرین تداومی (۸ سر موش)، در گروه تمرین تداومی با محدودیت کالری (۹ سر موش)، در گروه محدودیت کالری (۷ سر موش) و در گروه کنترل (۹ سر موش) بررسی شدند و نتایج آزمایشگاهی استخراج و جهت تحلیل آماری مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه کنترل در تمام طول تحقیق در مجاورت گروه‌های تجربی و بر روی تردمیل خاموش قرار گرفتند. تمرین گروه‌های تجربی از ساعت ۶ بعدازظهر انجام شد.

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با ترکیبی از کتامین (90 mg/kg) و زایلازین (10 mg/kg) بی هوش شدند. سر حیوان توسط گیوتین جدا شده و استخوان جمجمه شکافته شد و قطعه مناسبی از بافت مغز جدا و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و برای تجزیه و تحلیل به فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد برای اجرای سنجش آزمایشگاهی مورد نظر منتقل شد. برای سنجش میزان بیان ژن‌های آمیلوئید بتا و پروتئین تائو از روش ریل تایم PCR^۱ استفاده شد.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی خوراک رت شرکت جوانه خراسان

عنوان	نام اختصاری	غلظت	واحد
پروتئین	CP	۱۹/۶	DM%
انرژی قابل متابولیسم	ME	۲۵۰۰	Kcal/kg
فیبر خام	CF	۵/۴۸	DM%
چربی خام	EE	۳/۰۵	DM%
کلسیم	Ca	۰/۴۸	DM%
فسفر	P	۰/۳۸	DM%
متیونین	Met	۰/۳۹	DM%
لیزین	Lys	۱/۱۴	DM%

برنامه تمرین

برنامه تمرینی برای گروه‌های تمرینی شش هفته به صورت پنج جلسه تمرینی در هفته و با دو هفته آماده سازی اجرا شد. پروتکل تمرینی با افزایش تدریجی مدت زمان تمرین از ده تا بیست دقیقه و شدت تمرین با افزایش تدریجی از ۱۰ متر در دقیقه تا ۲۰ متر در دقیقه اجرا شد. گروه کنترل نیز روزانه و همزمان با گروه تمرین به مدت ده دقیقه روی تردمیل بدون

^۱ The polymerase chain reaction (PCR)

حرکت قرار گرفتند. تمرین در چرخه تاریکی رت‌ها انجام شد.

جدول ۲. پروتکل تمرینی گروه‌های تجربی

هفته	تواتر تمرین (جلسه در هفته)	مدت زمان هر جلسه	شدت تمرین
اول	۵	۱۰ دقیقه (هر جلسه یک دقیقه اضافه شد)	۱۰ متر بر دقیقه
دوم	۵	۱۵ دقیقه (هر جلسه یک دقیقه اضافه می‌شود)	۱۰ متر بر دقیقه
سوم	۵	۱۵ دقیقه	۱۵ متر بر دقیقه
چهارم	۵	۱۵ دقیقه (هر جلسه یک دقیقه اضافه می‌شود)	۱۵ متر بر دقیقه
پنجم	۵	۲۰ دقیقه	۱۵ متر بر دقیقه
ششم	۵	۲۰ دقیقه (هر جلسه یک دقیقه اضافه می‌شود)	۱۵ متر بر دقیقه

در مطالعه حاضر، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم افزار آماری SPSS v.22 انجام گرفت. با توجه به نبود داده‌های پیش‌آزمون، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه جهت بررسی همگن بودن گروه‌ها در پس‌آزمون استفاده شد و سطح معناداری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد و جهت بررسی و تایید نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد و سطح معناداری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج همگن بودن گروه‌ها و توزیع طبیعی داده‌ها که نشان دادند متغیرها از توزیع طبیعی برخوردار هستند، برای تحلیل نتایج بین گروهی از روش آماری تحلیل واریانس استفاده شد و از آزمون تعقیبی توکی نیز به منظور بررسی بین گروه‌ها به صورت زوجی استفاده شد.

