مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۹، آذر ۱۳۹۹، ۹۶۸-۹۵۵

تأثیر یک دوره فعالیت استقامتی شنا بر مرگ سلولی و میزان بیان ژن گیرنده‌ی نیکوتینی استیل‌کولین در مغز موش صحرایی: یک مطالعه تجربی مدل آلزایمر

زینب گرگین کرجی[۱]، محمد فتحی[۲]، رحیم میرنصوری[۳]

دریافت مقاله: ۹۹/۶/۲۵ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۹/۷/۱۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۹/۷/۲۸ پذیرش مقاله: ۹۹/۷/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: آلزایمر (Alzheimer's disease; AD) بیماری وابسته به انحطاط عصبی است که با اختلال در عملکرد کولینرژیک و کاهش در تراکم گیرنده‌ی نیکوتینی استیل‌کولین (nicotinic acetylcholine receptor; nAChRs) شناخته می شود. nAChRs واسطه پیام‌رسانی کولینرژیک در تعدیل عملکرد حافظه و یادگیری است. در آلزایمر هیپوکمپ مستعد تحلیل عصبی و مرگ نورونی است که منجر به اختلالات شناختی می‌شود. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، تعیین تأثیر شنا بر درصد مرگ سلولی و بیان ژن α7nAChR در مغز موش مدل آلزایمری بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۴ گروه شم (sh)، کنترل‌بیمار (A)، تمرین-سالم (T) و تمرین-آلزایمر (AT) تقسیم شدند. مدل آلزایمر با تزریق $A\beta_{1-42}$ به منطقه CA3 هیپوکمپ ایجاد شد. تمرین برای حیوانات گروه تمرینی در شنا انجام شد (۳۰ دقیقه در روز به مدت ۳ هفته). ارزیابی مدل آلزایمر، میزان بیان ژن α7nAChR و درصد مرگ سلولی در بافت هیپوکمپ به ترتیب با استفاده از روش‌های ایمنوفلوروسنت، Real Time PCR و کریزیل ویوله استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t مستقل و آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که آلزایمر بیان ژن α7nAChR را در هیپوکمپ موش صحرایی به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ($P<۰/۰۵$)؛ درحالی‌که تمرین بیان کاهش یافته‌ی α7nAChR در آلزایمر و درصد مرگ سلولی ایجاد شده به‌وسیله‌ی آلزایمر را بهبود می‌بخشد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: فعالیت‌بدنی احتمالاً برای پیش‌گیری از کاهش α7nAChR و هم‌چنین مرگ سلولی که در آلزایمر اتفاق می-افتد، مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: شنا، درصد مرگ سلولی، گیرنده‌ی نیکوتینی استیل‌کولین، آلزایمر، موش صحرایی

۱- دانشجوی دکتری، گروه آموزشی علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۲- (نویسنده مسئول) دانشیار تربیت بدنی، گروه آموزشی علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
تلفن: ۳۳۱۲۰۱۰۶-۰۶۶، دورنگار: ۳۳۱۲۰۱۱۷-۰۶۶، پست الکترونیکی fathi.m@lu.ac.ir
۳- استادیار تربیت بدنی گروه آموزشی علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین شکل زوال عقل است، در واقع آلزایمر یک بیماری مرتبط با سن و پیش‌رونده است که با نقص در حافظه و شناخت افراد مسن شناخته می‌شود. تجمع پپتید بتا آمیلوئید (Aβ) و کلاف‌های نوروفیبریلار (Neurofibrillary Tangles; TNF) در مغز، در پیشرفت این بیماری، نقش اساسی بازی می‌کند [۱]. نقص در عملکرد شناختی ناشی از اختلال در انتقال نورونی کولینرژیک از ویژگی‌های بارز آلزایمر است [۲]. مطالعات اخیر اشاره کرده اند که فرآیندهای التهابی یک فاکتور پاتوژنیک قدرتمند در فرآیند انحطاط عصبی هستند. نشان داده شده است که سیستم عصبی خودمختار، التهاب را از طریق اعصابی که سلول‌های ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، کنترل می‌کند، یکی از این اتصالات ایمنی مغز، مسیر ضدالتهابی کولینرژیک است که التهاب را از طریق اعصاب محیطی دریافت کرده و تولید سایتوکاین‌های پیش-التهابی را سرکوب می‌کند [۳].

بر اساس تحقیقات، مسیرهای التهابی کولینرژیک، به ویژه در گیرنده‌های نیکوتینی استیل‌کولین (nicotinic acetylcholine receptor; nAChRs)، موجب کاهش پاسخ التهابی و بهبود عملکرد شناختی می‌شوند [۳]. شواهد اخیر تأکید کرده‌اند که التهاب می‌تواند بیان α7nAChR را در مغز کاهش دهد که این امر با انباشت بتا آمیلوئید و توسعه بیماری آلزایمر همراه است [۴].

AChRs پروتئین‌های غشاء و اعضای اصلی سرگروه کانال (سدیمی) یونی دریچه لیگاندی هستند که به اتصال استیل‌کولین پاسخ می‌دهند. nAChRها از ۵ زیرواحد δ، ε، γ، β_{1-4} و α_{1-10} تشکیل شده و یک کانال مرکزی یونی را احاطه می‌کنند. شش زیرواحد-α (۷-۲) و سه زیرواحد-β (۴-۲) گیرنده‌ی نیکوتینی در مغز پستانداران شناسایی شده‌اند. گیرنده‌های α7 و α4β2 معمولی‌ترین گیرنده‌ی نیکوتینی عملکردی در هیپوکمپ هستند. شواهد نشان می-دهد α7nAChR نقش مهمی در تعدیل انتشار عصبی تحریک کننده، بهبود مهارت یادگیری، حافظه و افزایش عملکرد شناختی دارد [۵].

