

## تأثیر یک دوره تمرین مقاومتی و اکلیل الملک بر پروتئین app در هیپو کمپ موش‌های مبتلا به آلزایمر

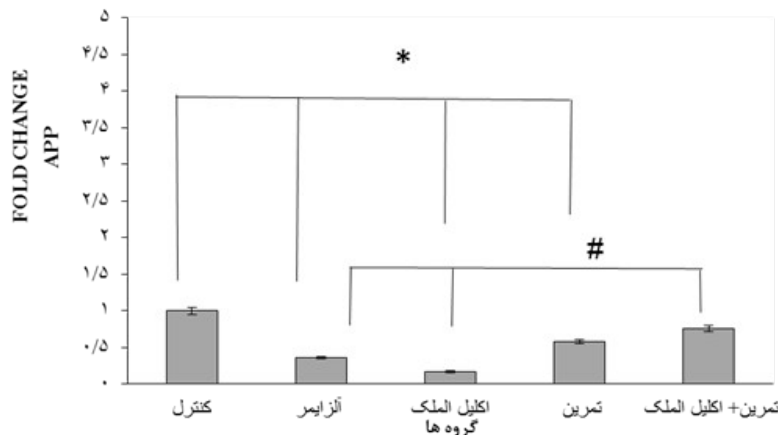
زهرة رسولی<sup>1</sup>، فرح نامنی<sup>2\*</sup>، بهاره یزدان پرست چهارم‌حالی<sup>3</sup>  
1. کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران  
2,3. استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

**زمینه و هدف:** فرضیه آبشاری آمیلوئید بتا عامل اصلی بیماری آلزایمر است. فرضیه الیگومرهای آمیلوئید بتا به توجیه مکانیسم‌های تخریب سیناپس و مرگ نورونی مرتبط با آن کمک می‌کند. پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید (app) از اعضای خانواده پروتئین‌هایی است که شامل پروتئین‌های شبیه پیش‌ساز آمیلوئید در پستانداران می‌باشد که نقش زیادی در آلزایمر دارد. این پروتئین از عرض غشا می‌گذرد و دارای یک ناحیه خارج سلولی بزرگ هستند (1). هدف از اجرای این پژوهش، بررسی نقش تمرین با وزنه و عصاره اکلیل الملک بر بیان ژن app در هیپو کمپ موش‌های مبتلا به آلزایمر بود.

**مواد و روش‌ها:** این تحقیق از نوع تجربی می‌باشد. جامعه تحقیق مطالعه حاضر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم و سن حدود ۸-۱۰ هفته بودند که از مرکز انستیتو پاستور ایران خریداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. از بین آنها تعداد ۵۵ موش صحرایی به عنوان نمونه تحقیق انتخاب شدند. موش‌ها به صورت تصادفی ساده به پنج گروه تقسیم شدند: گروه کنترل سالم، گروه کنترل آلزایمری، گروه آلزایمری + تمرین مقاومتی، گروه آلزایمری + مکمل اکلیل الملک و گروه آلزایمری + تمرین مقاومتی + مکمل اکلیل الملک. ایجاد آلزایمر القا شده با تری متیل تین انجام شد. در پروتکل تمرین مقاومتی وزنه به دم موش‌های صحرایی متصل شد که باید این وزنه را از نردبانی با ۲۶ پله بالا ببرند (2). اکلیل الملک به عنوان مکمل به مدت ۶ هفته با دوز ۳۰۰ میلی‌مول/کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی بود. در دوره تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات بر اساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق انجام شد. به منظور کاهش استرس مربوط به انتقال حیوانات و سازگاری با محیط جدید، موش‌ها به مدت دو هفته، تحت شرایط جدید نگهداری شدند. دمای محیط نگهداری حیوانات (۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد)، رطوبت نسبی (۵۵ تا ۶۰ درصد) با چرخه ۱۲ ساعت روشنایی-۱۲ ساعت تاریکی و قابلیت دسترسی آزادانه به آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی در قفس‌های پلی‌کربنات با قابلیت شست و شو نگهداری شد برای جذب رطوبت و ادرار در کف قفس‌ها از خاک رنده چوب استریل استفاده گردید. ۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی موش‌های صحرایی بوسیله‌ی تزریق کتامین و زایلازین بی‌هوش و بافت هیپو کمپ مغز سریعاً استخراج و منجمد شد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به یخچال با دمای ۸۰- سانتیگراد منتقل شد. پس از تهیه پرایمر ژن و استخراج RNA، سنتز cDNA صورت گرفت. با استفاده از روش Real-time-PCR اندازه‌گیری بیان ژن انجام شد. از آزمون آنوا دو طرفه برای برآورد تفاوت‌های بین گروهی در موش‌های آلزایمری استفاده شد. با توجه به معناداری نتایج از آزمون تعقیبی بونفرونی نیز استفاده شد. سطح معناداری  $\geq 0.05/p$  نیز برای رد یا قبول فرضیه‌ها در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** با استفاده از آزمون شاپیروویلک، طبیعی بودن دیتاها در گروه‌های تحت اندازه‌گیری مورد بررسی قرار گرفت و نتایج مطابق با هر فرضیه و گروه‌های مورد تحلیل در قسمت آزمون فرضیه‌ها گزارش گردید. براین اساس میزان بیان ژن app در هیچ یک از موارد معنی‌دار گزارش نشد. با استفاده از آزمون لوین، همگنی واریانس‌ها در گروه‌های تحت اندازه‌گیری مورد بررسی قرار گرفت و نتایج مطابق با هر فرضیه و گروه‌های مورد تحلیل در قسمت آزمون فرضیه‌ها گزارش گردید. براین اساس میزان بیان ژن app بر اساس آماره لوین در هیچ یک از گروه‌های آزمایشی معنی‌دار گزارش نشد ( $P < 0.05$ ). مطابق با نتایج آنوا دو طرفه بین گروه‌ها

