Sport Physiology **Volume 13, No 50, 2021, Page 39-58**

Research Paper

Effect of 4 Weeks Aerobic Training on Trk-B, PKC and AKT in Hippocampus of Male Rats with Alzheimer's Disease

A. Khodamoradi[1], M.R. Kordi[2], R. Nori[3]

1. PhD Student of Sports Physiology, Kish International Campus, University of Tehran
2. Professor of Sports Physiology, University of Tehran (Corresponding Author)
3. Associate Professor of Sports Physiology, Kish International Campus, University of Tehran

Received: 2017/12/18 **Accepted: 2018/02/18**

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a progressive disorder of the nervous system. Amyloid β-induced degradation reactions in the central nervous system (CNS) result in neurotrophic factor abnormalities which may, in turn, facilitate the development of amyloid pathology. The effects of exercise on these factors have been taken into account; however, an understanding of how it works needs further investigation. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of aerobic training on tropomyosin-related kinase B (TrkB), protein kinase C (PKC) and protein kinase B (AKT) in the hippocampus of male rats with AD. In this experimental study, 36 adult male rats (8 weeks) with an average weight of 195 ± 20 g were randomly divided into 3 groups (n=12): AD, AD+exercise training (ADT), and control (C). The AD was induced by intrahippocampal injection of Aβ1-42. Aerobic exercise was performed for 4 weeks, 5 sessions per week. Then, 24 hours after the last training session, animals were either subjected to behavioral testing or killed, and their hippocampus was extracted for further experiments. One-way ANOVA was used to analyze the data. The results showed that the ADT rats spend significantly more time in the target quadrant compared to the AD group in the probe test ($P<0.05$). Moreover, TrkB, PKC and AKT levels decreased following injection of Aβ1-42 ($P<0.001$). Aerobic exercise increased TrkB, PKC and AKT levels compared to AD rats ($P<0.05$). Therefore, aerobic exercise seems to help improve spatial memory by activating the TrkB- PKC-AKT signaling pathway.

Key Words: Alzheimer's Disease, TrkB, PKC, AKT, Aerobic Training

1. Email: aslankhodamoradi@gmail.com
2. Email: mrkordi@ut.ac.ir
3. Email: nuri_r7@ut.ac.ir

Extended Abstract

Background and Purpose

Alzheimer's disease (AD) is a progressive disorder of the nervous system. Amyloid β-induced degradation reactions in the central nervous system (CNS) result in neurotrophic factor abnormalities which may, in turn, facilitate the development of amyloid pathology. Several cellular and molecular systems are important for maintaining flexibility and neuronal function including neurotrophins which can be considered as an aim to exert the beneficial effects of exercise on the brain. Evidence suggests that changes in tropomyosin-related kinase B (TrkB) signaling are necessary for exercise-induced affecting hippocampal flexibility, synaptic flexibility and transmission (1). However, many aspects of this effect are not fully understood. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of aerobic training on TrkB, protein kinase C (PKC) and protein kinase B (AKT) in the hippocampus of male rats with AD.

Method of Research

In this experimental study, 36 adult male rats (8 weeks) with an average weight of 195 ± 20 g were randomly divided into 3 groups (n=12): AD, AD+exercise training (ADT), and control (C). The AD was induced by bilaterally intrahippocampal injection of $A\beta_{1-42}$. The exercise group was subjected to moderate treadmill exercise (for 4 weeks, 5 sessions per week) for 7 days after microinjection. Moreover, 24 hours after the last training session, animals were either subjected to behavioral testing using the Morris Water Maze (MWM) test to assess the hippocampus-dependent spatial learning and memory ability of rats or killed immediately after anesthesia with ether. Next, the brains were quickly removed from the skulls, and the hippocampus was dissected on ice. The real-time PCR assay was used to measure the research variables, and comparisons between groups were carried out by one-way ANOVA, and post-hoc comparisons were assessed using the Bonferroni test.

Results

The results showed that in the probe test, the time spent in the target quadrant in the AD group was significantly less than that in the control group ($p<0.05$). In addition, the ADT group performed significantly better than the AD group ($p<0.05$) (Fig. 1). The TrkB, PKC and AKT mRNA levels decreased following injection of Aβ1-42 compared to the control group ($P<0.001$). The results of the one-way ANOVA test demonstrated that exercise significantly increased TrkB mRNA level compared to the AD group ($p<0.001$). Besides, exercise significantly increased PKC mRNA levels in the AD group ($p<0.001$).

Furthermore, AKT mRNA levels significantly increased in ADT than AD groups ($p<0.001$).

Conclusion

The present study is one of the few studies to investigate the association between TrkB and exercise training after the AD progression. The results indicated that a 4-week aerobic exercise period resulted in a significant increase in the AKT-PKC-TrkB signaling pathway in AD animals compared to the non-exercising AD group. Consistent with the findings of the present study, previous studies have shown that aerobic exercise can enhance brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and TrkB levels (2, 3). These findings support the hypothesis that exercise is a useful agent to promote neurotrophin-dependent hippocampal flexibility because the binding of neurotrophins, especially BDNF, to its specific receptor, TrkB, is the main signaling pathway of the synaptic plasticity process in the hippocampus. In general, aerobic exercise seems to help improve spatial memory by activating the hippocampal TrkB- PKC-AKT signaling pathway in an animal model of AD.

Article Message

Aerobic exercise improves spatial memory through activating the AKT-PKC-TrkB signaling pathway.

Keywords: Alzheimer's Disease, TrkB, PKC, AKT, Aerobic Training

References

1. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. European Journal of Neuroscience. 2004;20(10):2580-90.
2. Liu YF, Chen Hi, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. The Journal of physiology. 2009;587(13):3221-31.
3. Hosseini SE, Mojtahedi S, Kordi MR, Shabkhiz F, Fallah Omran S. Effect of short term and light forced treadmill running on BDNF and TrkB in the hippocampus of adult wistar male rats. Razi Journal of Medical Sciences. 2012;19(101):61-7.

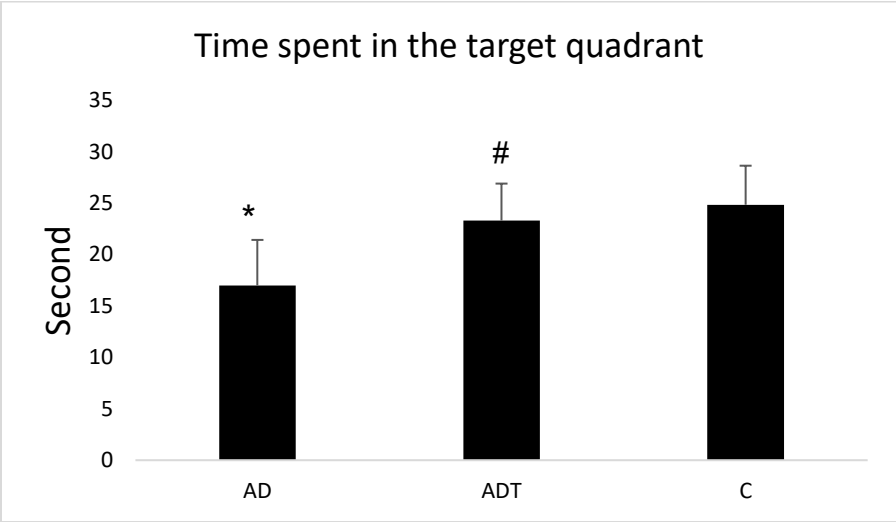


Figure 1. Effect of Treadmill Exercise on the Time Spent in the Target Quadrant in the Probe trial The Exercising $A\beta_{1-42}$-Treated Rats Spent More Time in the Target Quadrant Than the AD Ones ($P < 0.05$).

