مقاله پژوهشی

اثر تمرین تناوبی شدید روی عامل نروتروفیک مشتق از مغز و عامل نروتروفیک مشتق از سلول گلیال مغز موش‌های صحرایی

حسین طاهری چادرنشین[۱]، محمد اسماعیل افضل پور[۲]، محسن فواد الدینی[۳]، حسین ابطحی[۴]

[۱] دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

[۲] استاد فیزیولوژی ورزش، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

[۳] استادیار مرکز تحقیقات آترواسکلروزیس و کرونر، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

[۴] استادیار بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.

نشانی نویسنده مسئول: بیرجند، دانشگاه بیرجند، حسین طاهری چادرنشین

E-mail: kh.taheri_62@yahoo.com

وصول:۹۳/۷/۲۶، اصلاح:۹۳/۸/۲۴، پذیرش:۹۳/۹/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی عامل نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و عامل نروتروفیک مشتق از سلول گلیال (GDNF) را افزایش می‌دهند. همچنین، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و عامل نکروزیس تومور آلفا (TNF-α) در حالت in vitro محتوای پروتئینی BDNF و GDNF را افزایش می‌دهند. با وجود این، اطلاعات کافی در مورد اثر تعاملی تمرینات شدید ورزشی، H_2O_2 و TNF-α روی نروتروفین‌ها وجود ندارد. از این رو، در تحقیق حاضر اثر تمرین تناوبی شدید روی محتوای BDNF، GDNF، H_2O_2 و TNF-α در مغز موش‌های صحرایی آلبینو ویستار بررسی‌گردید.

موادّ و روش‌ها: شانزده سر موش صحرایی نر به دو گروه تمرین تناوبی شدید و کنترل تقسیم شدند. تمرین تناوبی شدید برای ٦ هفته و با شدت ۹۵ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی روی نوارگردان انجام شد. محتوای BDNF، GDNF و TNF-α به روش ساندویچ الایزا و غلظت H_2O_2 به روش اسی‌کالیمتریک توسط کیت‌های تجاری اندازه‌گیری شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون تی مستقل درسطح $p \leq ۰/۰۵$ به عنوان معناداری آماری ارزیابی شدند.

یافته‌ها: تمرین تناوبی شدید سطوح H_2O_2 ($p<۰/۰۰۰۱$) و TNF-α ($p<۰/۰۰۰۱$) را به ترتیب ۷۵ و ۱٤۳ درصد افزایش داد که همسو با افزایش ۱٤۹ و ۱۷۰ درصدی محتوای BDNF ($p<۰/۰۰۰۱$) و GDNF ($p<۰/۰۰۰۱$) مغز است.

نتیجه‌گیری: به طور کلی، اجرای جلسات تمرینی به صورت تناوبی با حداکثر توانایی موجب افزایش محتوای BDNF و GDNF بافت مغز موش‌های صحرایی می‌شود و به نظر می‌رسد که H_2O_2 و TNF-α روی سازگاری نروتروفینی ناشی از تمرین تناوبی شدید نقش داشته - باشند.

واژه‌های کلیدی: *عوامل نروتروفیکی، فشار اکسایشی، عوامل پیش التهابی، تمرین ورزشی*

مقدمه

تمرین ورزشی منظم یک رویه‌ی مهم رفتاری برای کاهش رخداد بیماری‌های نرولوژیکی مختلف از جمله بیماری‌های آلزایمر، پارکینسون و هانتیگتون است و سلامت و عملکرد مغزی را از طریق بهبود سیستم‌های ضد اکسایشی، رگزایی و افزایش نروتروفین‌ها بهبود می-بخشد (۲،۱).

نروتروفین‌ها به گروهی از پروتئین‌های ترشحی اطلاق می‌شوند که توسط ساختارهای موجود در سیستم عصبی تولید می‌شوند (۳،۲). عامل نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، نروتروفینی با وزن مولکولی ۱٤ کیلودالتونی است که با اتصال به گیرنده‌های تیروزین کینازی B (TrkB) و از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و عوامل ضد آپوپتوزی و نیز افزایش ساختارهای درگیر در سیناپس، نقش مهمی در رشد سیستم عصبی، فعالیت سیناپسی، و به‌طور کلی بهبود عملکرد شناختی دارد (۲). نروتروفین دیگر، عامل نروتروفیک مشتق از سلول گلیال (GDNF) با وزن مولکولی ۱۵ کیلودالتونی است که در جسم سیاه، ساخته و به داخل جسم مخطط رها می‌شود و با اتصال به گیرنده‌ی GDNF ۱ (GFRα۱) نرون‌های دوپامینرژیک، نرون‌های کورتیکال و نرون‌های جسم مخطط و نهایتاً نرون‌های حرکتی را که به ترتیب در طی بیماری‌های پارکینسون (٤)، هانتینگتون و اسکلروزیس آمیوتروفیک جانبی (۵) آسیب می‌بینند، حمایت و ترمیم می‌کنند و از این طریق، باعث بهبود عملکرد حرکتی می‌شود (٦). مطالعات نشان داده‌اند که هموستاز ردوکسی (۳،۷) و شرایط پیش‌التهابی (۹،۸) غلظت BDNF و GDNF را تغییر می‌دهند.