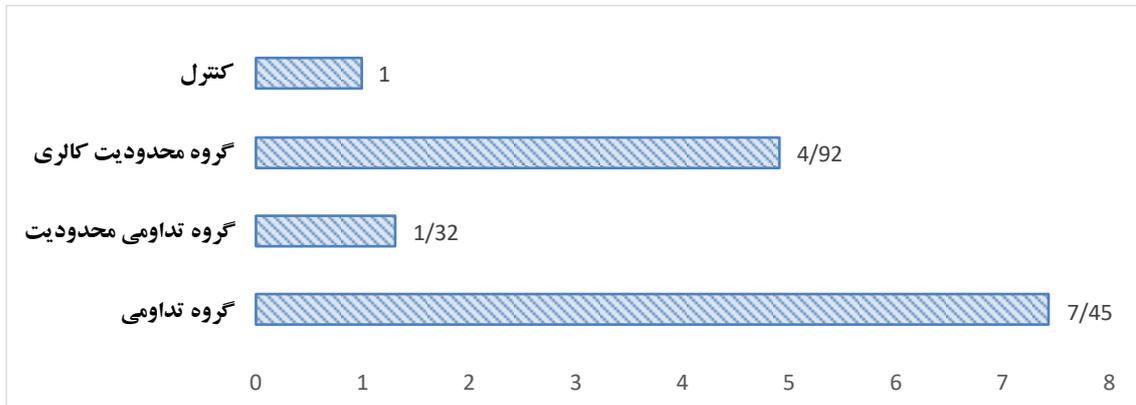
یافته‌ها

تعداد ۳۶ رت‌نر پیر در این تحقیق به عنوان آزمودنی شرکت داشتند که بررسی، استخراج و جهت تحلیل آماری مورد مطالعه قرار گرفتند. در (جدول ۳) مشخصات آماری بیان ژن آمیلوئید بتا و پروتئین تائو رت‌ها نشان داده شده است.

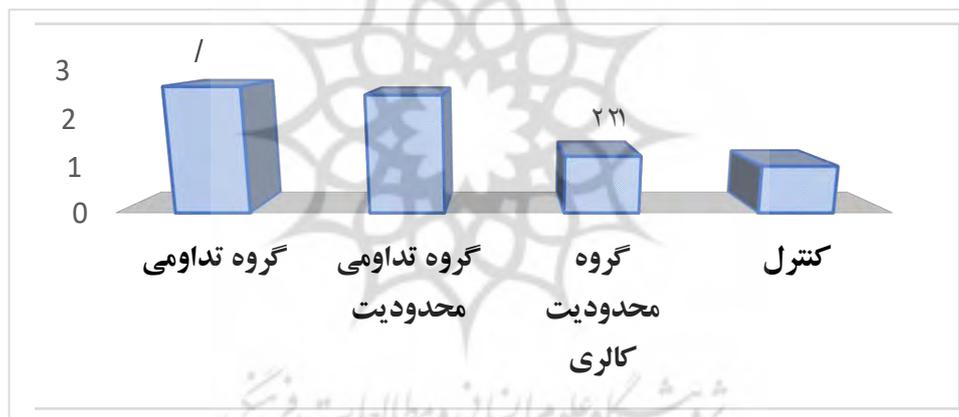
جدول ۳. نتایج آزمون آماری مربوط به بیان ژن‌های آمیلوئید بتا و پروتئین تائو رت‌های پیرنر

متغیرها	گروه‌ها	تعداد	انحراف معیار \pm میانگین	آماره F	سطح معنی داری
ژن آمیلوئید بتا	گروه تداومی	۸	$7/45 \pm 17/23$	۰/۸۳۴	۰/۴۸۶
	گروه تداومی محدودیت	۹	$1/32 \pm 0/64$		
	گروه محدودیت کالری	۷	$4/92 \pm 10/60$		
	کنترل	۹	$1/00 \pm 0/01$		
ژن پروتئین تائو	گروه تداومی	۸	$2/65 \pm 1/89$	۳/۷۵۵	۰/۰۲۲
	گروه تداومی محدودیت	۹	$2/48 \pm 1/19$		
	گروه محدودیت کالری	۷	$1/21 \pm 1/32$		
	کنترل	۹	$1/00 \pm 0/01$		

نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین چهار گروه مورد بررسی در بیان ژن آمیلوئید بتا در بافت مغز رت‌های نر پیر وجود ندارد (جدول ۱، $P > 0.05$). با این حال، نتایج آزمون تحلیل واریانس نشان داد که بین ۴ گروه مورد بررسی بر بیان ژن تائو در رت‌های نر پیر تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). با این حال، نتایج آزمون توکی نشان داد که بین گروه‌ها بصورت دو به دو، تفاوتی مشاهده نشد ($P > 0.05$) که به نظر می‌تواند اثر تجمعی آنها بر معنی‌داری کل آزمون است (جدول ۳).



