مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۱۸۵/هفته سوم خرداد ماه ۱۳۹۱
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۵

تأثیر تمرین اختیاری چرخ دوار و عصاره‌ی آلیوم پارادوکسیوم بر سطوح پروتئین تائوی مخچه‌ی رت‌های دیابتی القایی با آلوکسان

دکتر ضیاء فلاح محمدی[۱]، علی خضری[۲]، مجتبی ابراهیم‌زاده[۲]

چکیده

مقدمه: هدف از اجرای این پژوهش، بررسی ۶ هفته تمرین چرخ دوار و مصرف آنتی‌اکسیدان آلیوم پارادوکسیوم بر سطوح پروتئین تائوی مخچه‌ی رت‌های دیابتی القا شده با آلوکسان بود.

روش‌ها: برای این منظور ۴۲ سر رت نر با میانگین وزن ۵ ± ۲۳۵ گرم به طور تصادفی به شش گروه (شاهد، تمرین، تمرین–دیابت، شاهد–دیابت، آلیوم–دیابت، تمرین–آلیوم–دیابت) تقسیم شدند. دیابتی کردن رت‌ها توسط آلوکسان مونوهیدرات (۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) محلول در بافر سالین به صورت درون صفاقی انجام شد. سطوح پروتئین تائوی مخچه به روش ELISA اندازه‌گیری شد. داده‌ها به روش One way ANOVA و آزمون تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: عدم تغییر سطح تائوی فسفریله‌ی مخچه در نتیجه‌ی القای دیابت بود. تمرین اختیاری در گروه دیابت–تمرین تأثیر قابل توجهی روی سطح تائو در مخچه نداشت. آلیوم پارادوکسیوم سطوح پروتئین تائوی مخچه آزمودنی‌های دیابتی را به صورت معنی‌داری افزایش داد ($P < ۰/۰۲۵$)؛ به طوری که مقدار آن نسبت به گروه دیابت بالاتر بود. آلیوم پارادوکسیوم در مقایسه با تمرین اختیاری ($P < ۰/۰۰۱$) و نیز نسبت به ترکیب مصرف آلیوم پارادوکسیوم با تمرین اختیاری ($P < ۰/۰۰۱$)، سطح پروتئین تائوی مخچه‌ی رت‌های دیابتی را به مقدار قابل توجهی افزایش داد، اما بین مداخله‌ی تمرین اختیاری و ترکیب تمرین اختیاری و آلیوم پارادوکسیوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P = ۰/۹۴۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف عصاره‌ی آلیوم پارادوکسیوم موجب افزایش سطوح پروتئین تائوی فسفریله‌ی مخچه‌ی آزمودنی‌های دیابتی شد، اما تمرین اختیاری چرخ دوار به تنهایی و ترکیب تمرین اختیاری و آلیوم پارادوکسیوم موجب تغییر قابل توجه این شاخص نشد. در رابطه با آثار مثبت یا منفی ورزش اختیاری، انجام مطالعات بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: دیابت، پروتئین تائو، آلیوم پارادوکسیوم، تمرین اختیاری، رت

مقدمه

تائو (Tau protein)، یک پروتئین متصل به میکروتوبول می‌باشد. فسفوپروتئینی که به طور طبیعی حاوی ۳–۱ مول فسفات در هر مول پروتئین است. تائو یک پروتئین ساختاری و عملکردی است و برای اولین بار در تجمعات تارهای عصبی در بیماری آلزایمر یافت شد (۱).

از نظر ساختاری، پروتئین تائو در مغز انسان ۶ ایزوفرم دارد. از نظر عملکردی پروتئین تائو نقش مهمی در محافظت، ثبات و توسعه‌ی اتصال میکروتوبول‌ها و ساختار مورفولوژیکی طبیعی نورون‌ها دارد و در انتقال پیام در نورون‌ها با اهمیت است. پروتئین تائو جفت شدن میکروتوبول‌ها را در بافت طبیعی افزایش می‌دهد و مراحل فعال رشد و تجمع میکروتوبول‌ها را محدود می‌کند.

جهش ژن تائو باعث اتصال mRNA کاذب و تغییرات غیر طبیعی پس از ترجمه از قبیل هایپرفسفریله

[۱] دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[۲] کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر ضیاء فلاح محمدی
Email: ziafalm@yahoo.com

www.mui.ac.ir

شدن و همچنین ایجاد تعدادی از اختلالات تحلیل عصبی می‌شود که در مجموع به تائوپاتی معروف هستند. اطلاعات اخیر با دلایل قوی و روشنی نشان می‌دهند که فسفریله شدن تائو می‌تواند منجر به مرگ ناگهانی نورون‌ها شود. نمی‌توان نقش هایپرفسفریله شدن تائو را در آسیب‌های عصبی انکار کرد. از جمله آسیب‌های تائو می‌توان بیماری‌های آلزایمر، پارکینسون و مولتیپل اسکلروز را نام برد (۲).