مطالعات در حالت in vitro نشان داده‌اند که پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و عامل نکروزیس تومور آلفا (TNF-α) بیان BDNF و GDNF را افزایش می‌دهند. در این زمینه، نشان داده شده که H_2O_2 سطوح mRNA و پروتئین GDNF را در ناحیه‌ی گردنی ستون مهره‌ی موش‌های صحرایی ویستار (۳) و در کشت ترکیبی نرون - گلیال افزایش می‌دهد و از نرون‌های دوپامینرژیک محافظت می‌کند (۱۰). با وجود این، مکمل‌های ضد اکسایشی N - استیل - I - سیستئین و N - ترت - بیوتیل - α - فنیل نیترونPBN، به ترتیب آزاد شدن BDNF را از سلول‌های آندوتلیال میکروعروقی در مغز موش (۷) و پروتئین BDNF را در ناحیه‌ی گردنی ستون مهره‌ی موش‌های صحرایی (۳) بازداری و کاهش می‌دهد. همچنین، TNF-α درونزاد و برونزاد، هر دو، بیان BDNF و GDNF را در آستروسیت‌ها (۹،۸) افزایش می‌دهد و بازدارنده‌های TNF-α موجب تنظیم کاهشی سطوح BDNF پلاسمایی می‌شود (۱۱). تمرین ورزشی یک القاگر بالقوه‌ی پیش التهابی و فشار اکسایشی است که به تولید H_2O_2 (۱۲،۳) و TNF-α (۱٤،۱۳) ختم می‌شود.

از رویکردهای مختلفی برای افزایش نروتروفین‌ها در مغز استفاده شده است. با وجود این، تمرین ورزشی یک رویکرد غیر فارماکولوژی برای افزایش نروتروفین‌ها در مغز است. درحال حاضر، شواهدی وجود دارد که تمرینات مزمن شنا (۱)، دویدن روی نوارگردان (۱۵،۵)، ویل رانینگ (۱٦) نروتروفین‌ها را در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی و محیطی حیوانات نوجوان (۱۷)، بالغ و پیر (۱۹،۱۸) افزایش می‌دهند. به‌علاوه، نشان داده - شده که سطوح BDNF و GDNF متعاقب تمرین ورزشی روزانه و یک روز در میان (۲۰) افزایش می‌یابد. نیز، هر چه طول دوره‌ی دویدن بیشتر باشد، محتوای پروتئینی BDNF هیپوکامپ به طور فزاینده‌ای زیاد می‌شود (۲۰). همچنین، نشان داده شده که نروتروفین‌های مغز، متعاقب دوره‌های تمرینی طولانی‌مدت نیز افزایش می‌یابد (۱۵)، اما ۳، ۷ و ۱۵ روز دویدن تاثیری روی نروتروفین‌های هیپوکامپ موش‌های صحرایی ندارد (۲۱). به علاوه، نشان داده شده که دستاوردهای نروتروفینی با تمرین ورزشی متعاقب بی تمرینی نیز کاهش می‌یابد (۲۲).

همان طور که در بالا عنوان شد، H_2O_2 و TNF-α

نروتروفین‌ها را افزایش می‌دهند، اما اثراتشان روی نروتروفین‌ها در تعامل با تمرین ورزشی به طور کافی بررسی نشده است. در واقع، اگرچه تمرینات ورزشی موجب افزایش نروتروفین‌ها در مغز می‌شود، ولی ممکن است میزان این تغییر بسته به شدت و نوع تمرین ورزشی و تاثیر آن بر شاخص‌های فشار اکسایشی و پیش‌التهابی متفاوت باشد. از طرفی، ورزش‌هایی وجود دارند که با شدت بالا انجام می‌شوند و اثر تمرین تناوبی شدید به‌عنوان دو القاگر ویژه H_2O_2 و TNF-α روی سازگاری‌های نروتروفینی به طور کافی مشخص نشده است. نتایج مطالعه‌ی حاضر، دانش و فهم جدیدی را درباره‌ی سایر مکانیسم‌های احتمالی درگیر در افزایش سطوح نروتروفین‌های متعاقب تمرین ورزشی شدید فراهم خواهد آورد. به علاوه، در افراد مبتلا به بیماری‌های عصبی مانند آلزایمر، پارکینسون و هانتیگتون سطوح BDNF و GDNF پایین است (۶،۲). بنابراین، دستاوردهای مطالعه‌ی حاضر برای طراحی استراتژی‌های بالقوه برای پیشگیری از اختلالات فرسایش عصبی مهم خواهد بود. از این رو، هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی شدید روی نروتروفین‌های منتخب مغزی، پراکسید هیدروژن و عامل نکروزیس تومور آلفا در مغز موش‌های صحرایی است.