فیزیولوژی ورزشی دوره ۱۳ ، شماره ۵۰ ،تابستان ۱۴۰۰ .صص ۵۸-۳۹

مقالهٔ پژوهشی

تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر سطوح Trk-B، PKC و AKT در هیپوکمپ رت‌های نر مبتلا به بیماری آلزایمر

اصلان خدامرادی[1]، محمدرضا کردی[2]، رضا نوری[3]

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی پردیس بین المللی دانشگاه تهران واحد کیش
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران (نویسنده مسئول)
۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی پردیس بین المللی دانشگاه تهران واحد کیش

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

چکیده

بیماری آلزایمر یک بیماری پیش‌روندهٔ اختلال عصبی است. واکنش‌های تخریبی ناشی از آمیلوئید بتا در CNS به بروز اختلال در عوامل رشد عصبی منجر می‌شود که ممکن است به نوبهٔ خود فرایند بیماری‌زایی آمیلوئید را تسهیل کند. به‌تازگی به آثار ورزش بر این عوامل توجه شده است؛ بااین‌حال درک چگونگی اثر آن به بررسی بیشتر نیاز دارد؛ بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تمرین هوازی بر سطوح گیرندهٔ تیروزین کیناز B (Trk-B)، پروتئین کیناز C (PKC) و پروتئین کیناز B (AKT) در هیپوکمپ رت‌های نر نژاد ویستار به‌دنبال القای آلزایمر انجام شد. در این مطالعهٔ تجربی ۳۶ سر رت نر بالغ هشت‌هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۰ ± ۱۹۵ گرم به‌صورت تصادفی به سه گروه دوازده‌تایی آلزایمر، آلزایمر + ورزش و کنترل تقسیم شدند. القای بیماری آلزایمر از طریق تزریق درون‌هیپوکمپی $A\beta_{1-42}$ انجام شد. تمرین هوازی به‌مدت چهار هفته و پنج جلسه در هفته انجام شد. بیست‌وچهار ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، یا از حیوانات آزمون رفتاری گرفته شد یا کشته شدند و هیپوکمپ آن‌ها به‌منظور انجام‌شدن آزمایش‌های بعدی استخراج شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد رت‌های گروه تمرین هوازی به‌طور معناداری مدت زمان بیشتری را در ربع دایرهٔ هدف در مقایسه با گروه مبتلا به آلزایمر در آزمون پروب سپری کردند ($P < 0.05$). همچنین سطوح Trk-B، PKC و AKT به‌دنبال تزریق Aβ1-42 کاهش یافت ($P < 0.001$). تمرین هوازی موجب افزایش سطوح Trk-B، PKC و AKT در مقایسه با رت‌های مبتلا به آلزایمر شد ($P < 0.05$)؛ بنابراین به نظر می‌رسد تمرین هوازی از طریق فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی TrkB-PKC-AKT به بهبود حافظهٔ فضایی کمک کند.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، Trk-B، PKC، AKT، تمرین هوازی.

1. Email: aslankhodamoradi@gmail.com
2. Email: mrkordi@ut.ac.ir
3. Email: nuri_r7@ut.ac.ir

مقدمه

در انسان‌ها پیری یک عامل خطر برای بسیاری از اوضاع از جمله بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت و زوال عقل است که یکپارچگی بدن و مغز را به خطر می‌اندازد (۱). بیماری آلزایمر شایع‌ترین علت زوال عقل در میان افراد مسن است و به‌وسیلهٔ کوچک‌شدن نواحی مشخصی از مغز، کاهش ادراک پیش‌رونده و ازدست‌دادن حافظه و ناتوانی در انجام‌دادن کارهای روزمره مشخص می‌شود (۱). شاخصه‌های اصلی بیماری آلزایمر شامل تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی خارج‌سلولی متشکل از رسوب پروتئین آمیلوئید بتا[1] (Aβ) در خارج سلول و رشته‌های درهم‌تنیدهٔ داخل‌نورونی متشکل از رشته‌های حاوی شکل فسفریلهٔ پروتئین میکروتوبولی تائو (Tau) است. این عوامل به بروز اختلال در عملکرد نورونی و اختلال در انعطاف‌پذیری سیناپسی منجر می‌شوند (۲).

بررسی‌ها نشان داده‌اند چندین سیستم سلولی و مولکولی برای حفظ انعطاف‌پذیری و عملکرد نورونی مهم هستند که از آن جمله می‌توان به نوروتروفین‌ها اشاره کرد که تأثیرات خود را از طریق دو دسته گیرنده اعمال می‌کنند: گیرندهٔ نوروتروفین P75 و خانوادهٔ گیرنده‌های تیروزین کیناز[2] (Trk) (۳). در سال‌های اخیر، مولکول‌های Trk توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند؛ چراکه در بسیاری از فرایندهای بیولوژیک دخالت دارند. همهٔ نوروتروفین‌ها می‌توانند به گیرندهٔ P75 متصل شوند و آن را فعال کنند، اما گیرنده‌های Trk دارای اولویت‌هایی‌اند و به‌صورت ویژه-لیگاند عمل می‌کنند؛ به این ترتیب که تیروزین کیناز A (TrkA) برای فاکتور رشد عصبی، تیروزین کیناز B (TrkB) برای عامل رشد عصبی مشتق‌شده از مغز (BDNF)، نوروتروفین-سه و نوروتروفین-۴چهار، تیروزین کیناز C (TrkC) برای نوروتروفین-سه عمل می‌کنند (۴).