از طرفی، به علت عدم وجود روش درمانی کاملی برای آلزایمر، پژوهش‌گران و پزشکان بر شناسایی گزینه‌های درمانی دیگر به منظور مدیریت علائم متمرکز شده‌اند. مشخص شده است برخی عوامل محیطی مانند فعالیت بدنی و رژیم غذایی عملکرد شناختی را در مدل‌های حیوانی افزایش می‌دهد [۶]. نشان داده شده است که فعالیت بدنی می‌تواند برای عملکرد شناختی در افراد دارای بیماری زوال نورونی مفید باشد [۷]. فعالیت منظم با تغییرات مختلف ساختاری در دستگاه عصبی، به ویژه در هیپوکمپ، همراه است. هیپوکمپ، ناحیه مهم یادگیری و حافظه در مغز و یکی از اصلی‌ترین ورودی کولینرژیکی است. فعال‌سازی آن می‌تواند nAChR را فعال سازد، محققان نشان داده‌اند فعالیت بدنی می‌تواند میزان nAChR را در عضلات تند و کند افزایش دهد، به نظر می‌رسد تمرین با افزایش هر یک از عوامل نسخه برداری خاص سیناپسی باعث افزایش سنتز و دسته‌بندی nAChR شود. هم‌چنین فعالیت بدنی جریان خون مغزی را بهبود می‌بخشد و حجم هیپوکمپ و نوروژنز را افزایش می‌دهد [۸]. از آن‌جا که میزان nAChR احتمالا تحت تأثیر بیماری آلزایمر قرار می‌گیرد، شاید تمرینات ورزشی بتوانند با افزایش بیان ژن nAChR و هم‌چنین

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

نوروژنز، بهبود جریان خون مغز و تغییر در حجم هیپوکمپ برای مبتلایان به آلزایمر مفید بوده و احتمالا با جبران کاهش میزان nAChR متعاقب بیماری آلزایمر، در سرعت پیشرفت بیماری نقش احتمالی داشته باشد، اگرچه برای اثبات این دیدگاه باید تحقیقات بیشتری صورت گیرد.

از آن‌جا که محقق مطالعه‌ای که تأثیر تمرینات ورزشی بر میزان بیان ژن α7nAChR مبتلایان به بیماری آلزایمر را بسنجد، نیافت، بنابراین هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر ورزش شنا بر درصد مرگ سلولی و میزان بیان ژن α7nAChR در مغز موش مدل آلزایمری بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه پاسارگاد (تهران) انجام شد. موش‌های صحرایی ۶ هفته‌ای نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به عنوان نمونه‌ی پژوهش از مرکز نگه-داری حیوانات انستیتو پاستور خریداری شده و در اتاقی با چرخه ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی، دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۲۴-۲۲ درصد مطلوب با دسترسی آزادانه به آب و غذا (به صورت چهارتایی در قفس‌ها) نگه‌داری شدند. بر اساس راهنمایی شورای پژوهش ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی تلاش بر این بود که هر گونه استرس غیرضروری به حیوانات حذف گردد. ۳۲ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به دو گروه کلی (بدون تمرین و تمرین استقامتی) تقسیم شدند؛ سپس هر کدام از آن دو گروه به ۲ زیرگروه تقسیم شدند، به طوری که در هر زیرگروه ۸ سر موش صحرایی قرار گرفت. گروه بدون تمرین به دو زیرگروه شم (sh) و کنترل-بیمار (A) تقسیم شدند. گروه تمرین استقامتی نیز شامل دو زیرگروه تمرین-آلزایمر (AT) و تمرین-سالم (T) بودند. در موش‌های صحرایی زیر گروه شم جراحی بدون القاء آلزایمر انجام شد، این گروه در هیچ‌گونه فعالیت ورزشی شرکت نکردند. در گروه کنترل هیچ مداخله‌ای صورت نگرفت.

القاء آلزایمر: در پژوهش حاضر از بتا آمیلوئید ۴۲-۱ ($A\beta_{1-42}$) برای القاء آلزایمر در حیوانات استفاده شد. ابتدا بتا آمیلوئید (Sigma Aldrich) به مدت ۴ روز، درون انکوباتور (BINDER، آلمان) ۳۷ درجه قرار گرفت، سپس با استفاده از دستگاه استریوتاکس (RWD، چین) به درون هیپوکمپ حیوانات تزریق شد. برای این منظور ابتدا حیوانات توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵mg/kg) و زایلازین (۱۰mg/kg) بیهوش شده و سپس درون دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. بعد از تراشیدن موهای روی سر و سوراخ کردن جمجمه، کانون‌های مخصوص تزریق در هیپوکمپ پشتی بر اساس اطلس پاکسینوس (Paxinus و Watson) مشخص شده و $A\beta_{1-42}$ توسط سرنگ همیلتون متصل به پمپ انفوزیون (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) به منطقه CA1 در هیپوکمپ پشتی (A – 4/2, L ± 3/0, V – 2/0 mm) تزریق شد. برای مشاهده پلاک‌های آمیلوئیدی، ۱۰ روز بعد از جراحی از مغز ۴ حیوان، لام پاتولوژیک تهیه و مدل آلزایمر ارزیابی شد [۹]

پروتکل تمرین استقامتی: ابتدا در طول مرحله آشناسازی، به منظور آشنایی با پروتکل تمرین، موش‌ها دو دوره ۳۰ ثانیه‌ای شنا با فاصله زمانی دو ساعته بین دوره‌های شنا را در مدت دو روز اجرا کردند [۱۰]. در پژوهش حاضر تمرین استقامتی بر اساس مطالعه Cardoso و همکاران اجرا

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

شد [۱۰]؛ به این‌صورت که گروه‌های تمرین به مدت ۲۰ روز در معرض شنا قرار گرفتند. برنامه تمرینی به دو فاز ۴ روزه (تطبیقی) و ۱۶ روزه (اصلی) تقسیم شد. در دوره تطبیقی، در روز اول، دو دوره ۳۰ ثانیه‌ای شنا با فاصله زمانی دو ساعته بین دوره‌های شنا؛ در روز دوم، دو دوره‌ی ۲ دقیقه شنا و یک فاصله دو ساعته؛ روز سوم، سه دوره‌ی ۱۰ دقیقه شنا با فاصله ۵ دقیقه؛ و روز چهارم، دو دوره‌ی ۱۵ دقیقه شنا با فاصله زمانی ۵ دقیقه اجرا شد. پس از دوره تطبیقی، موش‌ها وارد فاز اصلی تمرین شدند و از روز پنجم تا روز بیستم به مدت ۳۰ دقیقه شنا کردند [۱۰].