موادّ و روش‌ها

حیوانات

در تحقیق تجربی حاضر، شانزده موش صحرایی نر آلبینو ویستار (۳ ماهه و با وزن معادل ۲۸۰ گرم) از آزمایشگاه تکثیر و پرورش دانشگاه علوم پزشکی مشهد تدارک دیده شدند و سپس به دو گروه تمرین تناوبی شدید و کنترل تقسیم گردیدند. موش‌های صحرایی در اتاقی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی ـ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، نگهداری شدند، به گونه‌ای که موش‌ها، دسترسی آزاد به غذای استانداردِ موش صحرایی (شرکت جوانه‌ی خراسان، ایران) و آب را داشتند. همه حیوانات روزانه از لحاظ نشانه‌های ظاهری بالینی مورد بررسی قرار می‌گرفتند و در صورت هرگونه نشانه‌ی آسیب شناختی مشکوک و عدم تمایل به دویدن روی نوارگردان از مطالعه کنار گذاشته می‌شدند. فرایند آزمایشگاهی تحقیق حاضر براساس دستورالعمل‌های استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی؛ نشر NIH، با شماره‌ی ۸۶ـ۲۳، تجدید نظر ۱۹۹۶) در دانشگاه علوم پزشکی بیرجند اجرا شد.

پروتکل ورزشی

بعد از آشناسازی حیوانات با چگونگی دویدن روی نوارگردان (۵ روز، ۱۰ دقیقه روزانه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) (۲۳)، تمرین تناوبی شدید برای ۶ هفته، ۶ روز در هفته و با رعایت اصل اضافه بار اجرا شد (۲۴). تمرین تناوبی در روزهای زوج شامل ۳ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۶ متر در دقیقه، تناوب دویدن ۳ دقیقه‌ای با سرعت ۴۰ متر در دقیقه (۹۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max))، و ۳ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۶ متر در دقیقه بود. استراحت فعال بین هر تناوب ۶۰ ثانیه و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه انجام پذیرفت. برنامه تمرینی در ابتدا ۲ بار تکرار بود که تا هفته‌ی چهارم به ۶ بار تکرار افزایش یافت. سپس همین روال تا هفته‌ی ششم حفظ شد. تمرین تناوبی در روزهای فرد شامل ۳ دقیقه گرم‌کردن با سرعت ۱۶ متر در دقیقه، تناوب دویدن ۳۰ ثانیه‌ای با سرعت ۵۴ متر در دقیقه (۱۰۰ درصد VO_2max)، و ۳ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۶ متر در دقیقه بود. استراحت فعال بین هر تناوب ۶۰ ثانیه و با سرعت ۱۶ متر در دقیقه بود. برنامه‌ی تمرینی در ابتدا ۳ بار تکرار بود که تا هفته‌ی چهارم، به ۲۰ بار تکرار افزایش یافت. سپس همین روال تا هفته‌ی ششم حفظ شد (۲۴). با جریان الکتریکی در انتهای نوارگردان و با کشیدن آرام یک اسفنج، موش‌ها برای دویدن تحریک می‌شدند (۲۴).

موش‌های صحرایی گروه کنترل، روزانه به اتاق تمرین انتقال داده و در معرض محیط مشابه و در دوره‌ی زمانی معادل با گروه تمرینی بدونی که بدوند، روی نوارگردان قرار داده می‌شدند (۱۵).

آماده‌سازی بافت و ارزیابی بیوشیمیایی

به منظور جلوگیری از اثرات باقی‌مانده‌ی آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی ٤٨ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی، تحت شرایط بیهوشی (۱۵،۱) کشته شدند. بعد از تشریح، مغز با سرم فیزیولوژیک، شستشو و در دمای ۸۰ – درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری - شد. به منظور اندازه‌گیری همه‌ی شاخص‌ها از ناحیه‌ی یکسان و به خاطر توزیع متفاوت GDNF (۲۵) و BDNF در مغز (۲٦)، کل مغز برای ارزیابی‌های بیوشیمیایی انتخاب گردید (۱). در ادامه مغز توسط نیتروژن مایع پودر شد (۱۸) و به میکروتیوپ‌های حاوی بافت مغز بافر سالین فسفات ۱x (۱x PBS) و بازدارنده‌ی پروتئاز (با شماره‌ی کاتالوگ: GB_۳۲٦_۱، شرکت گولد بایو تکنولوژی، ایالات متحده آمریکا) اضافه شد. از کیت‌های تجاری الایزای ۹٦ تایی برای اندازه‌گیری سطوح پروتئین-های GDNF (با شماره‌ی کاتالوگ: CSB_E٠٤٥٦٦r، شرکت کازوبایو بایوتک، چین ـ آمریکا)، BDNF (با شماره‌ی کاتالوگ: CSB_E٠٤٥٠٤r، شرکت کازوبایو بایوتک، چین ـ آمریکا) و TNF-α (با شماره‌ی کاتالوگ: ٨٦٥,٠٠٠,٠٩٦، شرکت داياکلون، فرانسه) استفاده‌شد. حساسیت ارزیابی کیت‌های BDNF و GDNF کمتر از ۷/۸۱ پیکوگرم / میلی‌لیتر و کیت TNF-α کمتر از ۱۵ پیکوگرم / میلی‌لیتر بود. ارزیابی $H_۲O_۲$ مغز با کیت اسی کالیمتریک ۹٦ تایی $H_۲O_۲$ (با شماره‌ی کاتالوگ: BC٠٥_٩٦، شرکت بایوکور دیاگنوستیک، آلمان) و با حساسیّت برابر ۱۰ میکرومول به اجرا درآمد. در پایان، جذب GDNF، BDNF و TNF-α در ٤٥٠ نانومتر و $H_۲O_۲$ در ٥٤٦ نانومتر توسط الایزار ریدر انتوس ۲۰۲۰ (شرکت بایوکروم، انگلیس) قرائت شد.