ساز و کار احتمالی منجر شدن دیابت به هایپرفسفریلاسیون به این صورت است که کاهش متابولیسم گلوکز مغز به دلیل کمبود Glut1/3 و سایر دلایل احتمالی منجر به کاهش جریان مسیر بیوسنتز هگزوز آمین (Hexosamine biosynthesis pathway یا HBP) و بنابراین کاهش تولید UDP-GlcNAc (اوریدین دی‌فسفات N-β استیل گلوکزآمین) در نورون می‌شود. این فرایند موجب کاهش تائوی O-GlcNAcylation می‌گردد که به وسیله‌ی OGT (O-GlcNAc ترانسفراز) کاتالیز می‌شود. فعالیت این مسیر به وسیله‌ی سطح UDP-GlcNAc درون سلولی تنظیم می‌شود. از آن جایی که فسفریلاسیون تائو به طور معکوس به وسیله‌ی O-GlcNAcylation تنظیم می‌شود، کاهش مولکول O-GlcNAcylation همراه با تنظیم کاهشی PP-2A (پروتئین فسفاتاز2A) منجر به هایپرفسفریلاسیون غیر طبیعی تائو و در نهایت تحلیل عصبی و تشکیل تجمعات نوروفیبریلی (NFTs یا Neuro-fibrillary tangles) می‌شود (۳).

از طرف دیگر، فعالیت GSK-3 از طریق کاهش انسولین یا افزایش تولید Aβ، تنظیم افزایشی می‌شود. گلیکوژن سنتتاز- ۳ بتا (GSK-3β) در هایپرفسفریلاسیون غیر طبیعی تائو در مغز بیماران با تحلیل عصبی از همه مهم‌تر است (۴). GSK-3β غیر طبیعی در چندین بیماری همچون اختلالات روانی، سکته‌های مغزی، آسیب‌های ضربه‌ای به سر و به ویژه دیابت نوع ۲ مشارکت دارد (۵).

دیابت ملیتوس با تغییرات پاتولوژیک در بسیاری از اندام‌های محیطی نظیر چشم، کلیه و اعصاب محیطی همراه است، اما دستگاه عصبی مرکزی را نیز تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. به طور اختصاصی توانایی‌های یادگیری و حافظه در هر دو نوع دیابت دچار نقص می‌شوند. نیمرخ مشترک بیماری آلزایمر و دیابت ملیتوس تجمع آمیلوییید در اندام‌های هدف، آمیلوییید بتا و تائو در مغزهای آلزایمری و آمیلین در سلول‌های پانکراس می‌باشد (۶).

تاکنون مطالعات بسیار کمی به بررسی اثر ورزش بر فسفریلاسیون پروتئین تائو پرداخته‌اند. نتایج پژوهش‌های انجام شده، رابطه‌ی معنی‌داری بین تغییرات در پروتئین تائو و تمرین نشان داده‌اند. برخی از مطالعات کاهش پروتئین تائوی هایپرفسفریله را به دنبال ورزش گزارش کرده (۸-۷) و برخی عدم تغییر مقادیر آن را نشان داده‌اند (۱۰-۹).

ورزش مزمن وضعیت فعالیت انواع کینازهای تنظیم کننده‌ی فسفریلاسیون تائو و مسیر علامت‌دهی Wnt را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۱). علامت‌دهی Wnt یک مسیر کلیدی است که فعالیت GSK-3β را تنظیم می‌کند (۱۲). ورزش استقامتی مزمن سطوح تائوی هایپرفسفریله را به طور محسوسی کاهش می‌دهد و به موازات آن سطح تائوی دفسفریله را افزایش می‌دهد (۸-۷). به علاوه سطوح تائوی فسفریله وابسته به شدت ورزش می‌باشد (۱۳). ممکن است ورزش مزمن تشکیل تجمعات نوروفیبریلی را

www.mui.ac.ir

سرکوب کند. کاهش در تائوی هایپرفسفریله می‌تواند به دلیل مهار یا فعال‌سازی تائوکینازها شامل MAPKs، PKC، PI3K/AKT و PKA باشد. برآیند مجموع چنین تغییراتی عبارت از کاهش محسوس در تائوی هایپرفسفریله است. در نتیجه ورزش استقامتی مزمن سطوح کاهش یافته‌ی دستگاه آنتی‌اکسیدانی سلولی مغز رت تائوپاتی را تنظیم افزایشی می‌کند (۱۴).

Um و همکاران اثر حفاظتی تمرین روی نوار گردان را بر پروتئین‌های همبسته با مرگ سلول‌های نورونی در رت‌های آلزایمری مسن بررسی کردند. آزمودنی‌ها از سن ۲۴ ماهگی با سرعت ۱۲ متر در دقیقه، روزی ۶۰ دقیقه، پنج روز در هفته، به مدت سه ماه روی نوار گردان به تمرین پرداختند. تمرینات تردمیل موجب کاهش سطوح فسفریلاسیون تائو گردید. این نتایج به طور قوی پیشنهاد می‌کند که تمرینات نوار گردان یک پتانسیل درمانی برای مهار مسیرهای مرگ نورونی دارد و از این رو تمرینات روی تردمیل برای پیش‌گیری و درمان اختلالات تحلیل نورونی می‌تواند مفید باشد (۸).

بر خلاف نتایج مذکور Liang و همکاران در بررسی مطالعات پیشین پیرامون تأثیر ورزش روی مقادیر شاخص‌های بیوشیمیایی تحلیل عصبی، عدم تغییر سطوح این پروتئین‌ها را در نتیجه‌ی ورزش اختیاری چرخ دوار گزارش کردند (۱۰). به نظر می‌رسد انجام مطالعات بیشتر در خصوص اثر فعالیت ورزشی اختیاری در تبیین و توجیه تغییرات پروتئین تائو ناشی از تمرین و اثرات آن در بدن و به خصوص مغز مفید باشد. از طرف دیگر، آسیب اکسایشی علت رایج آپوپتوز (Apoptosis) یا مرگ سلولی است و یکی از نخستین حوادثی است که در آلزایمر رخ می‌دهد. گزارش شده است که آسیب اکسایشی همراه با پیشرفت بیماری و تشکیل تجمعات نوروفیبریلی کاهش می‌یابد. به علاوه فسفریلاسیون تائو هنگام استرس اکسایشی تنظیم افزایشی می‌شود و تائو به وسیله‌ی محصولات استرس اکسایشی شامل ۴-هیدروکسی۲-نوننال و سایر کربونیل‌های سمی تغییر می‌کند. تجمع تائو از طریق استرس اکسایشی تسهیل می‌شود و تغییرات ساختمانی تجمع را تحریک می‌کند (۱۵).