مطالعه ایمنوفلوروسنت برای ارزیابی مدل آلزایمر: جهت ارزیابی مدل آلزایمر، ۱۰ روز پس از تزریق $A\beta_{1-42}$ به هیپوکمپ موش‌های صحرایی، از مغز ۴ حیوان لام پاتولوژیک تهیه و پلاک‌های بتا آمیلوئید به روش ایمونوفلوروسنت مورد سنجش قرار گرفت. به این منظور پس از ثبات بافتی در محلول بوئن به مدت ۴۸ ساعت، مراحل پاساژ بافتی ادامه یافت و نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شده و پس از آن با استفاده از میکروتوم دوار برش‌های ۵ میکرونی تهیه شد. برای حذف کردن پارافین از گزیلن (زایلن) و برای آب‌دهی از الکل اتیلیک با درجات نزولی استفاده شد. جهت رنگ‌آمیزی زمینه نیز از هماتوکسیلین استفاده شد. سپس اسلایدها با میکروسکوپ فلوروسنت (آمریکا ,LABOMED) و با لنز ۴۰۰ دوربین عکس‌برداری (دانمارک ,Delta Pix) برای تأیید مطالعه شدند. در نهایت با استفاده از نتایج حاصل از نرم‌افزار Image J نسخه ۱/۵، پروتئین‌ها سنجیده شد [۱۱].

مطالعه Real Time PCR برای ارزیابی بیان ژن α7nAChR: برای بررسی بیان ژن‌ها α7nAChR در هر گروه، بررسی بافت‌ها با تکنیک Real Time PCR استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل شد. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. این تکنیک دارای ۴ مرحله اساسی است: ابتدا RNA کل از سلول‌های جمع‌آوری شده در هر گروه استخراج شد. سپس با استفاده از آنزیم کپی‌برداری معکوس به cDNA تبدیل شد. پس از آن cDNA حاصل جهت حذف DNA ژنومی با آنزیم DNase I تیمار شد و در نهایت به روش Real Time PCR تکثیر گردید. هم‌چنین جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام شد.

پس از آن‌که از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، RNA با خلوص و غلظت بالا استخراج شد، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (آمریکا ,Fermentas) انجام شده و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا کلیه پرایمرهای طراحی شده مربوط به تمامی ژن‌ها، مورد بررسی قرار گرفت و سپس بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی q-RT PCR انجام گرفت. ژن رفرنس در این تحقیق B-ACTIN بود. سطح بیان ژن با روش $2^{-\Delta\Delta}$ CT بررسی شد [۱۲]. مشخصات پرایمرهای استفاده شده برای α7nAChR و در جدول ۱ آمده است.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

جدول ۱- توالی پرایمر α7nAChR و ژن کنترل

کد ژنتیکی	توالی پرایمر	ژن
NM_022930.1	F→ ATTGAAGATGTGGAATGGGAGGT R→ AGGTTGACGATGTAGAAGGAGGA	α7nAChR
NM_031144.3	F→ GTGTGATGGTGGGTATGGGT R→ GGTCATTGTAGAAAGTGTGGTG	B-ACTIN

تست کریزیل ویوله برای سنجش درصد مرگ سلولی: در این روش اجسام نیسل داخل سلول‌ها رنگ‌آمیزی شد. در این رنگ‌آمیزی جسم سلولی به رنگ بنفش در آمد. مراحل این رنگ‌آمیزی به ترتیب عبارت بودند از: الف –برداشت پارافین، ب- آب‌دهی، ج-رنگ‌آمیزی، د-آب‌گیری، ه-شفاف کردن. پس از انجام مراحل فوق یک قطره چسب بر روی لام مورد نظر ریخته شده و پس از قرار دادن لام بر روی آن در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شود. سپس با میکروسکوپ فلوروسنت (آمریکا ,LABOMED) بررسی شده و با استفاده از نتایج حاصل از نرم‌افزار Image J نسخه ۱/۵، مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۳].

تجزیه و تحلیل آماری: جهت تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش از نرم‌افزارهای ImageJ نسخه ۱/۵ و SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی شد. برای ارزیابی تساوی واریانس گروه‌ها از آزمون لون استفاده شد. به منظور توصیف داده‌ها و رسم نمودار از آمار توصیفی و برای مقایسه گروه‌ها در متغیرهای مورد مطالعه پژوهش، از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. جهت آزمون تکمیلی از آزمون Tukey استفاده شد. هم‌چنین مدل آلزایمر با آزمون t مستقل مورد ارزیابی قرار گرفت. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها نیز ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت Mean±SEM نمایش داده شد.

نتایج

تأیید مدل آلزایمر

جهت ارزیابی مدل از آزمون t مستقل استفاده شد، بررسی ایمونوفلوروسنت ۱۰ روز پس از القاء $A\beta_{1-42}$ مدل آلزایمر را تأیید کرد، به‌طوری که بین میزان پلاک‌های بتا آمیلوئید در دو گروه sh و A تفاوت معنی‌دار بود (شکل و نمودار ۱)، درصد پلاک‌های بتا آمیلوئید در منطقه‌ی CA3 هیپوکمپ مورد سنجش قرار گرفت. میانگین میزان بیان پلاک‌های بتا آمیلوئید در منطقه‌ی CA3 گروه کنترل ۲۵۶/۶ درصد بود در حالی که این میزان در گروه آلزایمر ۴۹/۴۶ برابر بیش‌تر از گروه کنترل افزایش یافت. سطح معنی‌داری P=۰/۰۱۲ گزارش شد.