مشخص شده است که ازبین‌رفتن یا اختلال در مسیر پیام‌رسانی TrkB در بیماری‌های آلزایمر، هانیگتون و سایر بیماری‌های تخریب نورونی نقش عمده‌ای دارد و احتمالاً یک ژن در بیماری آلزایمر باعث بروز چنین اختلالی می‌شود (۵). نوروتروفین‌ها می‌توانند ابزاری به‌منظور اعمال اثرات مفید ورزش بر مغز قلمداد شوند. شواهد نشان می‌دهند که تغییرات در پیام‌رسانی TrkB برای اثرگذاری ورزش بر انعطاف‌پذیری هیپوکامپی ضروری است و می‌تواند انعطاف‌پذیری و انتقال سیناپسی را تعدیل کند؛ چراکه بلوک‌کردن این مسیر پیام‌رسانی حافظه و یادگیری ناشی از ورزش را در جوندگان مهار می‌کند (۶). در همین راستا لین[3] و همکاران (۷) گزارش کردند که ۱۰ هفته تمرین تردمیل در موش‌های ترنسژنیک چهارماهه که هنوز پلاک آمیلوئیدی تشکیل نشده است، سطوح p-

1. Amyloid Beta
2. Tyrosine Receptor Kinase
3. Lin

TrkB، پروتئین کیناز C[1] (PKC) و پروتئین کیناز B[2] (AKT) را در هیپوکمپ و آمیگدال افزایش داد و سطوح Aβ محلول را در هیپوکمپ و آمیگدال کاهش داد؛ بااین‌حال، هنوز در مطالعه‌ای تأثیر تمرین ورزشی بر این مولکول‌ها بعد از تشکیل پلاک و توسعهٔ علائم بیماری آلزایمر اندازه‌گیری نشده است. همچنین کلینتسوا[3] و همکاران (۸) به بررسی تغییرات بیان عامل رشد عصبی مشتق از مغز (BDNF) و TrkB در پاسخ به فعالیت ورزشی پیچیده و با شدت متوسط پرداختند. آن‌ها میزان BDNF و TrkB را در زمان‌های یک، سه، پنج، هفت و ۱۴ روز پس از شرایط تمرینی مختلف ارزیابی کردند. تغییرات پروتئین TrkB در هفت روز اول مشابه با BDNF بود، ولی پس از آن بیان این عامل به سطوح کنترل بازگشت. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در زمینهٔ پیام‌رسانی BDNF/TrkB هنوز درک درستی از نقش محوری این شبکه در بسیاری از فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در بافت‌های عصبی و غیرعصبی و همچنین مشارکت آن در طیف وسیعی از بیماری‌ها وجود ندارد و اطلاعات حاضر برای تغییر و دستکاری در اجزای خاصی از این شبکه به‌منظور به‌کارگیری در کاربردهای درمانی بسیار محدود است (۹).

به نظر می‌رسد فعالیت جسمانی در غیاب درمان قطعی روش معقولی برای به‌تأخیرانداختن توسعهٔ علائم بیماری آلزایمر است. از سوی دیگر نقش‌های بالقوهٔ عوامل رشدی و نیز کمبود مطالعات این‌چنینی دربارهٔ پیام‌رسانی‌های درون‌سلولی ایجادشده توسط مسیر پیام‌رسانی TrkB-PKC-AKT وجود دارد. همچنین تاکنون مطالعه‌ای دربارهٔ تمرین ورزشی پس از توسعهٔ پلاک‌های آمیلوئیدی انجام نشده است؛ بنابراین در مطالعهٔ حاضر به بررسی تغییرات این مسیر پیام‌رسانی پس از القای بیماری آلزایمر در رت‌های نر ویستار پرداخته می‌شود.

روش پژوهش

تعداد ۳۶ رت نر نژاد ویستار در سن هشت‌هفتگی با میانگین وزنی ۲۰ ± ۱۹۵ گرم از مؤسسهٔ انستیتو پاستور تهیه شدند. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات بخش فیزیولوژی و فارموکولوژی مؤسسهٔ یادشده در شرایط کنترل‌شدهٔ نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی شش صبح و شروع خاموشی شش عصر) دما (۳ ± ۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. سه تا پنج سر رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ × ۲۷ × ۴۳ سانتی متر به‌گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. رت‌ها

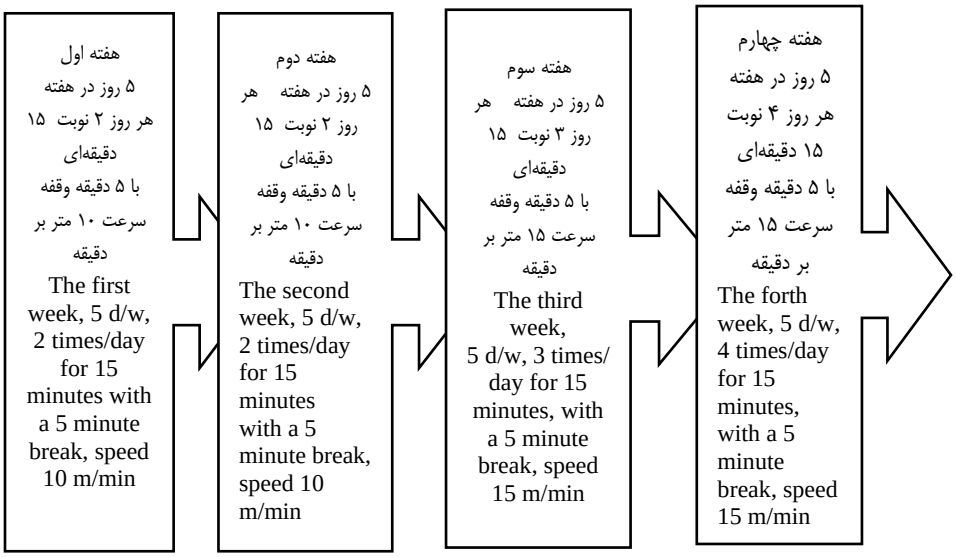
1. Protein Kinase C
2. Protein Kinase B
3. Klintsova

پس از یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری، به‌منظور آشناسازی با نوارگردان به‌مدت یک هفته درمعرض آن قرار گرفتند (۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و پنج روز در هفته). سپس رت‌ها به روش تصادفی ساده به سه گروه تقسیم شدند: گروه اول- این گروه شامل ۱۲ سر رت دَه‌هفته‌ای بود که در آن‌ها القای بیماری آلزایمر صورت پذیرفت (گروه AD)؛ گروه دوم- این گروه شامل ۱۲ سر رت دَه‌هفته‌ای بود که به‌دنبال القای بیماری آلزایمر و هفت روز بازیافت، به‌مدت چهار هفته تمرین هوازی را انجام دادند (گروه ADT)؛ گروه سوم- این گروه شامل ۱۲ سر رت دَه‌هفته‌ای بود که به‌عنوان گروه کنترل در هیچ‌گونه فعالیتی شرکت نکرد، ولی در محیط مشابه با گروه تمرین درمعرض نوارگردان قرار گرفتند تا شرایط آزمایشگاهی برای هر دو گروه یکسان باشد (گروه C). لازم است ذکر شود تمامی مراحل نگهداری و کشتار رت‌ها براساس ضوابط کمیتهٔ اخلاقی حیوانات دانشگاه تربیت‌مدرس انجام شد.