ارزیابی آماری

داده‌ها با استفاده از بسته‌ی نرم‌افزاری آماری تجاری در دسترس (SPSS، نسخه‌ی ۱٦) مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. در ابتدا آزمون شاپیر ـ ویلک روی متغیرهای وابسته برای تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها انجام شد. از آزمون تی مستقل برای بررسی تفاوت متغیرهای وابسته بین دو گروه در سطح $p\leq ۰/۰۵$ استفاده - گردید. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شده‌اند.

یافته‌ها

نتایج آزمون شاپیر ـ ویلک توزیع طبیعی هر یک از متغیرهای وابسته را مشخص‌کرد. نتایج نشان داد که تمرین تناوبی شدید موجب افزایش سطوح $H_۲O_۲$ ($t_{۱۳}$=٦/٤٠٥ ،p<۰/۰۰۰۱) و افزایش محتوای پروتئینی TNF-α ($t_{۱۳}$=١٦/٠٥٠ ،p<۰/۰۰۰۱) مغز می‌شود (جدول ۱). در مورد نروتروفین‌ها نتایج نشان داد که تمرین تناوبی شدید، موجب افزایش محتوای پروتئینی BDNF ($t_{۱۳}$=۲۰/۳۷٦ ،p<۰/۰۰۰۱) و GDNF (p<۰/۰۰۰۱، $t_{۱۲}$=۱۸/٦٤٨) مغز می‌گردد (جدول ۱).

جدول ۱: آماره‌های توصیفی (میانگین و انحراف معیار) و استنباطی متغیرهای وابسته در دو گروه کنترل و تمرین تناوبی شدید

متغیر وابسته	گروه کنترل	گروه تمرین تناوبی شدید	p بین گروهی
$H_۲O_۲$ (میکرو مولار بر میلی گرم بافت)	۰/۵۹±۰/۱۰	*۱/۰۳±۰/۱۶	p<۰/۰۰۰۱
TNF-α (پیکوگرم بر میلی گرم بافت)	۱/۵۳±۰/۲٤	*۳/۷۲±۰/۲۷	p<۰/۰۰۰۱
BDNF (پیکوگرم بر میلی گرم بافت)	۱۳/۵۸±۱/٤٦	*۳۳/۷۹±۲/۲۳	p<۰/۰۰۰۱
GDNF (پیکوگرم بر میلی گرم بافت)	۹/۸۷±۱/۲۷	*۲۶/۶٤±۲	p<۰/۰۰۰۱

* بیانگر تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل متناظر ($p\leq ۰/۰۵$)

بحث

در مطالعه‌ی حیوانی حاضر نشان داده شد که تمرین تناوبی شدید، موجب افزایش معنادار سطوح H_2O_2 و افزایش محتوای TNF-α، BDNF و GDNF مغز موش-های صحرایی آلبینو ویستار می‌شود. به علاوه، سایر مطالعات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی مقاومت مغز را در برابر آسیب افزایش می‌دهد و فرآیندهای شناختی و حرکتی را بهبود می‌بخشد (۲۲،۱۴،۱۳،۱). بنابراین، به نظر می‌رسد که تمرین ورزشی شدید همانند سایر تمرینات ورزشی، از طریق افزایش محتوای نروتروفین‌ها در مغز نقش پیشگیرانه‌ای در برابر بیماری‌های نرولوژیکی مختلف مانند آلزایمر و پارکینسون داشته باشد.