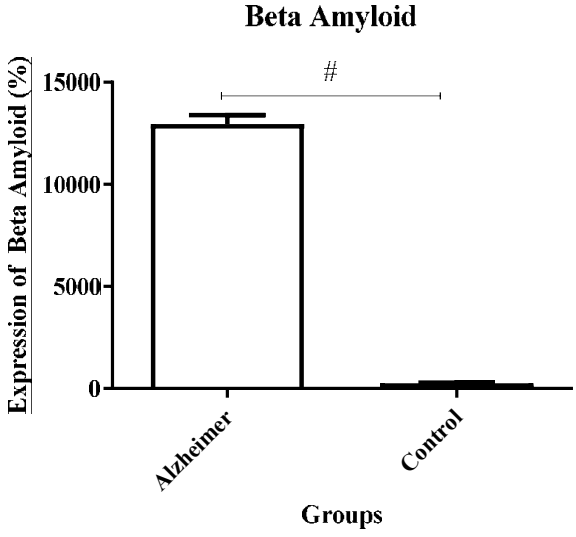
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]

[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

شکل ۱- فتومیکروگراف‌های رنگ آمیزی ایمنوهیستوشمی پلاک‌های بتا آمیلوئید در هیپوکمپ موش‌های صحرایی گروه کنترل و آلزایمر الف: پلاک‌های بتا آمیلوئید در دو گروه آلزایمر و کنترل، ب: سنجش DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) در دو گروه آلزایمر و کنترل، ج: شکل Maregrd شده (ترکیب دو شکل الف و ب) در دو گروه آلزایمر و کنترل (پلاک‌های سبز رنگ نشان‌دهنده تجمع پلاک های بتا آمیلوئید است)



نمودار ۱- درصد بیان پلاک‌های بتا آمیلوئید در دو گروه آلزایمر و کنترل

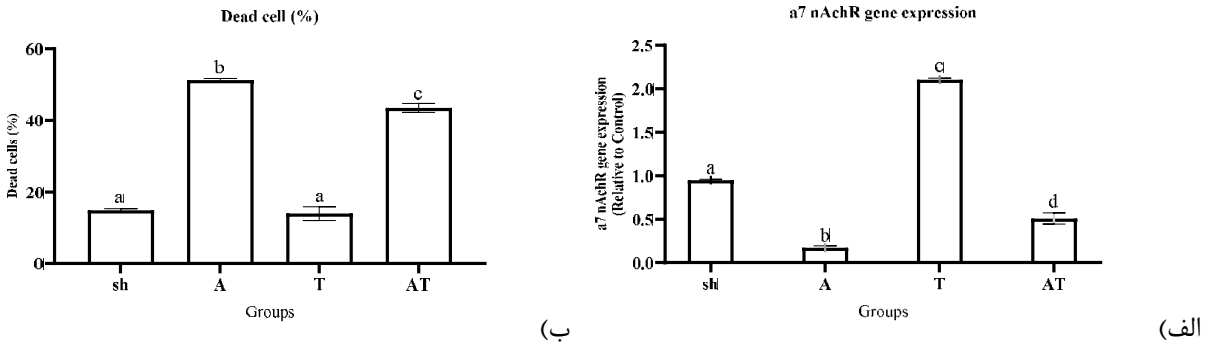
آزمون t مستقل، # سطح معنی‌داری P=۰/۰۱۲

Real Time PCR

هم‌چنین نتایج این پژوهش نشان داد بین میزان بیان ژن α7nAChR در گروه شم (sh) با سایر گروه‌ها (A، T و AT) تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۰۱). در واقع این تحقیق نشان داد که آلزایمر موجب کاهش معنی‌دار در بیان ژن α7nAChR می‌شود (P<۰/۰۰۱)، درحالی که تمرین بیان این ژن را نسبت به گروه شم (T نسبت به sh) افزایش می‌دهد (P<۰/۰۰۱). به‌علاوه نتایج حاکی از این است که اگرچه تمرین سطوح ژنی α7nAChR را در گروه AT نسبت به گروه A افزایش می‌دهد (P=۰/۰۱۹)، اما همچنان بین میزان بیان ژن α7nAChR در دو گروه AT و sh تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۰۱). (میزان بیان ژن α7nAChR در گروه sh همچنان بیش‌تر از AT است). (نمودار ۲، الف).