برای آماده‌سازی آمیلوئیدبتا، ابتدا پپتید $A\beta_{1\text{-}42}$ (Abcam, USA) در محلول بافر DMSO سه درصد (Sigma Aldrich, USA) با غلظت پنج میکروگرم/میکرولیتر حل شد و سپس در مقادیر ۳۰ میکرولیتر به‌ازای هر ویال تقسیم و در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول آمیلوئیدبتا به‌مدت هفت روز در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد تا بتاآمیلوئید به شکل فیبریل درآید (۱۰). پس از استراحت شبانه، حیوانات توسط تزریق داخل‌صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس سر حیوانات در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و با ایجاد شکافی طولی در بخش خلفی جمجمه، براساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۸)، حفره‌هایی در موقعیت ۳/۸ عقب برگما (AP)، ۲/۲ میلی‌متر در دوطرف شکاف طولی و ۲/۷ میلی‌متر پایین‌تر از سطح جمجمه ایجاد شدند و تزریق درون هیپوکمپ $A\beta_{1\text{-}42}$ (هر طرف یک میکرولیتر) توسط سرنگ همیلتون صورت گرفت. برای اطمینان از محل درست تزریق در مغز به دو تا از رت‌ها رنگ تزریق شد و پس از کشتار محل تزریق زیر میکروسکوپ بررسی شد.

هفت روز بعد از تزریق $A\beta_{1\text{-}42}$ و القای بیماری آلزایمر (۱۲، ۱۱)، رت‌ها روی نوارگردان با شیب صفر درجه به‌مدت چهار هفته (پنج روز در هفته) به تمرین پرداختند. رت‌ها در هفته‌های اول و دوم با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفهٔ پنج‌دقیقه‌ای (به‌منظور جلوگیری از خستگی عضلانی در رت‌ها) روی نوارگردان شروع به دویدن کردند. در هفتهٔ سوم رت‌ها تمرینات را با افزایش شدت و زمان فعالیت، با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای و وقفهٔ پنج‌دقیقه‌ای ادامه دادند. در هفتهٔ چهارم رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفهٔ پنج‌دقیقه‌ای به فعالیت پرداختند (شکل شمارهٔ یک) (۱۴، ۱۳). رت‌های گروه تمرین هوازی در تمام جلسات تمرینی پایش شدند و با استفاده از یک شوک الکتریکی ضعیف

(شدت ۰/۵ میلی‌آمپر) که در حیوان ایجاد استرس زیادی نمی‌کند و دستکاری با یک اسفنج، به ادامهٔ دویدن تشویق شدند.



شکل ۱- پروتکل تمرین هوازی
Figure 1. Aerobic Training Protocol

بیست‌وچهار ساعت بعد از آخرین جلسهٔ تمرینی یا از حیوانات آزمون رفتاری گرفته شد (تعداد = هفت رت از هر گروه) یا کشته شدند (تعداد = پنج رت از هر گروه).

برای آزمون حافظهٔ فضایی از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. دستگاه رفتاری شامل یک مخزن فلزی حلقوی با دیوارهٔ مشکی به قطر ۱/۵ و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر بود که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری آن از آب ۲ ± ۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد پر شده بود. یک سکوی مدور به قطر ۱۰ و ارتفاع ۲۸ سانتی‌متر، حدود دو سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز یکی از ربع دایره‌های از پیش تعیین‌شده قرار داده شد. آزمایش‌کننده، رایانه و شکل‌های راهنمای خارج از ماز در سراسر آزمایش ثابت بودند. حرکت و رفتار حیوان با نرم‌افزار Etho Vision 7 و یک دوربین که در بالای مخزن قرار گرفت، ردیابی و ثبت شد. یک روز بعد از آخرین روز یادگیری (به‌مدت چهار روز متوالی و هر روز چهار کارآزمایی جداگانه برای یافتن سکوی پنهان که در وسط ربع سوم قرار داشت)، حافظهٔ فضایی حیوانات ارزیابی شد. در این مرحله رت‌ها در یک آزمون ۶۰ ثانیه‌ای که در طی آن سکو از داخل

آب برداشته می‌شد، ارزیابی شدند و مدت زمان صرف‌شده در ربع دایرهٔ هدف که قبلاً سکو در آن قرار داشت، اندازه‌گیری شد (۱۰).

رت‌های گروه کشتار با تزریق درون‌صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس هیپوکمپ به‌سرعت استخراج شد و در نیتروژن ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به یخچال ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شد. حدود ۱۰۰ میلی‌گرم بافت هیپوکمپ با روش هاون‌کوبی پودر شد و برای استخراج total RNA در یک میلی‌لیترIsol RNA-Lysis reagent هموژن شد. به‌منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول حاصل در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته شد و به‌مدت پنج دقیقه در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نگهداری شد. سپس با نسبت یک به پنج کلروفرم با Isol اولیه مخلوط شد و به‌مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول به‌مدت دو تا سه دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میکروتیوب در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و بخش‌های معدنی و آبی از هم جدا شدند. بخش محتوی RNA برداشته و با نسبت یک به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها شد. سپس در چهار درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پلیت حاوی RNA در اتانول شست‌وشو شد و در ۳۰ µl آب RNase-Free حل شد. تمام مراحل استخراج در زیر هود و با مواد و وسائل کاملاً استریل انجام گرفت. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده شد و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲/۱ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف شد. برای اطمینان بیشتر از صحت تخلیص RNA تعدادی از RNAهای تخلیص‌شده به‌طور تصادفی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و مشاهدهٔ باندهای RNAهای ریبوزومی 18S و 28S به‌طور منفک صحت تخلیص را تأیید کرد. سنتز cDNA به‌وسیلهٔ PrimeScriptTM RT reagent Kit (Perfect Real Time) شرکت TaKaRa (شمارهٔ کاتالوگ #RR037A) و مطابق با دستورالعمل کیت، سنتز cDNA انجام شد. تمام مراحل کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase free انجام شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن با استفاده از روش Real time-PCR در ابتدای کار میزان غلظت بهینهٔ cDNA و همچنین پرایمرهای مربوط به هر ژن با استفاده از آزمایش سریال غلظت برای هرکدام به‌طور جداگانه مشخص شد؛ به‌طوری‌که کمترین میزان دایمر و بهترین C_t مشاهده شود. Real time-PCR با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green شرکت AMPLIQON و با استفاده از غلظت ۲۵۰ نانوگرم از cDNA انجام گرفت. طراحی پرایمرها براساس اطلاعات ژن‌های Trk-B، PKC و AKT در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت پیش‌گام ایران انجام شد. توالی پرایمرهای مربوط به متغیرهای