آلیوم پارادوکسیوم به دلیل داشتن فنول (Phenol) و ترکیبات فنولی مانند فلاوونویید (Flavonoid) دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد. افزایش سطح فلاوونویید در برنامه‌ی غذایی روزانه می‌تواند تأثیر بیماری‌های مرتبط با استرس اکسایشی را کاهش دهد. آلیوم پارادوکسیوم گیاهی از خانواده‌ی Liliaceae است که در مکان‌های غیر مسکونی و مرطوب رشد می‌کند. محل رویش این گیاه در مناطق مختلفی از جهان (شمال غربی بریتانیا و ترکمنستان) و از جمله در مناطق شمالی ایران (استان‌های مازندران، گلستان و خراسان شمالی) می‌باشد. نام محلی آن در شمال ایران، Alezi است و به عنوان گیاه وحشی در مناطق جنگلی مرتفع و اغلب در شیب رو به شمال می‌روید. در غذاهای محلی و مخصوص به عنوان طعم دهنده به سالادها و غذاهای پخته‌شده استفاده می‌گردد (۱۶).

تاکنون تأثیر مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی روی تائو مورد مطالعه قرار نگرفته است. مطالعه‌ی حاضر اولین تحقیقی است که اثرات مداخله‌ی ترکیبی آنتی‌اکسیدان آلیوم پارادوکسیوم و تمرین اختیاری در مخچه‌ی آزمودنی‌های دیابتی را مورد بررسی قرار داده است. بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر تمرین

www.mui.ac.ir

اختیاری و عصاره‌ی آلیوم پارادوکسیوم بر هایپرفسفریلاسیون تائوی رت‌های دیابتی القایی با آلوکسان بود.

روش‌ها

۴۲ سر رت نر نژاد ویستار بالغ، ۸ هفته‌ای با محدوده‌ی وزنی ۱ ± ۱۸۵ گرم، پس از همسان‌سازی وزنی به طور تصادفی در گروه‌های ۷ تایی قرار داده شدند. آزمودنی‌ها در گروه‌های شاهد سالم (C)، تمرین (T)، دیابت (CD)، دیابت و تمرین (DT)، دیابت و آلیوم (DA)، دیابت و آلیوم و تمرین (DAT) تقسیم گردیدند. رت‌ها در دمای محیطی ۲ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند و محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند. همه‌ی آزمایشات بر اساس خط مشی‌های پروتکل هلسینکی اجرا شد و توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه مازندران بررسی و تأیید گردید. دیابتی کردن رت‌ها به دنبال ۱۶ ساعت ناشتایی، طی یک بار تزریق آلوکسان (۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) محلول در سالین به صورت درون صفاقی انجام شد. ۵ روز پس از تزریق (۱۷)، از دم رت‌ها خون‌گیری به عمل آمد (۱۸) و غلظت گلوکز خون آن‌ها اندازه‌گیری شد. آن‌هایی که غلظت گلوکز خونشان بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود به عنوان دیابتی شناسایی شدند (۱۷).

اندازه‌گیری گلوکز توسط دستگاه تست قند خون اکیو چک (ACCU-CHEC Active) محصول شرکت آلمانی Roche Diagnostics انجام گرفت. گروه‌های تمرینی (۳ گروه در مجموع ۲۱ سر) در قفس‌های مجهز به چرخ دوار (ساخت دانشکده‌ی تربیت بدنی دانشگاه مازندران) به صورت انفرادی نگهداری شدند و به طور آزادانه به چرخ دوار دسترسی داشتند. این دستگاه مجهز به شماره انداز بود و مسافت پیموده شده در طی شبانه روز را نشان می‌داد. مسافت پیموده شده توسط هر یک از آزمودنی‌ها در راس ساعت مقرر در صبح هر روز توسط محقق یادداشت می‌شد. همچنین گروه‌های مصرف کننده‌ی عصاره‌ی آلیوم پارادوکسیوم، مقدار ۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن در روز آلیوم پارادوکسیوم را به صورت محلول در آب مقطر موجود در بطری‌های آب دریافت کردند (۱۹). این بطری‌ها هر روز توسط محقق دوباره تکمیل می‌گردیدند. عصاره‌ی آلیوم پارادوکسیوم در آزمایشگاه گروه زیست‌شناسی دانشگاه مازندران تلخیص گردید. مدت دوره‌ی تمرینات اختیاری و مکمل‌گیری آلیوم پارادوکسیوم ۶ هفته بود. در پایان دوره، آزمودنی‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم) و زایلازین (۶ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم) بیهوش شدند.