تمرین تناوبی شدید موجب افزایش غلظت H_2O_2 مغز شد. نتایج این تحقیق همسو با نتایج مطالعه‌ی ژولیتا و همکاران (۲۰۰۶) است که عنوان کرده‌اند تمرین ورزشی شنا (۳۰ روز، ۵ روز در هفته، ۳۰ دقیقه روزانه، با شدت ۳ درصد وزن بدن) موجب ازدیاد تولید H_2O_2 میتوکندری هیپوکامپ و مخچه‌ی موش‌های صحرایی پیر می‌شود، اما این شدت تمرینی برای موش‌های صحرایی۴ ماهه پایین محسوب می‌شود و تغییری در سطوح H_2O_2 هیپوکامپ، کورتکس جمجه و مخچه رخ نمی‌دهد (۱۲). اکسیدان‌ها، تحت شرایط فیزیولوژیک و توسط منابع میتوکندریایی و NADPH اکسیداز در سلول‌های مختلفِ موجود در مغز، تولید شده و توسط زیر واحدهای سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به H_2O_2 تبدیل می‌شوند (۲۷،۳). تمرین ورزشی از طریق افزایش فعال‌سازی زنجیره‌ی انتقال الکترون میتوکندریایی (۳) و نیز از طریق افزایش جریان خون که موجب اعمال نیروی برشی بر سلول‌های اندوتلیال و متعاقباً فعال‌سازی NADPH اکسیداز (۲۸)، باعث تولید بیشتر رادیکال سوپراکسید نسبت به حالت استراحتی می-شود. به علاوه، تمرین ورزشی سطوح و فعالیت ایزوفرم-های SOD را در جایگاه‌های مختلف مغز افزایش می‌دهد (۱۵،۱۲) و همبستگی مثبت و معناداری بین فعالیت Mn-SOD و تولید H_2O_2 میتوکندری در کورتکس جمجمه‌ای و هیپوکامپ گزارش شده است (۱۲). برعکس، اگرچه H_2O_2 توسط دو آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز (CAT) ، به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود، ولی نشان داده شده که فعالیت GPx و CAT متعاقب تمرین ورزشی تغییر نمی‌کنند (۲۹). به طور کلی، به نظر می‌رسد که افزایش سطوح H_2O_2 مغز ناشی از تمرین ورزشی به خاطر فعال‌سازی بیشتر منابع تولید کننده (۲۹،۳) و افزایش فعالیت SOD (۱۵،۱۲) باشد.

نتایج برآمده از تحقیق حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با حداکثر توانایی موجب افزایش محتوای TNF-α مغز می‌شود. نتایج تحقیق حاضر همسو با یافته‌های گیو و همکاران (۲۰۰۸) است که شدت تمرین روی نوارگردان پروتکل تحقیقی آن‌ها بالاتر از ۸۰ درصد VO_2max بود (۱۳). برعکس، لیرا و همکاران (۲۰۱۱) عنوان کرده‌اند که تمرین ورزشی با ٦۰ تا ٦۵ درصد VO_2max تاثیری روی TNF-α هیپوتالاموس موش‌های صحرایی ندارد (۳۰). علاوه بر شدت تمرین، به نظر می‌رسد که حداقل زمان لازم برای افزایش محتوای TNF-α مغز بیش از یک هفته تمرین ورزشی باشد. زیرا دینگ و همکاران (۲۰۰۵) افزایش تدریجی در محتوای TNF-α مغز موش‌های صحرایی را تنها بعد از ۲ و ۳ هفته‌ی تمرین ورزشی روی نوارگردان گزارش کرده‌اند (١٤). به نظر می‌رسد افزایش TNF-α مغز ناشی از تمرین ورزشی به خاطر عبور TNF-α موجود در جریان خون سیستمی به داخل مغز (۸)، افزایش فعال‌سازی سلول‌های گلیا و آستروسیت‌ها (۳۱،۸)، افزایش پروتئین کموآترکتنت منوسایت (۱-MCP) (۳۲) و کاهش یا عدم تغییر در سطوح اینترلوکین ٦ (IL-٦) و اینترلوکین ۱۰ (IL-۱۰) در مغز باشد. زیرا نشان داده شده که سطوح بالای IL-٦ و IL-۱۰ توام با کاهش سطوح TNF-α است (۱۷).

تمرین تناوبی شدید روی نوارگردان، موجب افزایش محتوای نروتروفین درگیر در عملکرد حرکتی؛

یعنی GDNF مغز شد که همسو با نتایج برآمده از تحقیق لائو و همکاران (۲۰۱۱) و گروور و همکاران (۲۰۱۳) است که افزایش محتوای GDNF را در جسم مخطط و عصب سیاتیک به ترتیب متعاقب ۱۸ و ۱۲ هفته تمرین ورزشی با شدت متوسط گزارش کرده‌اند (۱۶،۱۵). برعکس، در دو مطالعه گزارش شده که ٤ هفته تمرین ورزشی با شدت پایین تا متوسط تاثیری روی محتوای پروتئینی جسم مخطط و جسم سیاه (٤) و محتوای GDNF ستون مهره‌ی کمری موش‌های صحرایی ندارد (۱۸) که احتمالاً به دلیل کوتاه‌تر بودن طول دوره‌ی تمرین ورزشی باشد. همچنین، همسو با سایر مطالعات (۱۹،۱) نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین تناوبی شدید، موجب افزایش محتوای نروتروفین درگیر در عملکرد حافظه؛ یعنی BDNF مغز می‌شود. برعکس، لزی و همکاران (۲۰۱۳) عدم تغییر در BDNF مغز را ناشی از شدتِ کم و پایین‌تر از آستانه‌ی لاکتات ٦ هفته تمرین ورزشی دویدن روی نوارگردان تفسیر کرده‌اند. زیرا لاکتات می‌تواند وارد مغز شود و روی فیزیولوژی مغز و تشکیل حافظه تاثیر بگذارد (۳۳). به علاوه، البک و همکاران (۲۰۰٦) بیان کرده‌اند که یادگیری ناشی از آزمون ماز موریس در هفته‌ی آخر دوره‌ی تمرینی دویدن روی نوارگردان و شدت پایین تمرین ورزشی، بیان نروتروفین BDNF در دو گروه کنترل و تمرین ورزشی را برابر کرده است (۳٤). در مورد این که افزایش وزن موش‌های صحرایی در تحقیق حاضر در افزایش محتوای نروتروفین-ها در مغز نقش داشته باشد، مشخص نیست، اما در یک مطالعه با کاهش وزن ناشی از بیش‌تمرینی افزایش محتوای BDNF در موش‌های صحرایی گزارش شده است (۱). همچنین، در مطالعه‌ی دیگری نشان داده‌شده که تمرین ورزشی ازطریق کاهش سطوح لپتین و درصد چربی بدنی افراد دارای اضافه وزن، موجب افزایش آزاد شدن BDNF مغزی می‌شود. زیرا لپتین اثرات بازدارنده روی بیان BDNF دارد (۳۵). مطالعات قبلی عوامل مختلفی ازجمله تغییرات در لاکتات (۳۳)، عامل رشدی شبه انسولین ۱ (IGF-۱) (۲۰،۱۹)، استروژن یا استرادیول (۱۹)، و کورتیکوسترون (۱۹،۱) را به عنوان مکانیسم‌های ناشی از تمرین ورزشی در افزایش نروتروفین‌ها در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی و محیطی در مدل‌های حیوانی مطرح ساخته‌اند.

در مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد که تمرین تناوبی شدید همسو با افزایش ۷۵ و ۱٤۳ درصدی سطوح H_2O_2 و TNF-α، به‌ترتیب موجب افزایش ۱٤۹ و ۱۷۰ درصدی محتوای BDNF و GDNF مغز می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که H_2O_2 و TNF-α از طریق فسفوریله کردن I-κB و نهایتاً انتقال زیر واحد p٦٥:p٥٠ کمپلکس فاکتور هسته‌ای κB (NF-κB) از سیتوپلاسم به هسته، موجب افزایش بیان GDNF و BDNF می‌شوند (۹،۸،۳). همچنین، شاخص‌های فشار اکسایشی و پیش التهابی، عنصر واکنشی پروتئین اتصالی cAMP (CREB) را فسفوریله و بیان BDNF را افزایش می‌دهند (۲۷،۳). در این راستا، د آلمیدا و همکاران (۲۰۱۳) افزایش همزمان در TNF-α و BDNF هیپوکامپ موش‌های صحرایی جوان متعاقب تمرین شدید گزارش کرده‌اند (۱۷). به علاوه، در یک مطالعه افزایش محتوای BDNF به التهاب مزمن ناشی از تمرین ورزشی نسبت داده شده است (۱). در پایان در دو مطالعه گزارش شده است که فشار اکسایشی ناشی از تمرین ورزشی در سازگاری‌های نروتروفینی در ناحیه گردنی نخاع موش‌های صحرایی (۳) و هیپوکامپ موش (۵) نقش دارد. مجموعه این شواهد مبین این هستند که تغییرات ایجاد شده در نروتروفین‌های مغز متعاقب تمرین تناوبی شدید در کنار سایر عوامل احتمالی دیگر ممکن است ناشی از افزایش عوامل پیش التهابی و فشار اکسایشی باشند زیرا سطوح نروتروفین‌ها و عوامل پیش التهابی و فشار اکسایشی افزایش مشابهی را متعاقب تمرین تناوبی شدید نشان دادند. با وجود این، شواهد مستقیمی که از این یافته حمایت کنند در دست نیست. از

این رو پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده مشارکت H_2O_2 و TNF-α در بیان نروتروفین‌ها از طریق مصرف مکمل‌های ضد اکسایشی و بلوکه کردن آنتی بادی متعاقب انواع مختلف تمرینات ورزشی مورد بررسی قرار گیرد.

به طور کلی، اجرای جلسات تمرینی به صورت تناوبی با حداکثر توانایی موجب افزایش محتوای BDNF و GDNF بافت مغز موش‌های صحرایی آلبینو ویستار می‌شود. همچنین، به نظر می‌رسد که H_2O_2 و TNF-α ناشی از تمرین تناوبی شدید در سازگارهای نروتروفینی ماحصل تمرین ورزشی نقش داشته باشند.