مطالعه‌شده در جدول شمارهٔ یک گزارش شده است. برنامهٔ Real time-PCR شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه و واسرشت در هر سیکل PCR در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه بود و با توجه به دمای انلینگ پرایمر هر سیکل به‌مدت ۳۰ ثانیه (۴۰ سیکل) در نظر گرفته شد. از ژن گلیسرآلدهید-سه-فسفات دهیدروژناز[1] (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل استفاده شد و میزان بیان ژن مدنظر با فرمول $2^{-\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- توالی پرایمرها

Table 1. Sequence of primers

ژن Gene	Forward primer 5´-3´	Reverse primer 5´-3´
Trk-B	CACACACAGGGCTCCTTA	AGTGGTGGTCTGAGGTTGG
PKC	ACTTCATCTGGGGCATTGGA	TGGACACACGAAGGTCACAA
AKT	CCCTTCCTTACAGCCCTCAAG	ACACAATCTCCGCACCGTAG
GAPDH	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	CATACTCAGCACCAGCATCACC

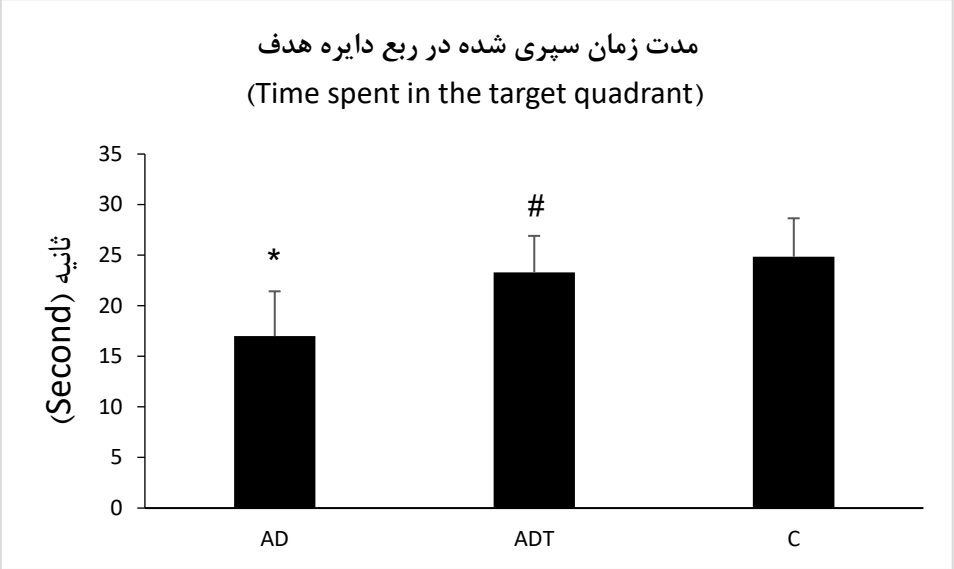
داده‌ها با استفاد از نرم‌فزار اس.پی.اس.اس.[2] و برنامهٔ اکسل تجزیه و تحلیل شدند؛ به‌طوری‌که از مقادیر گرایش مرکزی و پراکندگی (میانگین و انحراف استاندارد) و همچنین ترسیم گراف برای برآورد آمار توصیفی پژوهش استفاده شد. برای بررسی طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف[3] استفاده شد. سپس از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای برآورد تفاوت‌های بین‌گروهی استفاده شد. سطح معناداری $P \leq 0.05$ نیز به‌عنوان معیار تصمیم‌گیری برای رد یا قبول فرضیه‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج آزمون پروب برای بررسی حافظهٔ فضایی رت‌ها نشان داد که زمان صرف‌شده در ربع دایرهٔ هدف برای گروه‌های مختلف به‌طور معنادار متفاوت بود ($F = 7.620$ ،$P = 0.004$ ،$EF = 0.86$). زمان سپری‌شده در ربع دایرهٔ هدف در گروه AD به‌طور معنادار کمتر از گروه کنترل بود ($0.05 \leq$

1. Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
2. SPSS
3. Kolmogorov-Smirnov Test (K-S)

P). همچنین گروه ADT در مقایسه با گروه AD به‌طور معنادار عملکرد بهتری داشتند (0.025 = P) (شکل شمارهٔ دو).



شکل ۲- زمان سپری‌شده در ربع دایرهٔ هدف در گروه‌های مورد مطالعه در آزمون پروب

*: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($P < 0.01$)

#: تفاوت معنادار با گروه AD ($P < 0.05$)

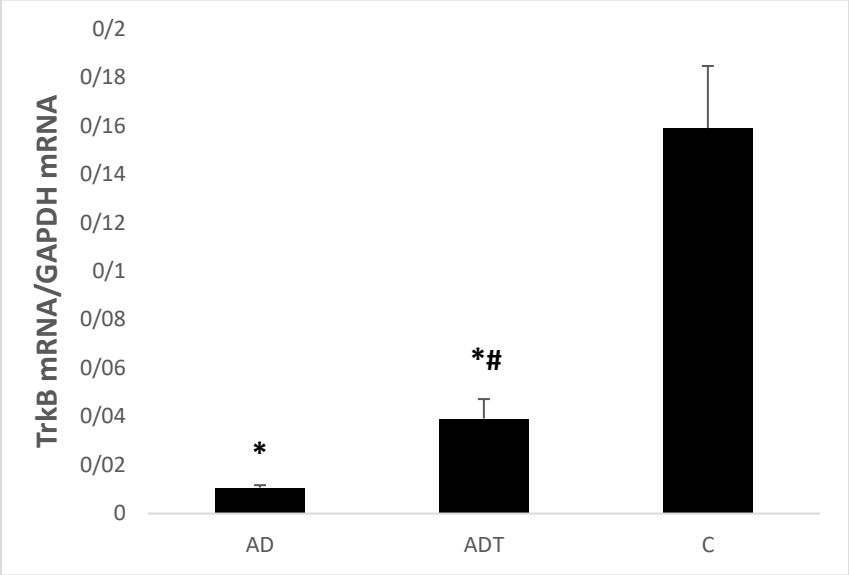
Figure 2 - Time Spent in the Target Quadrant in the Study Groups in the Probe Test

*: Significant Difference with Control Group (P <0.01)

#: Significant Difference with AD Group (P <0.05)

نتایج آزمون آنوای یک‌راهه نشان داد که بین میانگین سطوح TrkB در سه گروه AD، ADT و C تفاوت معنادار وجود داشت ($F(2,12) = 127.914, P < 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی[1] نشان داد که بین میانگین سطوح TrkB هیپوکمپ در گروه‌های AD و ADT با گروه C ($P < 0.001$) و همچنین گروه ADT با گروه AD تفاوت معنادار وجود داشت ($P < 0.05$) (شکل شمارهٔ سه).