برای جمع‌آوری نمونه‌های مخچه، سر آزمودنی‌ها از ناحیه‌ی گردن توسط قیچی مخصوص جدا شد. ابتدا با استفاده از تیغ جراحی جمجمه شکافته شد و مغز با احتیاط خارج گردید. مخچه توسط تیغ جراحی از بقیه‌ی مغز جدا شد. بافت مخچه توسط نیتروژن مایع و در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منجمد گردید. پس از هموژنیزه کردن، بافت مغز در مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (۲۰). سپس مایع رویی برداشته شد و توسط نیتروژن مایع منجمد گردید و برای اندازه‌گیری‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. سطوح پروتئین تائوی هایپرفسفریله‌ی مخچه با کیت مخصوص اندازه‌گیری تائوی هایپرفسفریله به روش

www.mui.ac.ir

ELISE و بر اساس دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده‌ی کیت (Wuhan، چین) تعیین گردید. ضریب پراکندگی (CV) و حساسیت برآورد این روش به ترتیب ۶/۹ درصد و ۰/۰۷ نانوگرم در دسی‌لیتر بود. پس از جمع‌آوری داده‌های خام و برای مقایسه‌ی متغیرهای ۶ گروه، از آزمون Kolmogorov-Smirnov جهت بررسی طبیعی بودن داده‌ها و از آزمون One-way ANOVA و آزمون تعقیبی LSD برای بررسی تفاوت تائوی هایپرفسفریله بین گروه‌ها استفاده گردید. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc, Chicago, IL) انجام شد و مقادیر $P < ۰/۰۵$ به عنوان حداقل سطح معنی‌داری تفاوت میانگین‌ها در نظر گرفته شد. از برنامه‌ی اوریجین ۶۱ برای رسم نمودار استفاده گردید.

یافته‌ها

وزن آزمودنی‌های گروه دیابت نسبت به گروه شاهد (سالم) کاهش قابل توجهی نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). گروه تمرین و دیابت اندکی وزن بیشتری در مقایسه با گروه دیابت داشتند که تفاوت آن‌ها معنی‌دار نبود. از طرف دیگر، وزن گروه دیابت و آلیوم پارادوکسیوم نسبت به گروه‌های دیابت ($P < ۰/۰۰۱$)، تمرین و دیابت ($P < ۰/۰۰۱$) و دیابت و آلیوم و تمرین ($P < ۰/۰۰۱$) افزایش معنی‌داری پیدا کرد. القای دیابت از طریق تزریق آلوکسان موجب افزایش تائوی مخچه‌ی آزمودنی‌ها نشد ($P = ۰/۱۷۸$).

اجرای تمرین اختیاری روی چرخ دوار نیز نتوانست تغییر معنی‌داری در سطوح تائوی مخچه‌ی رت‌های دیابتی ایجاد نماید ($P = ۰/۱۷۶$). با این وجود، آلیوم پارادوکسیوم سطوح پروتئین تائوی مخچه‌ی آزمودنی‌های دیابتی را به صورت معنی‌داری افزایش داد ($P < ۰/۰۲۵$)؛ به طوری که مقدار آن نسبت به گروه دیابت بالاتر بود. آلیوم پارادوکسیوم در مقایسه با تمرین اختیاری ($P < ۰/۰۰۱$) و نیز نسبت به ترکیب مصرف آلیوم پارادوکسیوم با تمرین اختیاری ($P < ۰/۰۰۱$)، سطح پروتئین تائوی مخچه‌ی رت‌های دیابتی را به مقدار معنی‌داری افزایش داد، اما بین مداخله‌ی تمرین اختیاری و ترکیب تمرین اختیاری و آلیوم پارادوکسیوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P = ۰/۹۴۵$).

جدول ۱ نتایج مربوط به وزن، مسافت دویدن و مقدار تائو را در گروه‌های مورد مطالعه نشان داده است (نمودار ۱).

بحث

یک یافته‌ی این تحقیق عبارت از عدم تغییر معنی‌دار سطح پروتئین تائوی مخچه به دنبال دیابت القایی توسط تزریق آلوکسان در آزمودنی‌ها بود. در نتیجه به نظر می‌رسد دیابت تأثیر قابل توجهی بر هایپرفسفریلاسیون تائوی مخچه در رت‌های جوان نداشته است. این یافته با برخی از مطالعاتی که افزایش فسفریلاسیون تائو را در آزمودنی‌های دیابتی گزارش کرده‌اند، در تناقض می‌باشد (۲۱).

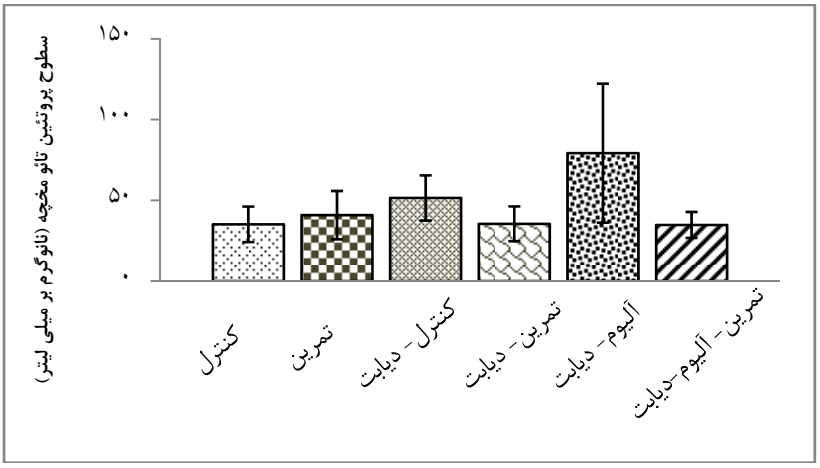
شاید کوتاه بودن طول مدت دوره‌ی مطالعه یکی از دلایلی باشد که تأثیر دیابت روی بافت مغز قابل ملاحظه نبوده است. ممکن است افزایش طول دوره تا ۱۲ هفته موجب بارزتر شدن آثار دیابت شود. از طرف دیگر، نتایج برخی از مطالعات نشان داده‌اند که H_2O_2 و برخی از اکسیدان‌ها، فسفریلاسیون تائو را کاهش می‌دهند.