نمودار ۱. مقایسه میانگین گروه‌های تمرین تداومی با بدون محدودیت کالریکی بر بیان ژن آمیلوئید بتا



نمودار ۲. مقایسه میانگین گروه‌های تمرین تداومی با بدون محدودیت کالریکی بر بیان ژن تائو

بحث و نتیجه‌گیری

هدف اصلی مطالعه حاضر بررسی مقایسه تأثیر تمرین تداومی با و بدون محدودیت کالری بر بیان ژن پروتئین تائو و ژن آمیلوئید بتا در بافت مغز رت‌های نر پیر بود. یافته‌های این پژوهش نشان داد که بین اثر تمرین تداومی با و بدون محدودیت کالری بر بیان ژن آمیلوئید بتا در رت‌های نر پیر تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. نتایج پژوهش حاضر با برخی از یافته‌های پژوهش‌های دیگر همخوانی ندارد (۲۰-۲۳). کیم و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند شش هفته تمرین، کاهش معنادار سطح پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا را در مغز رت‌های آلزایمری را باعث شده است (۲۰). هم‌چنین لیو و دیگران (۲۰۱۳) نشان دادند که تمرین می‌تواند از طریق اثر مهاری بر سطح آمیلوئید بتا، به عنوان راهکار درمانی برای آلزایمر مطرح باشد (۲۱). کانگ و دیگران (۲۰۱۳) نیز بیان داشتند که ۱۲ هفته تمرین ورزشی روی نوارگردان از اختلال جهش در ژن PS2 جلوگیری کرده و تجمع آمیلوئید بتا را از طریق مهار فعالیت β -سکرتاز و فرآورده‌های آن کاهش داد (۲۲). هم‌چنین یعقوبی و دیگران (۲۰۱۶) با