در میزان بیان ژن app ، اختلاف معنادار وجود داشت. بر اساس نتایج به دست آمده از  $\Delta\Delta ct-2$  و داده های RT-PCR و آزمون تحلیل واریانس دو طرفه ، نتایج تحلیل واریانس دو عاملی نشان داد که تعامل بین تمرین و اکلیل الملک بر میزان تغییرات بیان ژن app تاثیر معناداری ندارد. اما تمرین به تنهایی و همچنین اکلیل الملک به تنهایی می تواند تفاوت معناداری بین گروه های مختلف ایجاد نماید. بنابراین بین گروه ها در میزان app mRNA اختلاف معنادار وجود دارد. برای بررسی جزئیات بیشتر و مقایسه ی دو به دوی گروه ها با یکدیگر از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده گردید.



نمودار 1. تغییرات بیان ژن app بین گروه کنترل و گروه های تیمار

**بحث و نتیجه گیری:** به نظر می رسد در مداخله آلزایمر و همچنین اکلیل الملک به تنهایی میزان این ژن کاهش می یابد. اما در مداخله فعالیت ورزشی به همراه اکلیل الملک میزان بیان ژن ها به سطح عادی می رسد. کاهش بیش از حد بیان این ژن ها می تواند منجر به ایجاد شرایط نامناسب برای بیماری آلزایمر شود. لذا به نظر می رسد تعادل مناسب بیان ژن app برای بهبود روند آلزایمر لازم باشد. کاهش استرس اکسیداتیو و عوامل التهابی و آزادسازی نوروتروفین ها به ویژه در ساختار هیپوکامپ (3). منجر به مهار کاهش بیشتر app در گروه تمرین و مکمل شد. به نظر می رسد مکمل اکلیل الملک با افزایش سطح cGMP نقش بالقوه ای در نورونز داشته باشد(4).

**کلید واژه ها:** اکلیل الملک ، تمرین مقاومتی ، ژن app ، هیپوکامپ ، آلزایمر  
**منابع**

1. 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. *Neuroscience research* 2011;69(2):161-73.
2. Ghasemi R, Zarifkar A, Rastegar K, Maghsoudi N, Moosavi M. Repeated intra-hippocampal injection of beta -amyloid 25 –35 induces a reproducible impairment of learning and memory: considering caspase -3 and MAPKs activity. *European Journal of Pharmacology* 2014; 726: 33.
3. Pennisi M, Crupi R, Di Paola R, Ontario ML, Bella R, Calabrese EJ, et al. Inflammasomes, hormesis, and antioxidants in neuroinflammation: role of NRLP3 in Alzheimer disease. *Journal of neuroscience research* 2017;95(7):1360-72.
4. Jahle A, Garaschuk O. The Interplay between cGMP and Calcium Signaling in Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23(13), 7048; <https://doi.org/10.3390/ijms23137048>