www.mui.ac.ir

جدول ۱. مقادیر وزن، پروتئین تائوی مخچه و مسافت دویدن گروه‌های تحقیق در پایان دوره

گروه‌ها / متغیر	وزن در پایان پروتکل (گرم)	مقادیر تائوی مخچه (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	میانگین مسافت دویدن اختیاری روزانه روی چرخ دوار (متر)
شاهد	۳۴۸/۲۹ ± ۶/۶۵۱	۳۵/۱۱ ± ۱۱/۰۴	–
تمرین	۳۲۶/۱۴ ± ۳/۲۸۸	۴۰/۸۲ ± ۱۵/۰۷	۳۲۴۴ ± ۳۸۵/۵۷
دیابت	۲۳۱ ± ۵/۵۹۸	۵۱/۴۶ ± ۱۴/۳۳	–
دیابت و تمرین	۲۳۶/۴۳ ± ۲۴/۹۳۲	۳۵/۴۶ ± ۱۰/۷۷	۶۸۶/۱۹ ± ۹۷/۸۳
آلیوم و دیابت	۳۱۸/۵۷ ± ۳/۴۵۷	*۷۹/۲۱ ± ۴۳/۰۲	–
آلیوم و دیابت و تمرین	۲۳۳/۷۱ ± ۲۴/۹۳۱	۳۴/۷۵ ± ۸/۰۸	۶۵۰/۹۵ ± ۹۸/۲۵

*تفاوت معنی‌دار با گروه دیابت



نمودار ۱. تغییرات پروتئین تائوی مخچه در گروه‌های مورد مطالعه

از این رو به نظر می‌رسد که اکسیدان‌های اختصاصی می‌توانند افزایش و یا کاهش فسفریلاسیون تائو را القا نمایند که این تأثیر افزایشی یا کاهشی به خود اکسیدان‌ها بستگی دارد (۲۲). در نتیجه عدم افزایش فسفریلاسیون تائو در نتیجه‌ی القای دیابت را می‌توان بر این اساس توجیه نمود.

دومین یافته‌ی مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تمرین اختیاری چرخ دوار تأثیر معنی‌داری بر سطوح پروتئین تائوی مخچه‌ی رت‌های دیابتی نداشته است. این یافته با نتایج Leem و همکاران (۷)، Um و همکاران (۸)، ناهمسو بود و با نتیجه‌ی مطالعه‌ی Liang و همکاران (۱۰) مبنی بر عدم تغییر این مقادیر به دنبال تمرین اختیاری همخوانی داشت. سطوح تائوی فسفریله وابسته به شدت ورزش می‌باشد. ورزش مزمن ممکن است تشکیل تجمعات نوروفیبریلی را سرکوب کند. کاهش در تائوی هایپرفسفریله می‌تواند به دلیل مهار یا فعال‌سازی تائوکینازها شامل MAPKs، PKC، PI3K/AKT و PKA باشد. برآیند مجموع چنین تغییراتی کاهش محسوس در تائوی هایپرفسفریله است. در نتیجه ورزش استقامتی مزمن سطوح کاهش یافته‌ی دستگاه آنتی‌اکسیدانی سلولی مغز رت تائوپاتی را تنظیم افزایشی می‌کند.

بر خلاف ساز و کارهای پیشنهاد شده، مطالعه‌ی حاضر عدم تغییر مقادیر تائوی هایپرفسفریله را به

www.mui.ac.ir

دنبال ورزش اختیاری نشان داد. از آن جایی که در ورزش اختیاری شدت ورزش دستکاری نمی‌شود و این متغیر در اختیار خود آزمودنی است، بنابراین ممکن است شدت ورزش به اندازه‌ای نبوده است که بتواند هایپرفسفریلاسیون تائو را تغییر دهد.

از طرف دیگر، طول مدت تمرینات را نیز می‌توان به عنوان یک عامل مؤثر به شمار آورد. دوره‌ی تمرین در مطالعاتی که ورزش اختیاری (و همچنین اجباری) را در ایجاد پاسخ تائوی فسفریله مؤثر دانسته‌اند، بیشتر از تحقیق حاضر بوده است. همچنین به دنبال ۶ هفته ورزش اختیاری چرخ دوار همراه با مصرف آنتی‌اکسیدان آلیوم پارادوکسیوم سطوح پروتئین تائوی مخچه‌ی آزمودنی‌های دیابتی تغییر معنی‌داری نشان نداد. با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای یافت نشده است که به بررسی تأثیر ترکیبی ورزش اختیاری و مصرف آلیوم پارادوکسیوم روی سطوح تائوی هایپرفسفریله پرداخته باشد، بنابراین بحث و بررسی و تفسیر نتیجه‌ی حاصل شده مبنی بر عدم تغییر این پروتئین را با دشواری روبه‌رو می‌سازد.