1. Bonferroni Post Hoc Test



شکل ۳- تغییرات بیان ژن TrkB در گروه‌های مورد مطالعه

*: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($P < 0.001$)

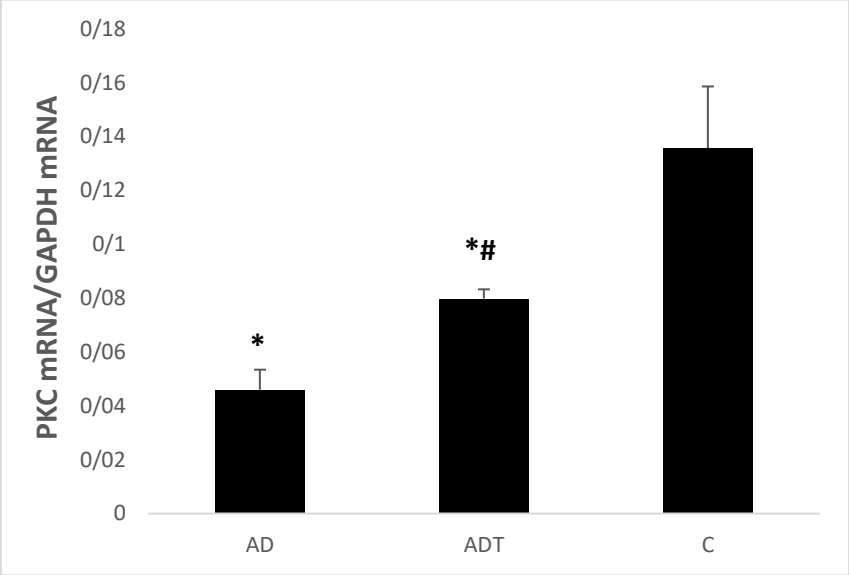
#: تفاوت معنادار با گروه AD ($P < 0.05$)

Figure 3 - TrkB Gene Expression Changes in the Study Groups

*: Significant Difference with Control Group (P <0.001)

#: Significant Difference with AD Group (P <0.05)

نتایج آزمون آنوای یک‌راهه نشان داد بین میانگین سطوح PKC در سه گروه AD، ADT و C تفاوت معنادار وجود داشت ($F(2,12) = 520.014$ ،$P < 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد بین میانگین سطوح PKC هیپوکمپ در گروه‌های AD و ADT با گروه C ($P < 0.001$) و همچنین گروه ADT با گروه AD تفاوت معنادار وجود داشت ($P < 0.01$) (شکل شمارهٔ چهار).



شکل ۴- تغییرات بیان ژن PKC در گروه‌های مورد مطالعه

*: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($P < 0.001$)

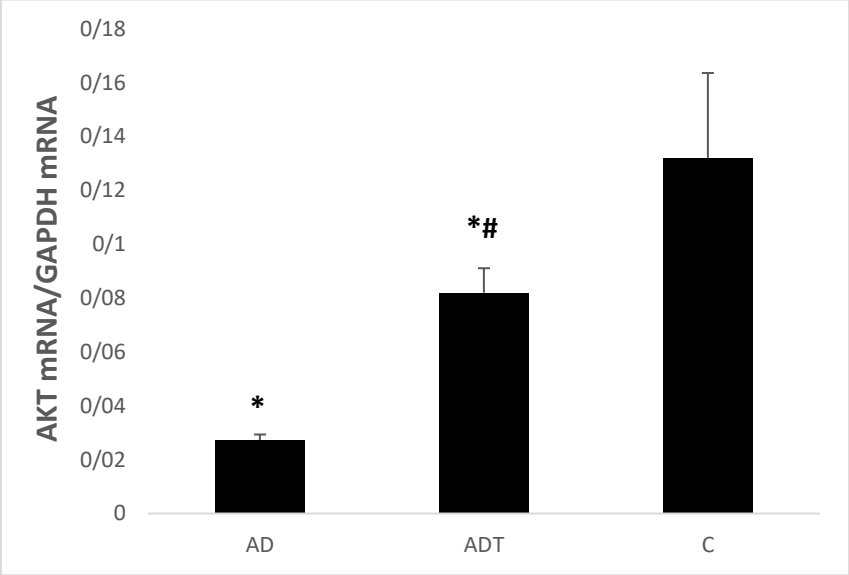
#: تفاوت معنادار با گروه AD ($P < 0.01$)

Figure 4 - PKC Gene Expression Changes in the Study Groups

*: Significant Difference with Control Group (P <0.001)

#: Significant Difference with AD Group (P <0.01)

نتایج آزمون آنوای یک‌راهه نشان داد بین میانگین سطوح AKT در سه گروه AD، ADT و C تفاوت معنادار وجود داشت ($F_{(2,12)} = 38.139$، $P < 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد بین میانگین سطوح AKT هیپوکمپ در گروه‌های AD و ADT با گروه C (به‌ترتیب $P < 0.001$ و $P < 0.01$) و همچنین گروه ADT با گروه AD تفاوت معنادار وجود داشت ($P < 0.001$) (شکل شمارهٔ پنج).



شکل ۵- تغییرات بیان ژن AKT در گروه‌های مورد مطالعه

*: تفاوت معنادار با گروه کنترل ($P < 0.01$)

#: تفاوت معنادار با گروه AD ($P < 0.01$)

Figure 5 - AKT Gene Expression Changes in the Study Groups

*: Significant Difference with Control Group (P <0.01)

#: Significant Difference with AD Group (P <0.01)

بحث و نتیجه‌گیری

آلزایمر یک بیماری پیش‌روندهٔ اختلال عصبی است که با کاهش نورونی و پلاک‌های پیری خارج سلولی مشخص می‌شود و به نقص در حافظه منجر می‌شود (۱۶، ۱۵). مطالعات پیشنهاد می‌کنند که آلزایمر با یک آبشار بیماری‌زایی ثابت مرتبط است که با تجمع آمیلوئید بتا شروع می‌شود (۱۷). بررسی‌ها نشان داده‌اند چندین دستگاه سلولی و مولکولی برای حفظ شکل‌پذیری و عملکرد نورونی مهم‌اند؛ از جمله نوروتروفین‌ها که آثارشان را از طریق دو دسته گیرنده اعمال می‌کنند: گیرندهٔ نوروتروفین P75 و خانوادهٔ گیرنده‌های تیروزین کیناز (۳). مطالعهٔ حاضر جزو معدود مطالعاتی است که ارتباط بین TrkB را پس از القای بیماری الزایمر بررسی کرده است. نتایج نشان داد یک دوره تمرین هوازی چهار هفته‌ای به افزایش معنادار در مسیر پیام‌رسانی TrkB-PKC-AKT در حیوانات مبتلا به بیماری آلزایمر در مقایسه با گروه AD منجر شد. این یافته‌ها از این فرض که تمرین ورزشی برای اشاعهٔ انعطاف‌پذیری هیپوکامپی وابسته به پیام‌رسانی نوروتروفین‌ها مفید است، حمایت می‌کنند؛ زیرا اتصال نوروتروفین‌ها به‌ویژه BDNF با گیرندهٔ اختصاصی آن یعنی TrkB اصلی‌ترین