References

1. Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, et al. The effects of moderate-, strenuous- and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. Neurochem Int. 2005; 46(8): 635–40. PMID 15863241.
2. Zuccato C, Cattaneo E. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. Prog Neurobiol. 2007; 81(5-6): 294–330. PMID 17379385.
3. Siamilis S, Jakus J, Nyakas C, Costa A, Mihalik B, Falus A, et al. The effect of exercise and oxidant-antioxidant intervention on the levels of neurotrophins and free radicals in spinal cord of rats. Spinal Cord. 2009; 47(6): 453–7. PMID 18936770.
4. Wu SY, Wang TF, Yu L, Jen CJ, Chuang JI, Wu FS, et al. Running exercise protects the substantianigra dopaminergic neurons against inflammation-inducd degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. Brain Behav Immun. 2011; 25(1): 135–46. PMID 20851176.
5. Ma X, Hamadeh MJ, Christie BR, Foster JA, Tarnopolsky MA. Impact of treadmill running and sex on hippocampal neurogenesis in the mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. PLoS One. 2012; 7(4): e36048. PMID 22558322.
6. Sandhu JK, Gardaneh M, Iwasiow R, Lanthier P, Gangaraju S, Ribecco-Lutkiewicza M, et al. Astrocyte-secreted GDNF and glutathione antioxidant system protect neurons against 6 OHDA cytotoxicity. Neurobiol Dis. 2009; 33(3): 405–14. PMID 19118631.
7. Wang H, Ward N, Boswell M, Katz DM. Secretion of brain-derived neurotrophic factor from brain microvascular endothelial cells. Eur J Neurosci. 2006; 23(6): 1665–70. PMID 16553631.
8. FigieI I. Pro-inflammatory cytokine TNF-α as a neuroprotective agent in the brain. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2008; 68(4): 526-34. PMID 19112477.
9. Saha RN, Liu X, Pahan K. Up-regulation of BDNF in astrocytes by TNF-α: A case for the neuroprotective role of cytokine. J Neuroimmune Pharmacol. 2006; 1(3): 212–22. PMID 18040799.
10. Saavedra A, Baltazar G, Santos P, Carvaiho CM, Duarte EP. Selective injury to dopaminergic neurons up-regulates GDNF in substantianigra postnatal cell cultures: role of neuron-glia crosstalk. Neurobiol Dis. 2006; 23(3): 533-42. PMID 16766196.
11. Grimsholm O, Rantapää-Dahlqvist S, Dalen T, Forsgren S. BDNF in RA: downregulated in plasma following anti-TNF treatment but no correlation with inflammatory parameters. Clin Rheumatol. 2008; 27(10): 1289-97. PMID 18484150.
12. Jolitha AB, Subramanyam MVV, Asha Devi S. Modification by vitamin E and exercise of oxidative stress in regions of aging rat brain: Studies on superoxide dismutase isoenzymes and protein oxidation status. Exp Gerontol. 2006; 41(8): 753–63. PMID 16843630.
13. Guo M, Lin V, Davis W, Huang T, Carranza A, Sprague S, et al. Preischemic induction of TNF-alpha by physical exercise reduces blood-brain barrier dysfunction in stroke. J Cereb Blood Flow Metab. 2008; 28(8): 1422-30. PMID 18414498.
14. Ding YH, Young CN, Luan X, Li J, Rafols JA, Clark JC, et al. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. Acta Neuropathol. 2005; 109(3): 237–46. PMID 15616790.
15. Lau YS, Patki G, Das-Panja K, Le WD, Ahmad SO. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. Eur J Neurosci. 2011; 33(7): 1264–74. PMID 21375602.
16. Groover AL, Ryals JM, Guilford BL, Wilson NM, Christianson JA, Wright DE. Exercise-mediated improvements in painful neuropathy associated with prediabetes in mice. Pain. 2013; 154(12): 2658-67. PMID 23932909.
17. de Almeida AA, da Silva SG, Fernandes J, Peixinho-Pena LF, Scorza FA, Cavalheiro EA, Arida RM. Differential effects of exercise intensities in hippocampal BDNF, inflammatory cytokines and cell