با این حال مصرف آلیوم پارادوکسیوم به تنهایی موجب افزایش هایپرفسفریلاسیون تائو در مخچه‌ی رت‌های دیابتی شد. در تنها مقاله‌ای که در رابطه با آثار آنتی‌اکسیدان بر هایپرفسفریلاسیون تائو انجام شد، مشخص گردید که القای آنتی‌اکسیدان سلولی و بیان تائو می‌تواند آثار حفاظت سلولی در مقابل آپوپتوز داشته باشد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که کاهش آسیب اکسایشی در نورون‌ها می‌تواند نشان دهنده‌ی تجمع تائو در نتیجه‌ی عملکرد مستقیم آنتی‌اکسیدانی تائوی فسفریله باشد.

برخی از مطالعات جدید نشان داده‌اند که هایپرفسفریلاسیون موقتی یا حاد تائو می‌تواند نقش حفاظتی برای نورون‌ها داشته باشد (۲۳). از این رو پیشنهاد شده است که وجود تجمعات نوروفیبریلی در بیماری آلزایمر برای حفاظت از عناصر سلولی در مقابل حمله‌ی گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) حیاتی است (۲۴). این یافته‌ها نشان می‌دهند که تشکیل تجمعات نوروفیبریلی می‌تواند نمایانگر یک پاسخ جبرانی با هدف کاهش آسیب ناشی از ROS باشد.

در برخی از آزمایش‌ها، نورون‌های جنینی که تائوی فسفریله بیشتری داشتند، در مقایسه با نورون‌هایی که تائوی فسفریله کمتری داشتند، پس از تیمار با اکسیدان‌ها زنده ماندند. این یافته از نقش حفاظتی تائوی هایپرفسفریله در مقابل مرگ سلولی حمایت می‌کند (۲۲).

مشارکت تائو در حیات سلولی نورون‌های گرانول مخچه مشاهده شده است (۲۵). از این رو تنظیم فسفریلاسیون تائو در مغز پستانداران بالغ به ظاهر نمایانگر یک فرایند طبیعی است که با مکانیسم‌های حفاظت عصبی مرتبط است (۲۶).

پیشنهاد شده است که مرگ سلولی می‌تواند نقش مهمی در تحلیل نورونی در بیماری آلزایمر داشته باشد. این پیشنهاد تا حد زیادی بر اساس مشاهدات بیان پروتئین‌های علامت‌دهی مرگ سلولی کاسپاس‌های ۳، ۶، ۸ و ۹ (از خانواده‌ی سیستئین پروتئازها که نقش مهمی در آپوپتوز، نکروز و التهاب دارند) در نئوکورتکس و هیپوکامپ نمونه‌های مغز آلزایمری، مطرح شده است (۲۷). همچنین آمیلوئید بتا (Aβ) می‌تواند مرگ سلولی نورونی را القا کند. البته مرگ سلولی یک فرایند حاد است که به طور معمول طی چند ساعت روی می‌دهد، در حالی که اکثر نورون‌های

www.mui.ac.ir

متحمل پیچش (Neurofibrillary tangles) در مغز، انحطاط مزمن را تجربه می‌کنند که سال‌ها توسعه می‌یابند (۲۸). محیط مغز به هنگام انحطاط، غنی از محرک‌های آپوپتوزی نظیر استرس اکسایشی اکسیدان‌های هیدروکسی‌نونال و Aβ است (۲۹).

با توجه به این که نورون‌های تحلیل رفته در مغز آلزایمری دارای تجمعات نوروفیبریلی هستند که به طور عمده از تائوی هایپرفسفریله تشکیل شده است گمان می‌رود که هایپرفسفریلاسیون تائو می‌تواند در هدایت نورون‌ها برای فرار از آپوپتوز حاد ایفای نقش کند. بر این اساس مشاهده شد که فرایند هایپرفسفریلاسیون تائو می‌تواند سلول‌ها را از آپوپتوز برهاند و احتمال دارد فسفریلاسیون رقابتی بتاکاتنین (پروتئین نماینده‌ی حیات سلول) را به وسیله‌ی GSK-3β مهار کند و از این رو عملکرد بتاکاتنین را تسهیل کند (۱).

با همین مکانیزم، هایپرفسفریلاسیون تائو می‌تواند پروتئین‌های تنظیمی حیات سلولی را نجات دهد و در مقابل آپوپتوز مقاومت کند. این امر می‌تواند توجیهی باشد که چرا اکثر نورون‌های تجمع‌یافته، از آپوپتوز نجات پیدا می‌کنند و مرگ مزمن انحطاطی را انتخاب می‌کنند. هایپرفسفریلاسیون تائو به وسیله‌ی ابقای پروتئین‌های تحریک‌کننده‌ی حیات سلولی در مقابل آپوپتوز مقاومت می‌کند. هایپرفسفریلاسیون تائو می‌تواند از طریق مکانیزم‌های دیگر نیز در مقابل آپوپتوز مقاومت کند (۲۳).

مزیت اصلی فرار نورون‌ها از آپوپتوز، پیش‌گیری از تحلیل سریع نورونی می‌باشد، زیرا نورون‌ها در مغز به ویژه در مغز سالمند به ندرت جایگزین می‌شوند. به نظر می‌رسد که هایپرفسفریلاسیون تائو می‌تواند نورون‌ها را برای فرار از آپوپتوز رهبری کند و بنابراین از آپوپتوز اکثریت نورون‌ها پیش‌گیری کند. این نورون‌ها می‌توانند شانس خودترمیمی داشته باشند. البته آپوپتوز در واقع یک مکانیزم خود کنترلی بدن برای حذف سلول‌های ناقص است. دفع نورون‌های آسیب‌دیده می‌تواند برای مغز مفید باشد؛ چرا که این عمل می‌تواند از انتقال بین نورونی سیگنال‌های غیر طبیعی از نورون‌های بیمار پیشگیری نماید. در مجموع به نظر می‌رسد که هایپرفسفریلاسیون تائو می‌تواند یک نقش دوگانه در هدایت سلول‌ها به طرف فرار از آپوپتوز و ورود به انحطاط ایفا نماید.