مسیر پیام‌رسانی فرایند شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکامپ است. درواقع سه مسیر پیام‌رسانی اصلی وجود دارد که به‌دنبال باندشدن BDNF با TrkB فعال می‌شوند: مسیر MAP کیناز، مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول سه کیناز (PI3K)و مسیر فسفولیپاز C گاما (γ-PLC). هر سه مسیر پس از باندشدن لیگاند با گیرنده فعال می‌شوند و درنهایت به تکثیر، تمایز و بقای نورونی منجر می‌شوند. در این بین نقش مسیر سوم به‌دلیل درگیری دو عامل PKC و کلسیم از آن حیث که ورزش نقش مهمی در هموستاز کلسیم ایفا می‌کند، می‌تواند دارای اهمیت بیشتری باشد (۳). فعال‌سازی γ-PLC به راه‌اندازی پیام‌های وابسته به IP3 و دی آسیل گلیسرول (DAG) منجر می‌شود. IP3 موجب رهاکردن سریع کلسیم از ذخایر درون‌سلولی می‌شود و DAG، PKC را فعال می‌کند و به ازدیاد حساسیت دستگاه انقباضی و رهایش کلسیم و در پی آن رخدادهای درون‌سلولی نظیر تکثیر و مهاجرت در عضلات منجر می‌شود، اما آنچه در سلول‌های عصبی اهمیت دارد، همان مسیر IP3 است که علاوه‌بر تکثیر، تمایز و بقای سلول‌های عصبی به‌ویژه در هیپوکمپ به تقویت حافظهٔ درازمدت و افزایش نقل و انتقالات سیناپسی نیز منجر می‌شود (۱۹، ۱۸).

همسو با یافته‌های مطالعهٔ حاضر، مطالعات پیشین نیز نشان دادند تمرین هوازی می‌تواند سطوح BDNF و TrkB را افزایش دهد (۲۱، ۲۰). در همین راستا گومز[1] و همکاران (۲۲) به بررسی مکانیزم اثر ورزش و نوروتروفین‌ها بر شکل‌پذیری نورون پرداختند. در پژوهش آن‌ها رت‌ها به دو گروه سه روز تمرین و هفت روز تمرین در هفته تقسیم شدند. نتایج نشان داد فعالیت ورزشی باعث افزایش میزان BDNF و گیرندهٔ TrkB، سیناپسین یک (در سطح mRNA و پروتئین)، GAP-43 و CREB در نخاع شد. همچنین لین و همکاران (۷) گزارش کردند که ۱۰ هفته تمرین تردمیل در موش‌های ترنسژنیک APPswe/PS1dE9 چهارماهه (یعنی قبل از رسوب پلاک‌های آمیلوئیدی) حافظه و شبکه‌های دندریتی مرتبط با هیپوکمپ نورون‌های CA1 و CA3 را افزایش داد و همچنین حافظه و شبکه‌های دندریتی مرتبط با آمیگدال نورون‌های آمیگدالی را بازگرداند. به‌علاوه، تمرین ورزشی سطوح p-TrkB، p-Akt و p-PKC را در هیپوکمپ و آمیگدال افزایش داد و سطوح Aβ محلول را در هیپوکمپ و آمیگدال کاهش داد؛ بنابراین با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر بعد از القای بیماری آلزایمر و توسعهٔ پلاک‌های آمیلوئیدی، به نظر می‌رسد ورزش درازمدت از نورون‌های هیپوکمپ و آمیگدال در برابر انحطاط محافظت می‌کند. این امر احتمالاً از طریق مسیرهای پیام‌رسانی BDNF، مسیرهای پایین‌دست آن و پاک‌سازی Aβ رخ می‌دهد؛ ازاین‌رو فعالیت جسمانی می‌تواند به‌عنوان ابزاری برای به‌تأخیرانداختن شروع AD در نظر گرفته شود. در مطالعه‌ای دیگر نیز کلینتسوا و همکاران (۲۳) به بررسی تغییرات بیان BDNF و TrkB در پاسخ به فعالیت ورزشی

1. Gómez

پیچیده و با شدت متوسط پرداختند. نتایج نشان داد تمرینات مختلف نتایج متفاوتی را در بیان BDNF و گیرندۀ آن ارائه می‌دهند و ممکن است که باعث تغییرات متفاوت شکل‌پذیری سیناپسی در شرایط مختلف شود.

در این مطالعه اثر پیش‌آماده‌سازی بر تغییرات TrkB بررسی نشد، اما به‌تازگی چندین مطالعه به نقش پیش‌آماده‌سازی ورزشی بر آثار ناشی از تزریق Aβ پرداخته‌اند. دائو[1] و همکاران (۱۳) نشان دادند چهار هفته فعالیت تردمیل با شدت متوسط از نقص سیناپسی شکنج دندانه‌ای[2] و تغییرات آسیب‌رسان در مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با AD که در اثر تزریق Aβ1–42 حاصل می‌شود، جلوگیری می‌کند. در مطالعه‌ای دیگر چاعه[3] و همکاران (۲۴) تأثیر شش هفته تمرین منظم دویدن روی تردمیل را بر مقادیر NGF، گیرندۀ تیروزین کیناز، گیرندۀ p75، کاسپاز سه، پروتئین کیناز فعال‌شونده با میتوژن و چندین فاکتور دیگر را در رت‌های نژاد اسپراگ دالی سنجیدند. در انتها افزایش معناداری در مقادیر NGF و TrkA در شکنج دندانه‌دار هیپوکمپ رت‌های گروه ورزش نرمال و ورزش دیابتی مشاهده شد؛ بنابراین با توجه به گزارش‌های مطالعات پیشین و نتایج مطالعۀ حاضر می‌توان بیان کرد یکی از سازوکارهای درگیر در بهبود انعطاف‌پذیری هیپوکامپی درپی تمرینات ورزشی ممکن است تغییرات مثبت TrkB باشد؛ چراکه فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی BDNF عملکردهای سلولی از جمله رشد، تکثیر، تمایز و بقا را تحریک می‌کند (۲۰، ۶). هیپوکمپ فعال‌ترین ناحیۀ مغز در راستای ترمیم و بازسازی مغز است و تحت‌تأثیر مستقیم و درخور توجه ورزش قرار می‌گیرد. در حال حاضر بیماری‌های تحلیل‌برندۀ اعصاب مانند آلزایمر، پارکینسون، مالتیپل اسکلروزیس و ضایعات نخاعی بخش عمده‌ای از بیماری‌هایی هستند که جوامع پیشرفته و درحال‌رشد با آن درگیرند. این قبیل بیماری‌ها هزینه‌های درمانی زیادی برای کشورها دارند و بیماران زیادی از این بیماری‌ها رنج می‌برند (۲۵) و با وجود تمام پیشرفت‌های حاصل‌شده هنوز درمان درخور توجهی برای اغلب آن‌ها وجود ندارد (۲۶). در بسیاری از این بیماری‌ها اغلب سعی بر این است از طریق تحریک سیستم بازسازی ذخیرۀ سلول‌های بنیادی در بافت آسیب‌دیده با محرک‌های محیطی از قبیل ورزش و دارو بتوان زمینۀ رشد و بازسازی بافت آسیب‌دیده را فراهم آورد. ورزش باعث بهبود قوای شناختی، یادگیری، ترشح عوامل نوروتروفیک، تکثیر سلول‌های بنیادی در مراکز دینامیک مغزی، تغییرات ساختاری مغز و درنهایت رشد و بازسازی نواحی از مغز می‌شود (۲۷). نتیجۀ نهایی تمام این تغییرات می‌تواند با عوامل رشدی مورد نیاز در فرایند بازسازی، شکل درمانی به خود بگیرد. در هر حال هنوز سؤالاتی بی‌پاسخ در این زمینه باقی مانده است که