بررسی تأثیر تمرین تناوبی با دو شدت پایین و بالا بر رت های صحرایی آلزایمری شده عنوان داشتند که تمرین تناوبی فارغ از شدت تمرین (پایین و بالا) باعث کاهش سطح آمیلوئید بتا هیپوکامپ رت های آلزایمری شده، می‌گردد که احتمالاً دلیل عدم هم‌خوانی یافته‌ها با پژوهش های مورد بررسی، نوع برنامه تمرینی و مدت زمان آن می‌باشد (۲۳). یکی از عوامل اصلی ایجادکننده آلزایمر، تشکیل پلاک های پیری متشکل از پپتید آمیلوئید بتا می‌باشد (۲۴، ۲۵). علاوه بر این سوچوکوا و دیگران (۲۰۱۱) در یک مطالعه طولی به مدت ۱/۵ سال نشان دادند که رسوب و پلاک‌های آمیلوئید بتا مغز به صورت وابسته به سن، در طی دوره تحقیق، حتی در سالمندان بدون علامت آلزایمر نیز افزایش می‌یابد (۲۶). از طرفی نشان داده شده است که افزایش شاخص های استرس اکسایشی در آلزایمر با تجمع و رسوب آمیلوئید بتا در مغز همراه است (۲۷). آمیلوئید بتا در وضعیت های تجمعی مختلفی مشاهده می‌شود که در این بین آمیلوئید بتا الیگومریزه شده به عنوان سمی ترین شکل در نظر گرفته می‌شود (۲۸). آمیلوئید بتا الیگومریزه می‌تواند در میتوکندری نیز یافت شود (۲۹) که مهم ترین منبع تولید رادیکال های آزاد می‌باشد. مطالعات در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است که تزریق Aβ42 به نورون های اولیه هیپوکامپی در محیط کاشت منجر به افزایش شاخص های استرس اکسایشی و سمیت عصبی می‌شود (۳۰-۳۱). همراه با این استرس اکسایشی ناشی از پپتید آمیلوئید بتا، افزودن ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان، به‌طور معناداری استرس اکسایشی و اثرات سمیت عصبی ناشی از افزایش آمیلوئید بتا را تعدیل می‌کند (۳۰)؛ در این بین کاسادو و دیگران (۲۰۱۱) نشان دادند که سطح مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، همراه با افزایش سن در بیماران مبتلا به آلزایمر افزایش می‌یابد و استرس اکسایشی نقش مهمی در آسیب های مغزی بیماران آلزایمری بازی می‌کند (۳۲). ماهیت آب‌گریزی پپتیدهای آمیلوئید بتا، به آن‌ها اجازه می‌دهد که تجمع یافته و پروتوفیبریل‌ها و فیبریل‌ها را تشکیل دهند و سرانجام تجمع این عوامل منجر به رسوب پلاک‌های آمیلوئیدی می‌شوند (۳۳). افزایش تولید آمیلوئید بتا و کاهش حذف آن از مغز عامل اصلی تجمع آن در مغز و آسیب به ارتباطات نورونی و کاهش حافظه و یادگیری بیان شده است (۲۴). در این ارتباط بیان شده است که افزایش سطح و رسوب آمیلوئید بتا در پلاک های خارج سلول به طور ویژه باعث اختلال سیناپسی، اختلال در شبکه نورونی، اختلال در عملکرد میتوکندریایی، آپوپتوز سلول عصبی و کاهش حافظه می‌گردد (۳۴-۳۵). همچنین، هر دوی میکروگلیاها و آستروسیت‌ها، پروتئین آمیلوئید بتا ترشح می‌کنند (۳۴). پلاک‌های پیری اصولاً متشکل از پپتیدهای آمیلوئید بتا می‌باشد که نقش اصلی آن در بیماری‌زایی آلزایمر به طور گسترده‌ای ثابت شده است (۳۴، ۳۶). در حال حاضر شواهدی وجود دارند مبنی بر اینکه تمرینات ورزشی، یک عامل مهم در برابر روند سالمندی و بیماری های تحلیل برنده عصبی ناشی از آن می‌باشد (۳۷). در همین راستا براساس نتایج مقاله مروری رودریگز و همکاران (۲۰۲۴) نشان داده شد مداخلات فعالیت بدنی می‌تواند به طور متوسط بتا آمیلوئید خون را کاهش دهد، اما نتایج از نظر آماری معنی دار نبودند و باید با احتیاط تفسیر شوند (۳۸). در همین راستا سلی و همکاران (۲۰۲۳) نیز در تحقیق خود به بررسی اثر فعالیت بدنی روزانه بر تغییرات سطوح آمیلوئید بتا در افراد سالمند در طی ۱۵ سال پرداختند و نشان دادند تغییرات سطوح مارکرهای مورد بررسی در گروه دارای فعالیت بدنی روزانه معنی دار نبوده است (۳۹).

نتایج تحقیق حاضر در مورد مقایسه اثر تمرین تناوبی با و بدون محدودیت کالری بر بیان ژن تائو در رت های نر پیر نشان داد که بین چهار گروه مورد مطالعه در بیان ژن پروتئین تائو تفاوت معنی داری وجود ندارد. از طرفی برخی مطالعات نشان داده اند که محدودیت کالری می‌تواند کاهش وابسته به سن پیام‌رسانی دوپامین را در جوندگان بهبود بخشد و ناشتایی متناوب می‌تواند نورون‌ها را در برابر اختلال و انحطاط برخی بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی در مدل جوندگان حفاظت کند. نشان داده شده است که موش‌های تحت محدودیت کالری، افزایش در طول عمر نشان می‌دهند و در انجام وظایف یادگیری و حافظه، در مقایسه با موش‌های صحرایی همسن

تغذیه شده با دسترسی آزاد به آب و غذا بهتر عمل می‌کنند؛ اما نتایج خاص مطالعات محدودیت کالری در مورد حفاظت نورونی همیشه مثبت نبوده است (۴۰).