به عبارت دیگر در کوتاه مدت هایپرفسفریلاسیون تائو نورون‌ها را در مقابل آپوپتوز مقاوم‌تر می‌کند، در حالی که هایپرفسفریلاسیون- تجمع تائو در دراز مدت موجب تحلیل عصب می‌شود. از این رو تشکیل تجمعات نوروفیبریلی در مغز بیماران آلزایمری می‌تواند یک فرایند پاتولوژیک رایج ناشی از توانایی نورون‌ها برای فرار از مرگ حاد آپوپتوز و ورود به مسیر طولانی مرگ انحطاطی باشد (۲۳).

به طور کلی به نظر می‌رسد آلیوم پارادوکسیوم در نقش آنتی‌اکسیدان موجب افزایش پروتئین تائوی هایپرفسفریله در مخچه‌ی رت‌های دیابتی شد. این افزایش ممکن است برای پیش‌گیری از آپوپتوز سلول‌های مخچه در نتیجه‌ی آثار تحلیل برنده‌ی نورون‌های عصبی مفید باشد.

از طرف دیگر، ورزش اختیاری همراه با مصرف آلیوم پارادوکسیوم تغییر معنی‌داری در سطوح هایپرفسفریلاسیون تائو ایجاد نکرد که شاید به دلیل پایین بودن شدت ورزش بوده است. از این رو، برای درک بیشتر تأثیر تمرینات ورزشی همراه با مصرف مکمل

www.mui.ac.ir

آنتی‌اکسیدان روی سطوح تـائوی هایپرفسـفریله نیـاز بـه تحقیقات بیشتر و دستکاری متغیرهـای تمرینـی (دوره‌ی تمرینی طولانی‌تر و شـدت بیشـتر بـا اسـتفاده از ورزش اجباری) و دوزهای مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تـا از زحمـات جنـاب آقای دکتر هدایتی که اندازه‌گیری مقدار پروتئین تـائو را بر عهده داشتند، تشکر نمایند.

References

1. Li HL, Wang HH, Liu SJ, Deng YQ, Zhang YJ, Tian Q, et al. Phosphorylation of tau antagonizes apoptosis by stabilizing beta-catenin, a mechanism involved in Alzheimer's neurodegeneration. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(9): 3591-6.
2. Liu SJ, Wang JZ. Alzheimer-like tau phosphorylation induced by wortmannin in vivo and its attenuation by melatonin. Acta Pharmacol Sin 2002; 23(2): 183-7.
3. Liu F, Shi J, Tanimukai H, Gu J, Gu J, Grundke-Iqbal I, et al. Reduced O-GlcNAcylation links lower brain glucose metabolism and tau pathology in Alzheimer's disease. Brain 2009; 132(Pt 7): 1820-32.
4. Liu SJ, Zhang JY, Li HL, Fang ZY, Wang Q, Deng HM, et al. Tau becomes a more favorable substrate for GSK-3 when it is prephosphorylated by PKA in rat brain. J Biol Chem 2004; 279(48): 50078-88.
5. Bhat RV, Budd Haeberlein SL, Avila J. Glycogen synthase kinase 3: a drug target for CNS therapies. J Neurochem 2004; 89(6): 1313-7.
6. Ke YD, Delerue F, Gladbach A, Gotz J, Ittner LM. Experimental diabetes mellitus exacerbates tau pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. PLoS One 2009; 4(11): e7917.
7. Leem YH, Lim HJ, Shim SB, Cho JY, Kim BS, Han PL. Repression of tau hyperphosphorylation by chronic endurance exercise in aged transgenic mouse model of tauopathies. J Neurosci Res 2009; 87(11): 2561-70.
8. Um HS, Kang EB, Leem YH, Cho IH, Yang CH, Chae KR, et al. Exercise training acts as a therapeutic strategy for reduction of the pathogenic phenotypes for Alzheimer's disease in an NSE/APPsw-transgenic model. Int J Mol Med 2008; 22(4): 529-39.
9. Pietropaolo S, Sun Y, Li R, Brana C, Feldon J, Yee BK. The impact of voluntary exercise on mental health in rodents: a neuroplasticity perspective. Behav Brain Res 2008; 192(1): 42-60.
10. Liang KY, Mintun MA, Fagan AM, Goate AM, Bugg JM, Holtzman DM, et al. Exercise and Alzheimer's disease biomarkers in cognitively normal older adults. Ann Neurol 2010; 68(3): 311-8.
11. Alkon DL, Sun MK, Nelson TJ. PKC signaling deficits: a mechanistic hypothesis for the origins of Alzheimer's disease. Trends Pharmacol Sci 2007; 28(2): 51-60.
12. Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A. WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies. Nat Rev Genet 2004; 5(9): 691-701.
13. Richter H, Ambree O, Lewejohann L, Herring A, Keyvani K, Paulus W, et al. Wheel-running in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: protection or symptom? Behav Brain Res 2008; 190(1): 74-84.
14. Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A, Balraj EK, et al. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. J Neuropathol Exp Neurol 2001; 60(8): 759-67.
15. Gomez-Ramos A, Diaz-Nido J, Smith MA, Perry G, Avila J. Effect of the lipid peroxidation product acrolein on tau phosphorylation in neural cells. J Neurosci Res 2003; 71(6): 863-70.
16. Ebrahimzadeh MA. Antihemolytic and antioxidant activities of Allium paradoxum. Central European journal of biology 2010; 5(3): 338-45.
17. Sharma VK, Kumar S, Patel HJ, Hugar S. Hypoglycemic activity of ficus glomerata in alloxan induced diabetic rats. IJPSRR 2010; 1(2): 18-22.
18. Gimenez-Llort L, Garcia Y, Buccieri K, Revilla S, Sunol C, Cristofol R, et al. Gender-Specific Neuroimmunoendocrine Response to Treadmill Exercise in 3xTg-AD Mice. Int J Alzheimers Dis 2010; 2010: 128354.
19. Nabavi SF, Nabavi SM, Moghaddam AH, Naqinezhad A, Bigdellou R, Mohammadzadeh S. Protective effects of Allium paradoxum against gentamicin-induced nephrotoxicity in mice. Food Funct 2012; 3(1): 28-9.
20. Qu Z, Jiao Z, Sun X, Zhao Y, Ren J, Xu G. Effects of streptozotocin-induced diabetes on tau phosphorylation in the rat brain. Brain Res 2011; 1383: 300-6.
21. Qu ZS, Tian Q, Zhou XW, Wang Q, Zhang Q, Wang JZ. Mechanism of tau hyperphosphorylation in brain cortex of diabetic rats and effect of LiCl. Zhongguo Yi Xue Ke