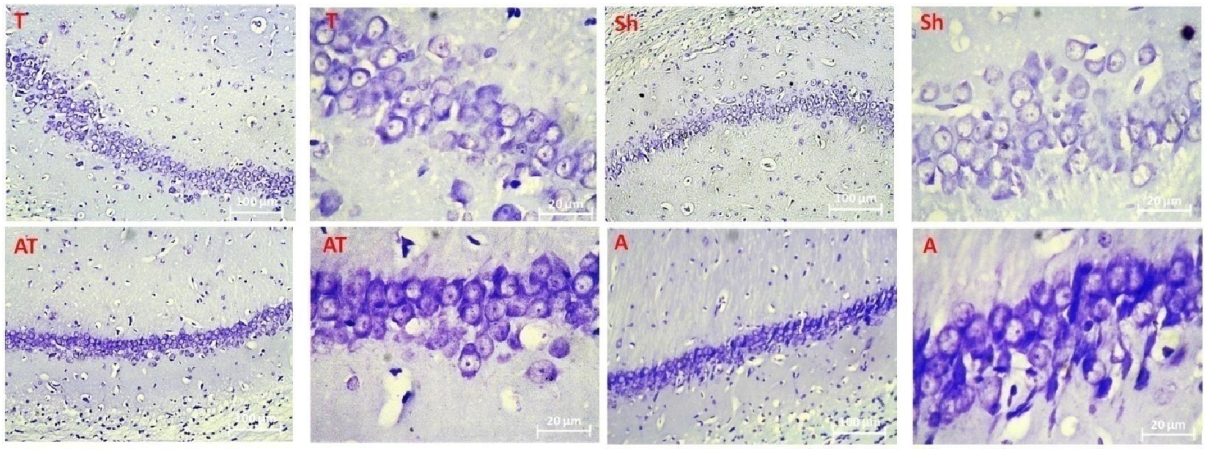
کریزیل ویوله

به‌علاوه، نتایج حاصل از تست کریزیل ویوله پژوهش نشان داد که بین میزان درصد مرگ سلولی در منطقه CA3 هیپوکمپ موش صحرایی در گروه شم (sh) با گروه‌های AT و A تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۰۱). در واقع این تحقیق نشان داد که آلزایمر موجب افزایش معنی‌دار درصد مرگ سلولی در منطقه CA3 هیپوکمپ موش صحرایی می‌شود (P<۰/۰۰۱)، درحالی که تمرین موجب کاهش معنی‌دار درصد مرگ سلولی در منطقه CA3 هیپوکمپ موش صحرایی مدل آلزایمری می‌شود (P<۰/۰۰۱)، اگرچه این کاهش بین دو گروه sh و T معنی‌دار نبود (P=۱/۰۰۰)، از طرفی، اگرچه تمرین درصد مرگ سلولی را در گروه AT کاهش داد، اما هم‌چنان بین درصد مرگ سلولی در منطقه CA3 هیپوکمپ موش صحرایی در دو گروه sh و AT تفاوت وجود دارد و میزان درصد مرگ سلولی در گروه AT به‌طور معنی‌داری از گروه sh بیش‌تر است (P=/۰۰۱) (نمودار ۲، ب). هم‌چنین فتوگراف‌های رنگ‌آمیزی کریزیل ویوله در میزان درصد مرگ سلولی در منطقه CA3 هیپوکمپ در شکل ۲ آمده است.



نمودار ۲- اندازه‌گیری میزان بیان ژن α7nAChR و میزان درصد مرگ سلولی در گروه‌های sh، A، T و AT
الف: میزان بیان ژن α7nAChR ب: درصد مرگ سلولی
آزمون تحلیل واریانس یک طرفه، * سطح معنی‌داری P<۰/۰۰۱، ** سطح معنی‌داری P=۰/۰۰۱ و *** سطح معنی‌داری P=۰/۰۱۹

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]



شکل ۲- فتوگراف‌های رنگ‌آمیزی کریزیل ویوله در میزان درصد مرگ سلولی در منطقه CA3 هیپوکمپ (پلاک‌های بنفش نشان‌دهنده‌ی سلول‌های مرده است)

بحث

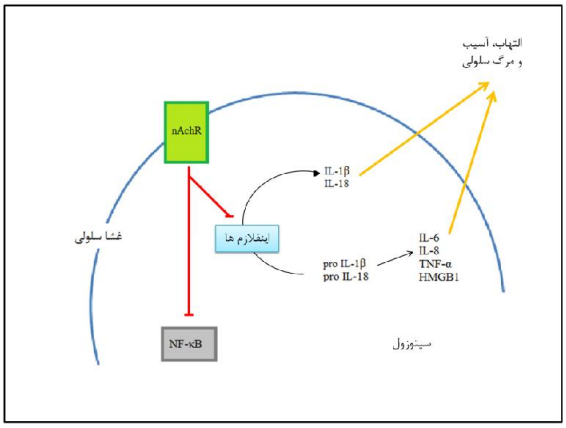
آلزایمر یک بیماری پیشرونده، غیر قابل برگشت و ناشناخته است که به تدریج عملکرد شناختی را مختل می-کند. این بیماری طیف‌های مختلفی شامل از دست دادن حافظه خفیف تا کاهش استقلال برای دستیابی به ساده‌ترین وظایف روزانه را شامل می‌شود و عامل اصلی جنون در بزرگسالان است [۲]. nAChRها می‌تواند فرآیندهایی مثل یادگیری و حافظه را تعدیل کند و نقص در این گیرنده می‌تواند موجب اختلال در حافظه شود، در نتیجه nAChRها تحت تأثیر بیماری‌های مهمی همچون آلزایمر قرار گرفته و می‌تواند به عنوان یک هدف درمان برای بیماری آلزایمر مورد توجه قرار گیرد [۲].

در این پژوهش مشاهده شد ورزش به عنوان یک فاکتور مثبت و تأثیرگذار موجب افزایش معنی‌دار α7nAChR در هر دو گروه تمرین-سالم (نسبت به گروه شم) و تمرین-آلزایمر (نسبت به گروه کنترل بیمار) می‌شود. اگرچه محقق پژوهشی که در آن تأثیر ورزش بر سطح α7nAChR هیپوکمپ را سنجیده باشد مشاهده نکرد، اما میزان این گیرنده در اتصالات عصبی-عضلانی و عضلات تند و کند متعاقب ورزش، توسط سایر پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته است، در حالی‌که Fahim نشان داد که ۱۲ هفته تمرین بر روی تردمیل بر توزیع و میزان α7nAChR اتصالات عصبی-عضلانی اثر ندارد [۱۴]، اما مشابه با تمرین حاضر افزایش در α7nAChR متعاقب تمرین در پژوهش Parnow و همکاران دیده شده بود. محققان در این پژوهش که در سال ۲۰۱۲ انجام شد اثر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی را بر α7nAChR عضلات تند و کند موش نر ویستار بررسی کردند، این پژوهش نشان داد که تمرین باعث افزایش معنی‌دار در میزان α7nAChR هر دو نوع تار کند و تند انقباض می‌شود [۸]. بنابراین می‌توان گفت فعالیت بدنی می‌تواند سطوح ژنی α7nAChR و به طبع آن یادگیری، حافظه و عملکرد شناختی را ارتقا دهد، اما درک مکانیزم عمل و نحوه تأثیر فعالیت بدنی بر این گیرنده نیازمند پژوهش‌های بیش‌تری است.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