در مجموع، پژوهش حاضر دارای محدودیت‌هایی مانند تعداد کم حجم نمونه، عدم امکان بررسی تاثیر شدت‌های متفاوت تمرین و رژیم‌های غذایی متنوع بود. از طرف دیگر طول مدت تمرینات را نیز می‌توان به عنوان یک عامل موثر به شمار آورد. اکثر مطالعاتی که کاهش سطح پروتئین فسفوریله تائو را نشان داده اند طول دوره طولانی داشته اند. هرچند بسیاری از پژوهشگران استفاده از داروهای مختلف برای درمان آلزایمر را پیشنهاد داده اند، اما عموماً هر کدام دارای اثرات جانبی نیز می‌باشند؛ بنابراین به نظر می‌رسد تغییر در شیوه زندگی مانند داشتن یک رژیم غذایی مناسب و انجام فعالیت‌های ورزشی می‌تواند به عنوان روش‌های مکمل در کنار درمان‌های دارویی در نمونه‌های حیوانی مورد مطالعه قرار گیرد تا در صورت کسب نتایج مثبت و تکرار و تایید یافته‌ها در مطالعات کارآزمایی بالینی مورد استفاده بیماران قرار گیرد. در همین راستا الیاس و همکاران (۲۰۲۳) در تحقیق خود اظهار داشتند که رژیم غذایی متناوب در طول سال‌ها به طور بالقوه روند پاتولوژیک بیماری آلزایمر را معکوس یا به تاخیر می‌اندازد (۴۱). با توجه به نتایج حاصل از مطالعه به نظر می‌رسد، تمرین تداومی با و بدون محدودیت کالری با شدت‌ها و مقادیر به کار گرفته شده در این پژوهش نتوانسته است موجب تغییر معناداری بر بیان ژن‌های آمیلوئید بتا و پروتئین تائو در بافت مغز رت‌های نر پیر شود. پیشنهاد می‌گردد که برنامه‌های تمرین تداومی شدید بر بیان ژن‌های آمیلوئید بتا و پروتئین تائو و احتمالاً دستکاری متغیرهای تمرینی بتواند اثربخشی متفاوتی داشته باشند. همچنین تحقیقات بیش‌تری با تغییر در مدت زمان، شدت تمرینات، روش تمرینات و نیز اعمال محدودیت کالریکی با دوزهای متفاوت مد نظر قرار گیرد.

این پژوهش دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.BOJNOURD.REC.1401.006 می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از تمامی افرادی که در اجرای این پژوهش همکاری کرده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

حامی مالی

این مقاله حامی مالی ندارد.

تعارض منافع

در این مقاله، هیچ‌گونه تعارض منافی برای نویسندگان وجود ندارد.

منابع

1. Nisbet RM, Polanco JC, Ittner LM, Götz J. Tau aggregation and its interplay with amyloid- β . *Acta Neuropathol.* 2015;129(2):207-220. doi:10.1007/s00401-014-1371-2.
2. Godarzi F, Nikbakht H, Abednatanzi H, Ebrahim K, Ghazalian F. Comparison the effect of aerobic and resistance training on some oxidative parameters and TGF- β in cardiac tissue of elderly rats. *RJMS.* 2020; 27(3):93-100. [In Persian]. <http://rjms.iums.ac.ir/article-1-6109-en.html>
3. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease [published correction appears in *N Engl J Med.* 2011 Feb 10;364(6):588]. *N Engl J Med.* 2010;362(4):329-344. doi:10.1056/NEJMra0909142.
4. Babaei Abraki S, Chavoshi-Nezhad S. Mitochondrial defects and oxidative stress in alzheimer disease. *Shefaye Khatam.* 2014; 2(1):85-94. [In Persian] <http://shefayekhatam.ir/article-1-67-en.html>.