proliferation in rats during the postnatal brain development. Neurosci Lett. 2013; 553:1–6. PMID 23958502.
18. McCullough MJ, Gyorkos AM, Spitsbergen JM. Short-term exercise increases GDNF protein levels in spinal cord of young and old rats. Neuroscience. 2013; 240: 258–68. PMID 23500094.
19. Marosi K, Felszeghy K, Mehra RD, Radak Z, Nyakas C. Are the neuroprotective effects of estradiol and physical exercise comparable during ageing in female rats? Biogerontology. 2012; 13(4): 413-27. PMID 22722983.
20. Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. Neuroscience. 2005; 133(3): 853-61. PMID 15896913.
21. Ferreira AF, Real CC, Rodrigues AC, Alves AS, Britto LR. Short-term, moderate exercise is capable of inducing structural, BDNF-independent hippocampal plasticity. Brain Res. 2011; 1425: 111-22. PMID 22035567.
22. Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. Neurochem Int. 2006; 49(4): 387–392. PMID 16564605.
23. Borzykh AA, Kuzmin IV, Mart'ianov AA, Borovik AS, Sharova AP, Tarasova OS, et al. Changes of rat respiratory and locomotory muscles during aerobic exercise training in continuous and interval regimens. Biofizika. 2012; 57(5): 880–7. PMID 23136783.
24. Chilibeck PD, Bell GJ, Farrar RP, Martin TP. Higher mitochondrial fatty acid oxidation following intermittent versus continuous endurance exercise training. Can J Physiol Pharmacol. 1998; 76(9): 891–4. PMID 10066139.
25. Saavedra A, Baltazar G, Duarte EP. Driving GDNF expression: The green and the red traffic lights. Prog Neurobiol. 2008; 86(3): 186–215. PMID 18824211.
26. Be´jot Y, Mossiat C, Giroud M, Prigent-Tessier A, Marie C. Circulating and brain BDNF levels in stroke rats. relevance to clinical studies. PloS One. 2011; 6(12): e29405. PMID 22195050.
27. Chan SHH, Wu CWJ, Chang AYW, Hsu KS, Chan JYH. Transcriptional upregulation of brain-derived neurotrophic factor in rostral ventrolateral medulla by angiotensin II significance in superoxide homeostasis and neural regulation of arterial pressure. Circ Res. 2010; 107(9): 1127-39. PMID 20814019.
28. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MO, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovasc Res. 2009; 81(4): 723–32. PMID 19047339.
29. Ozkaya YG, Agar A, Yargicoglu P, Hacioglu G, Bilmen-Sarikcioglu S, Ozen I, et al. The effect of exercise on brain antioxidant status of diabetic rats.Diabetes Metab. 2002; 28(5): 377-84. PMID 12461474.
30. Lira FS, Yamashita AS, Rosa JC, Tavares FL, Caperuto E, Carnevali LC Jr, et al. Hypothalamic inflammation is reversed by endurance training in anorectic-cachectic rats. Nutr Metab (Lond). 2011; 8(1): 60. PMID 21861927.
31. Kohman RA, Bhattacharya TK, Wojcik E, Rhodes JS. Exercise reduces activation of microglia isolated from hippocampus and brain of aged mice. J Neuroinflammation. 2013; 10: 114. PMID 24044641.
32. Gordon BT, McClellan J, Murphy EA, Carmichael MD, Davis JM. MCP-1 –/– mice show blunted inflammatory cytokine response and improved recovery following exercise-induced muscle damage. FASEB J. 2012; 26(3): 1142-51.
33. E L, Lu J, Burns JM, Swerdlow RH. Effect of exercise on mouse liver and brain bioenergetic infrastructures. Exp Physiol. 2013; 98(1): 207-19. PMID 22613742.
34. Albeck DS, Sano K, Prewitt GE, Dalton L. Mild forced treadmill exercise enhances spatial learning in the aged rat. Behav Brain Res. 2006; 168(2): 345–8. PMID 16388860.
35. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, Rasmussen P, Nordby P, Stallknecht B, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2010; 298(2): 372-7. PMID 19923361.
36. Ma X, Hamadeh MJ, Christie BR, Foster JA, Tarnopolsky MA. Impact of treadmill running and sex on hippocampal neurogenesis in the mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. PLoS One. 2012; 7(4): e36048. PMID 22558322.

The Effect of high intensity intermittent trainings on brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor levels in brain of rats

Hossein Taheri Chadorneshin.,
Ph.D Student in Exercise Physiology, University of Birjand, Birjand, Iran

Mohammad Esmail Afzalpour.,
Associate Professor, Department of Sport Biosciences, University of Birjand, Birjand, Iran.

Mohsen Foadoddini.,
Assisstant Professor, Atherosclerosis and Coronary Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Hossein Abtahi.,
Assisstant Professor, Department of Clinical Biochemistry, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.

Received:18/10/2014**, Revised:**15/11/2014**, Accepted:**06/12/2014

Corresponding Author:
Hossein Taheri Chadorneshin,
Ph.D Student in Exercise Physiology, University of Birjand, Birjand, Iran.
E-mail: kh.taheri_62@yahoo.com

Abstract

Background: Researches have showed that exercise trainings increase the brain-derived neurotrophic (BDNF) and glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) in the brain. In addition, hydrogen peroxide (H_2O_2) and tumor necrosis factor alpha (TNFα) increase protein content of BDNF and GDNF in vitro. However, there is insufficient information about the interactive effects of high intensity exercise training, H_2O_2, and TNFα on neurotrophins. Hence, in the present study, we investigated the effect of high intensity intermittent training on the content of BDNF, GDNF, H_2O_2 and TNFα in the brain of albino wistar rats.

Materials and methods: Sixteen albino wistar rats divided into control and high intensity intermittent training groups. High intensity intermittent training has carried out for 6 weeks with 95 to 100% of maximum oxygen consumption on treadmill. BDNF, GDNF and TNFα contents have measured by sandwich ELISA method and H_2O_2 concentration by colorimetric method by commercial kits. Data analyzed using Student's t-test, and $p \leq 0.05$ considered as statistically significant.

Results: High intensity intermittent training resulted in 75 and 143 percent increased in H_2O_2 ($p<0.0001$) and TNFα ($p<0.0001$) levels, which accordance with 149 and 170 percent increase in BDNF ($p<0.0001$) and GDNF ($p<0.0001$) content in the brain, respectively.

Conclusion: Overall, performance of training sessions as interval with maximum capacity resulting in increase of BDNF and GDNF content in brain of albino wistar rat and it seems H_2O_2 and TNFα influence on neurotrophins adaptation induced by high intensity intermittent training.

Keywords: *Neurotrophic factors, Stress oxidative, Pro-inflammatory factors, Exercise training.*