اختلال در عملکرد nAChRs در پاتوفیزیولوژی بسیاری از اختلالات عصبی دیده شده است [۵]. در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد آلزایمر موجب کاهش معنی‌دار در میزان بیان ژن α7nAChR نسبت به گروه کنترل شد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات پیشین هم‌سو بوده [۲] و مشخص شده است که بیان و عملکرد α7nAChR در مغز حیوانات مدل آلزایمر و بیماران مبتلا به آلزایمر تغییر می‌کند و این نشان می‌دهد که α7nAChR در پاتوژنز آلزایمر نقش داشته و می تواند در پیش‌گیری و درمان بیماری آلزایمر مورد توجه قرار گیرد. با این حال، مکانیزم‌هایی که نقش α7nAChR را در پاتوژنز آلزایمر را مشخص می‌کنند، بسیار پیچیده هستند [۲].

بر اساس تحقیقات گذشته می‌توان گفت که همان‌طور که آلزایمر پیشرفت می‌کند و الیگومرهای Aβ تجمع می‌یابند، یک ارتباط متقابل Aβ-α7nAChR ایجاد شده و در نهایت منجر به مسدود شدن و اختلال در عملکرد α7 nAChR می شود [۱۵]. التهاب یکی دیگر از مکانیزم‌های مورد بحث است. نشان داده شده است که فعال شدن α7nAChR بر روی میکروگلیا، ماکروفاژهای محیطی و مونوسیت‌ها، ترشح سایتوکاین‌های التهابی را کاهش می‌دهد و این امر موجب کاهش التهاب عصبی می‌شود. همان‌طور در شکل ۳ آمده است فعال‌سازی α7nAChRs التهاب را کاهش می‌دهد، در نتیجه آن گیرنده‌های NF-κB فعال شده و سایتوکاین‌هایی مانند IL-6، IL-8، TNF-α و HMGB1 را فعال می‌کند (پیکان تیره). علاوه بر این، فعال شدن NF-κB باعث تولید شکل‌های نابالغ IL-1β و IL-18 می‌شود (به ترتیب pro-IL-1β و Pro-IL-18). این سایتوکاین‌های بیولوژیک غیرفعال توسط التهاب به شکل فعال آن شکسته شده و از سلول ترشح می‌شوند (پیکان توخالی). این مجتمع‌های چند پروتئینی داخل سلولی در پاسخ به تحریک NF-κB جمع شده و برای فعال شدن به تحریک دوم (مانند ATP) نیاز دارند. آگونیست‌های α7nAChR در این مسیر مداخله کرده و با مهار NF-κB و فعال‌سازی اینفلامازوم‌هایی مانند NLRP1 و NLRP3 مانع ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود (خط قرمز ضخیم) [۳].



شکل ۳- مکانیزم کاهش کاهش التهاب با فعال‌سازی nAChR
nAChR از طریق مهار اینفلامازوم‌ها و جلوگیری از تولید IL-1β و IL-18، التهاب و در نهایت آسیب و مرگ سلولی را کاهش می‌دهد[۳]

از طرفی در تحقیق حاضر گزارش شد که کاهش بیان ژن α7nAChR در موش‌های صحرایی مدل آلزایمری پس از انجام تمرینات ورزشی جبران شد، به‌طوری که موش‌های صحرایی گروه آلزایمر-تمرین (AT) به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل-بیمار از میزان α7nAChR بیش‌تری برخوردار بودند، هرچند هنوز به مقدار پایه α7nAChR در گروه شم نرسید. با توجه به نقش nAChR در یادگیری و حافظه [۵] به نظر می‌رسد ورزش با ارتقاء سطح کاهش - یافته α7nAChR در مبتلایان به آلزایمر در بهبود حافظه این بیماران (به عنوان اصلی‌ترین عامل شکایت این افراد) مؤثر

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

بوده و می‌تواند به عنوان یک هدف درمان جدید برای بیماران مبتلا به آلزایمر در نظر گرفته شود، هر چند تأیید این مهم مستلزم تحقیقات بیش‌تری است. در تأیید تأثیر مثبت فعالیت بدنی در بهبود عملکرد بیماران آلزایمری Brasure و همکاران بیان کردند که فعالیت بدنی می‌تواند از اختلالات شناختی ناشی از بیماری آلزایمر پیش‌گیری کند [۱۶]. این محققان در پژوهش مروری خود بیان کردند که فعالیت بدنی عملکرد شناختی را ارتقا داده و در پیش‌گیری از کاهش شناختی یا زوال عقل در افراد مسن مؤثر است [۱۶].

بنابراین می‌توان از ورزش به عنوان یک عامل مثبت جهت کاهش سرعت پیشرفت آلزایمر و حتی پیش‌گیری از ابتلاء به این بیماری یاد کرد، اگرچه انجام پژوهش‌های بیش‌تری جهت تأیید این امر پیشنهاد می‌شود.

هم‌چنین از آن‌جا که احتمالاً سایر فاکتورهای التهابی مانند IL-6، IL-8، TNF-α، NLRP1 و NLRP3 تحت تأثیر سطوح ژنی α7nAChR قرار بگیرند، به نظر می‌رسد پژوهش در ارتباط با تغییرات سطوح ژنی این عوامل متعاقب تمرین در موش‌های صحرایی مدل آلزایمری مفید باشد.