1. Dao
2. Dentate Gyrus
3. Chae

پیـشنهاد می‌شود پژوهشگران در مطالعات آینده بررسی کنند؛ برای مثال در این مطالعه نشان داده شد که تمرین هوازی پس از القای بیماری آلزایمر مسیر پیام‌رسانی TrkB-PKC-AKT را در هیپوکامپ افزایش می‌دهد، اما هنوز سازوکار بیولـوژیک این افزایش کاملاً مشخص نیست؛ بنابراین به انجام‌دادن پژوهش‌های بیشتری در راستای شناخت این مفاهیم نیاز است.

پیام مقاله

تمرین هوازی از طریق فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی AKT-PKC- TrkB به بهبود حافظهٔ فضایی کمک می‌کند.

منابع

1. Rolland Y, van Kan GA, Vellas B. Healthy brain aging: role of exercise and physical activity. Clinics in geriatric medicine. 2010;26(1):75-87.
2. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung Y-C, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1986;83(13):4913-7.
3. Klein R, Lamballe F, Bryant S, Barbacid M. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for neurotrophin-4. Neuron. 1992;8(5):947-56.
4. Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 2006;361(1473):1545-64.
5. Chen Z, Simmons MS, Perry RT, Wiener HW, Harrell LE, Go RC. Genetic association of neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2 (NTRK2) with Alzheimer's disease. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics. 2008;147(3):363-9.
6. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. European Journal of Neuroscience. 2004;20(10):2580-90.
7. 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. Neurobiology of learning and memory. 2015; 118:189-97.
8. Klintsova AY, Dickson E, Yoshida R, Greenough WT. Altered expression of BDNF and its high-affinity receptor TrkB in response to complex motor learning and moderate exercise. Brain research. 2004;1028(1):92-104.
9. Gupta VK, You Y, Gupta VB, Klistorner A, Graham SL. TrkB receptor signalling: implications in neurodegenerative, psychiatric and proliferative disorders. International journal of molecular sciences. 2013;14(5):10122-42.

10. Khorshidahmad T, Tabrizian K, Vakilzadeh G, Nikbin P, Moradi S, Hosseini-Sharifabad A, et al. Interactive effects of a protein kinase AII inhibitor and testosterone on spatial learning in the Morris water maze. Behavioural brain research. 2012;228(2):432-9.
11. Prakash A, Medhi B, Chopra K. Granulocyte colony stimulating factor (GCSF) improves memory and neurobehavior in an amyloid-β induced experimental model of Alzheimer's disease. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2013;110:46-57.
12. Stephan A, Laroche S, Davis S. Generation of aggregated β-amyloid in the rat hippocampus impairs synaptic transmission and plasticity and causes memory deficits. Journal of Neuroscience. 2001;21(15):5703-14.
13. 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. Molecular neurobiology. 2015;52(3):1067-76.
14. Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. Neurobiology of disease. 2012;45(3):1153-62.
15. Jan A, Hartley DM, Lashuel HA. Preparation and characterization of toxic Aβ aggregates for structural and functional studies in Alzheimer's disease research. Nature protocols. 2010;5(6):1186-209.
16. Zhang J, Guo J, Zhao X, Chen Z, Wang G, Liu A, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil prevents neuroinflammation, lowers beta-amyloid levels and improves cognitive performance in APP/PS1 transgenic mice. Behavioural brain research. 2013; 250:230-7.
17. Puzzo D, Sapienza S, Arancio O, Palmeri A. Role of phosphodiesterase 5 in synaptic plasticity and memory. Neuropsychiatric disease and treatment. 2008;4(2):371.
18. Bariohay B, Lebrun B, Moyse E, Jean A. Brain-derived neurotrophic factor plays a role as an anorexigenic factor in the dorsal vagal complex. Endocrinology. 2005;146(12):5612-20.
19. Gottschalk WA, Jiang H, Tartaglia N, Feng L, Figurov A, Lu B. Signaling mechanisms mediating BDNF modulation of synaptic plasticity in the hippocampus. Learning & Memory. 1999;6(3):243-56.
20. Liu YF, Chen Hi, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. The Journal of physiology. 2009;587(13):3221-31.
21. Hosseini SE, Mojtahedi S, Kordi MR, Shabkhiz F, Fallah Omran S. Effect of short term and light forced treadmill running on BDNF and TrkB in the hippocampus of adult wistar male rats. Razi Journal of Medical Sciences. 2012;19(101):61-7.

22. Gómez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. Journal of neurophysiology. 2002;88(5):2187-95.
23. Chae C, Jung S, An S, Park B, Wang S, Cho I, et al. RETRACTED: Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. Elsevier; 2009.
24. Segura-Aguilar J, Kostrzewa RM. Neurotoxins and neurotoxicity mechanisms. An overview. Neurotoxicity research. 2006;10(3-4):263-85.
25. Reilly MM, Shy ME. Diagnosis and new treatments in genetic neuropathies. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. 2009;80(12):1304-14.
26. Hou L, Hong T. Stem cells and neurodegenerative diseases. Science in China Series C: Life Sciences. 2008;51(4):287-94.

استناد به مقاله

خدامرادی اصلان؛ کردی محمدرضا؛ نوری رضا. تأثیر چهار هفته تمرین هوازی بر سطوح Trk-B، PKC و AKT در هیپوکمپ رت‌های نر مبتلا به بیماری آلزایمر. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۴۰۰؛ ۱۳(۵۰): ۵۸-۳۹.
شناسهٔ دیجیتال: 10.22089/SPJ.2018.4752.1690

A. Khodamoradi, M.R.Kordi, R. Nori. Effect of Four Weeks Aerobic Training on Trk-B, PKC and AKT in Hippocampus of Male rats with Alzheimer's Disease. Summer 2021; 13(50): 39-58. (In Persian). Doi: 10.22089/SPJ.2018.4752.1690