www.mui.ac.ir

Xue Yuan Xue Bao 2006; 28(2): 244-8.
22. Ekinci FJ, Shea TB. Phosphorylation of tau alters its association with the plasma membrane. Cell Mol Neurobiol 2000; 20(4): 497-508.
23. Wang JZ, Liu F. Microtubule-associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. Prog Neurobiol 2008; 85(2): 148-75.
24. Smith MA, Casadesus G, Joseph JA, Perry G. Amyloid-beta and tau serve antioxidant functions in the aging and Alzheimer brain. Free Radic Biol Med 2002; 33(9): 1194-9.
25. Amadoro G, Serafino AL, Barbato C, Ciotti MT, Sacco A, Calissano P, et al. Role of N-terminal tau domain integrity on the survival of cerebellar granule neurons. Cell Death Differ 2004; 11(2): 217-30.
26. Arendt T, Stieler J, Strijkstra AM, Hut RA, Rudiger J, Van der Zee EA, et al. Reversible paired helical filament-like phosphorylation of tau is an adaptive process associated with neuronal plasticity in hibernating animals. J Neurosci 2003; 23(18): 6972-81.
27. Guo H, Albrecht S, Bourdeau M, Petzke T, Bergeron C, LeBlanc AC. Active caspase-6 and caspase-6-cleaved tau in neuropil threads, neuritic plaques, and neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. Am J Pathol 2004; 165(2):523-31.
28. Coleman PD, Yao PJ. Synaptic slaughter in Alzheimer's disease. Neurobiol Aging 2003; 24(8): 1023-7.
29. Hardy J. Has the amyloid cascade hypothesis for Alzheimer’s disease been proved? Curr. Alzheimer Res 2006; 3(1): 71–3.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 30, No 185, 3rd week, June 2012 Received: 10.1.2012 Accepted: 15.3.2012

The Effects of Voluntary Exercise on a Running Wheel and Allium Paradoxum on Tau Protein in the Cerebellum of Diabetic Rats

Ziya Fallah Mohammadi PhD[1], Ali Khezri MSc[2], Mojtaba Ebrahimzadeh MSc[2]

Abstract

Background: In this study, we evaluated the effects of 6 weeks of voluntary exercise on a running wheel and allium paradoxum on tau protein in the cerebellum of diabetic rats.

Methods: After obtaining 42 adult male Wistar rats (8 weeks old), they were divided into control, diabetic, training, training-diabetic**,** training-diabetic-antioxidant, and diabetic-antioxidant groups. To induce diabetes, 120 mg/kg of alloxan (dissolved in saline) was intraperitoneally administered. Tau protein levels in the cerebellum tissue were evaluated using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. Data was analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and least significant different (LSD) post-hoc test.

Findings: Induction of diabetes caused no significant changes in tau protein levels in the cerebellum. Allium paradoxum significantly increased tau protein levels in diabetic rats (P = 0.025). Moreover, receiving allium paradoxum resulted in significantly higher amounts of tau protein compared to voluntary exercise (P = 0.001) and the combination of antioxidant and exercise (P = 0.001). However, the training-diabetic and training-diabetic-antioxidant groups were not significantly different (P = 0.945).

Conclusion: The results of this research showed that alloxan-induced diabetes does not alter the tau protein levels in cerebellum. In response to voluntary exercise on running wheel, tau protein content of the cerebellum did not significantly change. Allium paradoxum increased phosphorylated tau in cerebellum of diabetic rats. However, more studies are required to determine beneficial effects of physical exercise on tau phosphorylation.

Keywords: Diabetes, Cerebellar tau protein, Allium paradoxum, Voluntary training, Rats

[1] Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sports Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran
[2] Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sports Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran
Corresponding Author: Ziya Fallah Mohammadi PhD, Email: ziafalm@yahoo.com