اعتقاد بر این است که در بیماری آلزایمر برخی از مناطق مغز مستعد فرآیندهای دژنراتیو هستند و می‌توانند موجب اختلال عملکرد عصبی در مراحل اولیه بیماری شوند [۱۷]. از دست دادن نورون یک مسیر مشترک برای تعداد زیادی از فرآیندهای دژنراتیو در آلزایمر است که می‌تواند توسط عوامل مختلف مانند پلاک بتا آمیلوئید، تحریکات کلسیمی، تغییرات گلوتامات، ایسکمی، فرآیندهای التهابی یا فشارهای اکسایشی ایجاد شود [۱۸]. جایگاه هیپوکمپ در فرآیندهای حافظه بسیار شناخته شده است و احتمال دارد که هیپوکمپ در میان نخستین قسمت‌هایی از مغز باشد که تحت تأثیر مکانیزم‌هایی که در آلزایمر رخ می‌دهد، قرار بگیرد [۱۷]. اتوفاژی نقش مهمی در مرگ سلولی در مناطق مختلف هیپوکمپ بازی می‌کند، اگرچه مکانیزم آن ناشناخته است [۱۹]. در این تحقیق نیز دیده شد آلزایمر، درصد مرگ سلولی را در قسمت CA3 هیپوکمپ موش صحرایی نر را افزایش داده است که این کاهش هم‌سو با تحقیقات گذشته است [۱۷]. این درحالی است که میزان درصد مرگ سلولی در موش صحرایی آلزایمری تمرین‌کرده به طوری معنی‌داری نسبت به گروه کنترل-بیمار کاهش یافت. این نتایج حاکی از آن است که ورزش می‌تواند درصد مرگ سلولی ناشی از بیماری آلزایمر را کاهش دهد. پیش از این پژوهش‌گران اشاره کرده‌اند که چندین ژن Bcl-2 از جمله Bax ممکن است نفوذپذیری غشاء میتوکندری را متمایز کنند که بعدها موجب اتوفاژی و آپوپتوزیس می‌شود. Bax باعث مرگ سلول می‌شود. این عامل در آپوپتوزیس وابسته به پروتئین سرکوب‌کننده تومور۵۳ (p53) نقش کلیدی دارد. گزارش‌ها نشان می‌دهد که P53 تعدیل‌کننده‌ی آپوپتوز است [۱۹].

هم‌چنین پیش از این محققان نشان دادند که ورزش می تواند آزاد شدن سیتوکروم C و سطح افزایش‌یافته p53 را که با اختلال عملکرد میتوکندری شناخته شده است، کاهش دهد [۲۰]؛ به این ترتیب می‌تواند کاهش درصد مرگ سلولی در گروه آلزایمر-تمرین در تحقیق حاضر را می‌توان به تأثیر تمرین ورزشی بر کاهش سطوح افزایش یافته P53 نسبت داد، بنابراین سنجش فاکتورهای چون Bax و p53 در تحقیقاتی مشابه تحقیق حاضر پیشنهاد می‌گردد. هم‌چنین

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

می‌توان گفت فعالیت بدنی می‌تواند به عنوان یک عامل مثبت جهت کاهش پیشرفت مرگ نرونی ناشی از آلزایمر مورد توجه محققان قرار بگیرد.

این مطالعه دارای چندین محدودیت بود. در تحقیقات آینده بهتر است، از گروه‌های متنوع تمرینی (مانند انجام فعالیت بدنی قبل از ابتلاء به آلزایمر یا انجام تمرین با شدت های مختلف) برای بررسی اثر تمرین استفاده شود. هم‌چنین، نیاز است مطالعات بیش‌تری روی اثر تمرین ورزشی بر فاکتورهای دخیل در مرگ سلولی مانند Bax و p53 بررسی شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر و با توجه تأثیر مثبت ورزش بر افزایش سطوح ژنی α7nAChR به عنوان یک فاکتور مثبت از یک سو و کاهش درصد مرگ سلولی به عنوان یک فاکتور منفی از سوی دیگر، می‌توان گفت ورزش می‌تواند به عنوان یک عامل مهم در پیش‌گیری و حتی درمان بیماری آلزایمر مؤثر باشد و این موضوع می تواند مورد توجه تحقیقات آینده قرار بگیرد. هم‌چنین انجام تحقیق و پژوهش در ارتباط با سایر عوامل مؤثر در مسیرهای ضدالتهابی کولینرژیک و نقش فعالیت بدنی بر سطوح این عوامل می‌تواند دورنمای روشنی را در ارتباط با نقش پیش-گیرانه و حتی درمانی ورزش در اختیار درمانگران حوزه بیماری‌های شناختی قرار دهد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه لرستان است. از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان جهت حمایت-های معنوی سپاسگزاری می‌شود.

References

[1] Dorszewska J, Kozubski W. Alzheimer's Disease: The 21st Century Challenge: *BoD–Books on Demand* 2018.

[2] Ni R, Marutle A, Nordberg A. Modulation of α7 nicotinic acetylcholine receptor and fibrillar amyloid-β interactions in Alzheimer's disease brain. *Journal of Alzheimer's Disease* 2013; 33(3): 841-51.

[3] Neumann S, Shields NJ, Balle T, Chebib M, Clarkson AN. Innate immunity and inflammation post-stroke: an α7-nicotinic agonist perspective. *International Journal of Molecular Sciences* 2015; 16(12): 29029-46.

[4] Lykhmus O, Voytenko L, Koval L, Mykhalskiy S, Kholin V, Peschana K, et al. α7 Nicotinic acetylcholine receptor-specific antibody induces inflammation and

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

amyloid β42 accumulation in the mouse brain to impair memory. *PloS One* 2015; 10(3): e0122706.

[5] Dineley KT, Pandya AA, Yakel JL. Nicotinic ACh receptors as therapeutic targets in CNS disorders. *Trends in Pharmacological Sciences* 2015; 36(2): 96-108.

[6] Chaiyana W, Okonogi S. Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant. *Phytomedicine* 2012; 19(8-9): 836-9.