5. Parsa N. Alzheimer's Disease: A medical challenge of 21st century. *J Arak Uni Med Sci*. 2011; 14(2):100-108 [In Persian]. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-1174-en.html>.
6. Akbari Kamrani AA, Shams A, Abdoli B, Shamsipour Dehkordi P. The effect of low and moderate Intensity aerobic exercises on self-concept in older adults. *Salmand: Iranian Journal of Ageing*. 2015; 10(2):188-195 [In Persian]. <http://salmandj.uswr.ac.ir/article-1-713-en.html>.
7. Peric A, Annaert W. Early etiology of Alzheimer's disease: tipping the balance toward autophagy or endosomal dysfunction?. *Acta Neuropathol*. 2015;129(3):363-381. doi:10.1007/s00401-014-1379-7.
8. Abramov E, Dolev I, Fogel H, Ciccotosto G.D, Ruff E, et al. Amyloid- β as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nature neuroscience*. 2009; 12(12):1567-1576. doi:10.1038/nn.2433.
9. Dorostkar MM, Zou C, Blazquez-Llorca L, Herms J. Analyzing dendritic spine pathology in Alzheimer's disease: problems and opportunities. *Acta Neuropathol*. 2015;130(1):1-19. doi:10.1007/s00401-015-1449-5.
10. Thal DR, Walter J, Saido TC, Fändrich M. Neuropathology and biochemistry of A β and its aggregates in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2015;129(2):167-182. doi:10.1007/s00401-014-1375-y.
11. Vinters HV. Emerging concepts in Alzheimer's disease. *Annu Rev Pathol*. 2015;10:291-319. doi:10.1146/annurev-pathol-020712-163927.
12. Pasand Mojdeh H, Alipour F, Borhani Haghighi M. Alzheimer's Disease: Background, Current and Future Aspects. *Shefaye Khatam*. 2016; 4(3):70-80 [In Persian]. <http://shefayekhatam.ir/article-1-963-en.html>.
13. Biensø RS, Olesen J, Gliemann L, et al. Effects of exercise training on regulation of skeletal muscle glucose metabolism in elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2015;70(7):866-872. doi:10.1093/gerona/glv012.
14. Lin TW, Shih YH, Chen SJ, et al. Running exercise delays neurodegeneration in amygdala and hippocampus of Alzheimer's disease (APP/PS1) transgenic mice. *Neurobiol Learn Mem*. 2015;118:189-197. doi:10.1016/j.nlm.2014.12.005.
15. Dao AT, Zagaar MA, Alkadhi KA. Moderate treadmill exercise protects synaptic plasticity of the dentate gyrus and related signaling cascade in a rat model of alzheimer's disease [published correction appears in *Mol Neurobiol*. 2018 Jan;55(1):901]. doi: 10.1007/s12035-017-0788-8].
16. Salehi A, Abbaszadeh H, Farzanegi P. The Effect of periodic exercise and resveratrol supplementation on the expression of parg coactivator-1 alpha and pyruvate dehydrogenase kinase genes in gastrocnemius muscle of old rats with type 2 diabetes. *Intern Med Today*. 2019; 26(1):68-81. <http://imtj.gmu.ac.ir/article-1-3301-en.html>
17. Khodadadi D, Gharakhanlou R, Nakhdi N, Selimi M, Azimi M, Shahid A. The effect of four weeks prior exercise training on the level of soluble amyloid beta and memory impairment in rats with Alzheimer's disease induced by A β -42 injection. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2017; 24(165) [In Persian]. <http://rjms.iuims.ac.ir/article-1-5023-en.html>.
18. Van Dyck CH. Anti-Amyloid- β Monoclonal Antibodies for Alzheimer's Disease: Pitfalls and Promise. *Biol Psychiatry*. 2018;83(4):311-319. doi:10.1016/j.biopsych.2017.08.010.
19. Li HL, Wang HH, Liu SJ, et al. Phosphorylation of tau antagonizes apoptosis by stabilizing beta-catenin, a mechanism involved in Alzheimer's neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(9):3591-3596. doi:10.1073/pnas.0609303104.
20. Kim BK, Shin MS, Kim CJ, Baek SB, Ko YC, Kim YP. Treadmill exercise improves short-term memory by enhancing neurogenesis in amyloid beta-induced Alzheimer disease rats. *J Exerc Rehabil*. 2014;10(1):2-8. doi:10.12965/jer.140086.
21. Liu HL, Zhao G, Zhang H, Shi LD. Long-term treadmill exercise inhibits the progression of Alzheimer's disease-like neuropathology in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice. *Behav Brain Res*. 2013;256:261-272. doi:10.1016/j.bbr.2013.08.008.
22. Kang EB, Kwon IS, Koo JH, et al. Treadmill exercise represses neuronal cell death and inflammation during A β -induced ER stress by regulating unfolded protein response in aged presenilin 2 mutant mice. *Apoptosis*. 2013;18(11):1332-1347. doi:10.1007/s10495-013-0884-9.
23. Yaghoubi A, Saghebjo M, Fallah Mohammadi Z, Hedayati M, Hajizadeh Moghaddam A. effects of continuous training intensity on Amyloid Beta1-42(A β 1-42) levels in hippocampus of

- homocysteine-induced Alzheimer's model rats. *J Arak Uni Med Sci* 2016; 18 (11) :83-93. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-3870-en.html>.
24. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med*. 2016; 1;8(6):595-608. doi:10.15252/emmm.201606210.
25. Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci*. 2000; 23(11):542-549. doi:10.1016/s0166-2236(00)01656-8.
26. Sojkova J, Zhou Y, An Y, Kraut MA, Ferrucci L, Wong DF, Resnick SM. Longitudinal patterns of β -amyloid deposition in nondemented older adults. *Arch Neurol*. 2011 May;68(5):644-9. doi:10.1001/archneurol.2011.77.
27. Butterfield DA, Sultana R. Methionine-35 of $a\beta(1-42)$: importance for oxidative stress in Alzheimer disease. *J Amino Acids*. 2011; 198430. doi:10.4061/2011/198430.
28. Glabe CC. Amyloid accumulation and pathogenesis of Alzheimer's disease: significance of monomeric, oligomeric and fibrillar Abeta. *Subcell Biochem*. 2005;38:167-177. doi:10.1007/0-387-23226-5_8.
29. Caspersen C, Wang N, Yao J, et al. Mitochondrial Abeta: a potential focal point for neuronal metabolic dysfunction in Alzheimer's disease. *FASEB J*. 2005;19(14):2040-2041. doi:10.1096/fj.05-3735fje.
30. Boyd-Kimball D, Sultana R, Mohammad-Abdul H, Butterfield DA. Rodent Abeta(1-42) exhibits oxidative stress properties similar to those of human Abeta(1-42): Implications for proposed mechanisms of toxicity. *J Alzheimers Dis*. 2004;6(5):515-525. doi:10.3233/jad-2004-6509.
31. Nishida N, Nagata N, Toda H, et al. Association of lipocalin-type prostaglandin D synthase with disproportionately enlarged subarachnoid-space in idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Fluids Barriers CNS*. 2014;11(1):9. doi:10.1186/2045-8118-11-9.
32. Gomez-Casado E, Estepa A, Coll JM. A comparative review on European-farmed finfish RNA viruses and their vaccines [published correction appears in *Vaccine*. *Vaccine*. 2011; 29(15):2657-2671. doi:10.1016/j.vaccine.2011.01.097.
33. Viola KL, Klein WL. Amyloid β oligomers in Alzheimer's disease pathogenesis, treatment, and diagnosis. *Acta Neuropathol*. 2015;129(2):183-206. doi:10.1007/s00401-015-1386-3.
34. Uslu S, Akarkarasu ZE, Ozbabalik D, et al. Levels of amyloid beta-42, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurochem Res*. 2012;37(7):1554-1559. doi:10.1007/s11064-012-0750-0.
35. Cavallucci V, D'Amelio M, Cecconi F. $A\beta$ toxicity in Alzheimer's disease. *Molecular neurobiology*. 2012; 45:366-378. doi:10.1007/s12035-012-8251-3.
36. Souza AD, Goto GO, Mainardi JA, Coelho AV, Tadini CC. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. *LWT-Food Science and Technology*. 2013; 54(2):346-352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.017>.
37. Paillard T, Rolland Y, de Souto Barreto P. Protective effects of physical exercise in alzheimer's disease and parkinson's disease: A Narrative Review. *J Clin Neurol*. 2015;11(3):212-9. doi:10.3988/jcn.2015.11.3.212.
38. Rodriguez-Ayllon M, Solis-Urra P, Arroyo-Ávila C, et al. Physical activity and amyloid beta in middle-aged and older adults: A systematic review and meta-analysis. *J Sport Health Sci*. 2024;13(2):133-144. doi:10.1016/j.jshs.2023.08.001.
39. Slee MG, Rainey-Smith SR, Villemagne VL, et al. Physical activity and brain amyloid beta: A longitudinal analysis of cognitively unimpaired older adults. *Alzheimers Dement*. 2024;20(2):1350-1359. doi:10.1002/alz.13556.
40. Yazdian MR, Khalaj A, Kalhor N. The effect of caloric restriction and treadmill exercise on reserpine-induced catalepsy in a rat model of parkinson's Disease. *Shefaye Khatam* 2018; 6(4):45-52. <http://shefayekhatam.ir/article-1-1827-en.html>.
41. Elias A, Padinjakara N, Lautenschlager NT. Effects of intermittent fasting on cognitive health and Alzheimer's disease. *Nutr Rev*. 2023;81(9):1225-1233. doi:10.1093/nutrit/nuad021.