[7] Reinsberger C. Of running mice and exercising humans-the quest for mechanisms and biomarkers of exercise induced neurogenesis and plasticity. *Deutsche Zeitschrift Für Sportmedizin* 2015; 66(2).

[8] Parnow A, Gharakhanlou R, Gorginkaraji Z, Rajabi S, Eslami R, Hedayati M, et al. Effects of endurance and resistance training on calcitonin gene-related Peptide and acetylcholine receptor at slow and fast twitch skeletal muscles and sciatic nerve in male wistar rats. *International Journal of Peptides* 2012.

[9] 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: 33-40.

[10] Cardoso GH, Petry DM, Probst JJ, de Souza LF, Ganguilhet G, Bobinski F, et al. High-Intensity Exercise Prevents Disturbances in Lung Inflammatory Cytokines and Antioxidant Defenses Induced by Lipopolysaccharide. *Inflammation* 2018: 1-8.

[11] Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques: *Elsevier Health Sciences* 2008.

[12] Qian J, Mummalaneni S, Grider JR, Damaj MI, Lyall V. Nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) are expressed in Trpm5 positive taste receptor cells (TRCs). *PloS one* 2018; 13(1): e0190465.

[13] Karim S, Hession C, Marconi S, Gang DL, Otis CN. The identification of ganglion cells in Hirschsprung disease by the immunohistochemical detection of ret oncoprotein. *American Journal of Clinical Pathology* 2006; 126(1): 49-54.

[14] Fahim MA. Endurance exercise modulates neuromuscular junction of C57BL/6NNia aging mice. *Journal of Applied Physiology* 1997; 83(1): 59-66.

[15] Hernandez CM, Kayed R, Zheng H, Sweatt JD, Dineley KT. Loss of α7 nicotinic receptors enhances β-amyloid oligomer accumulation, exacerbating early-stage cognitive decline and septohippocampal pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience* 2010; 30(7): 2442-53.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

functions. *Journal of Medical Biochemistry* 2012; 31(2): 83-7.

[16] Brasure M, Desai P, Davila H, Nelson VA, Calvert C, Jutkowitz E, et al. Physical activity interventions in preventing cognitive decline and Alzheimer-Type dementia: A systematic review. *Annals of Internal Medicine* 2018; 168(1): 30-8.

[17] Padurariu M, Ciobica A, Mavroudis I, Fotiou D, Baloyannis S. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients. *Psychiatria Danubina* 2012; 24(2): 152-8.

[18] Ciobica A, Popescu R, Haulica I, Bild W. Aspects regarding the neurobiology of psycho-affective

[19] Cui D, Shang H, Zhang X, Jiang W, Jia X. Cardiac arrest triggers hippocampal neuronal death through autophagic and apoptotic pathways. *Scientific Reports* 2016; 6: 27642.

[20] Patki G, Lau Y-S. Impact of exercise on mitochondrial transcription factor expression and damage in the striatum of a chronic mouse model of Parkinson's disease. *Neuroscience Letters* 2011; 505(3): 268-72.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]
[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]

The Effect of Swimming Endurance Exercise on Cell Death and Nicotinic Acetylcholine Receptor Gene Expression in Brain of Rat: An Experimental Study of Alzheimer's Disease Model

Z. Gorgin Karaji[1], M. Fathi[2], Rahim Mirnasori[3]

Received: 15/09/2020 Sent for Revision: 30/10/2020 Received Revised Manuscript: 19/10/2020 Accepted: 20/10/2020

Background and Objectives: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease which is marked by impaired cholinergic function and decreased nicotinic acetylcholine receptor (nAChRs) density. nAChRs are important mediators of cholinergic signaling in modulation of learning and memory function. In Alzheimer hippocampus is particularly vulnerable to specific degenerative processes and neuronal death that mediate cognitive dysfunction. Thus, the aim of present study was to examine the effect of swimming on percentage of cell death and α7nAChR gene expression in brain of Alzheimer's disease rat model.

Materials & Methods: In this experimental study, 32 Vistar male rats were allocated into 4 groups: sham (Sh), Alzheimer (A), Alzheimer-training (AT), healthy-training (T). Alzheimer's model was induced by injection of $A\beta_{1-42}$ into the CA3 hippocampus region and the rats in the training groups were submitted to swimming (30 min/day for a period of 3 weeks). To determine Alzheimer's model, α7nAChR gene expression rate and cell death, immunofluorescence, Real Time PCR and crystal violet were used. Independent samples t-test and one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test were used for data analysis.

Results: The results of this study indicated that Alzheimer significantly reduced α7nAChR gene expression in the rat hippocampus ($p<0.05$); While exercise improved the expression of reduced α7nAChR gene in Alzheimer's rats and the percentage of Alzheimer's-induced cell death ($p<0.05$).

Conclusion: Exercise is probably useful for prevention of cell death and reduced α7nAChR gene expression rate in Alzheimer's rat.

Key words: Swimming exercise, Cell death, Nicotinic acetylcholine receptor, Alzheimer, Rat

Funding: This study did not have any funds.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of the Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University approved the study (LU.ECRA.2018.15).

How to cite this article: The Effect of Swimming Endurance Exercise on Cell Death and Nicotinic Acetylcholine Receptor Gene Expression in Brain of Rat: An Experimental Study of Alzheimer's Disease Model. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2020; 19 (9): 955-68. [Farsi]

1- PhD candidate, Dept. of Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: 0000-0003-3189-4011

2- Associate Prof. of Physical education, Dept. of Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: . 0000-0002-2113-365X

(Corresponding Author) Tel: (066) 33120106, Fax: (066) 33120117, E-mail: fathi.m@lu.ac.ir

3- Assistant Prof. of Physical education, Dept. of Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran, ORCID: 0000-0002-9557-2081

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.9.8.7]

[DOI: 10.29252/jrums.19.9.955]