

Relation of telomere length and apoptosis in the hippocampus of Alzheimer's male rats after twelve weeks of combined exercise

Leila Vesaliakbarpour¹, Ali Heidarianpour^{1*}

¹Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 14 Oct 2023
Accepted: 21 Nov 2023
ePublished: 12 Oct 2024

Keywords:

- Alzheimer's
- Telomere length
- Apoptosis
- Exercise training

Abstract

Background. Apoptosis of the nerve tissue, especially the hippocampus, has been introduced as one of the potential causes of neurological diseases such as Alzheimer's disease, and it may be related to telomere length. In addition, exercise affects various aspects of nerve cell activity and may prevent their death. Based on this, the aim of this study was to investigate the relationship between telomere length and apoptosis of hippocampal neurons after 12 weeks of combined exercise in Alzheimer's rats.

Methods. Overall, 35 male Wistar rats (weight 174±22g) were divided into control, Alzheimer's, aerobic, resistance, and combined groups, each including 7 animals. Alzheimer's was induced, and 8 mg/kg of trimethyltin was injected intraperitoneally. The groups of training were implemented for 12 weeks/5 days a week. After anesthetizing and perfusing the rats, the hippocampal tissue was isolated, and a real-time polymerase chain reaction was used to measure gene expression using the Master-mix Ampliqon and Synaclon DNA synthesis kit. Differences were determined by a one-way analysis of variance, and groups were compared by using Tukey's post hoc test ($P \leq 0.05$).

Results. Overall, 35 male Wistar rats (weight 174±22g) were divided into control, Alzheimer's, aerobic, resistance, and combined groups, each including 7 animals. Alzheimer's was induced, and 8 mg/kg of trimethyltin was injected intraperitoneally. The groups of training were implemented for 12 weeks/5 days a week. After anesthetizing and perfusing the rats, the hippocampal tissue was isolated, and a real-time polymerase chain reaction was used to measure gene expression using the Master-mix Ampliqon and Synaclon DNA synthesis kit. Differences were determined by a one-way analysis of variance, and groups were compared by using Tukey's post hoc test ($P < 0.05$).

Conclusion. It seems that performing combined exercise (swimming and resistance) is effective in improving the telomere length and decreasing the apoptosis of Alzheimer's rats' hippocampus.

Practical Implications. Performing combined sports activities (aerobic and strength) effectively improves telomeres while reducing neuron apoptosis.

How to cite this article: Vesaliakbarpour L, Heidarianpour A. Relation of telomere length and apoptosis in the hippocampus of Alzheimer's male rats after twelve weeks of combined exercise. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2024; 46(5):500-511. doi:10.34172/mj.2024.052. Persian.

*Corresponding author; Email: a.heidarianpour@basu.ac.ir

© 2024 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Background

One of the most important neuronal death processes, apoptosis, ultimately leads to the onset of Alzheimer's disease (AD), which is characterized by severe atrophy of the brain tissue. To initiate apoptotic cascades, amyloid beta (A β) has been found to alter pro- and anti-apoptotic proteins, such as increasing Bax and decreasing Bcl2 expressions. Exercise training of the right intensity can also decrease proapoptotic Bax signs in the rat brain's hippocampus tissue by decreasing oxidative stress, reducing inflammation, and raising the anti-apoptotic protein Bcl-2 expression. The telomerase enzyme is responsible for maintaining the telomere length (TL), and its main subunit is the TERT, which maintains the TL by adding TTAGGG repeats at the end of the telomeres. According to reports, TL was shorter in the cerebellum of AD patients compared to healthy controls. While strength training failed to improve telomerase activity and maintain TL, endurance and high-intensity exercises hit the points successfully.

Methods

This study was conducted on 35 male Wistar rats (174 \pm 22 g), which were randomly divided into 5 groups (n=7), including healthy control, Alzheimer's, aerobic training, resistance training, and combined training. For the induction of AD, trimethyltin was injected intraperitoneally at 8 mg/kg. The animals were then kept in standard conditions with free access to food and water. The swimming training was performed 5 days/week for 12 weeks, and the duration was progressively increased from 10 minutes to approximately 60 minutes per day upon the ninth week. Two 1-hour sessions were conducted every day from weeks 10 to 12. The rats in the resistance groups were trained 5 days per week for 12 weeks with a weight attached to their tails, and they had to lift this weight while climbing up a 26-step, 1-meter-long ladder. The initial weight was 40% of a rat's body weight, which was gradually increased up to 150% of the rat's body weight (The weights increased weekly by 10%). The rats in the combined training groups performed swimming

(three days per week) and resistance (two days per week) training according to the aerobic and resistance training protocols. After anesthetizing and perfusing the rats, the hippocampal tissue was isolated, and real-time polymerase chain reaction was utilized to measure gene expression by the Mastermix Ampliqon and Synaclone DNA synthesis kit. All reactions were performed in triplicates, and the fold change level of gene expression was analyzed according to the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. The housekeeping gene beta-actin was used as the internal control gene. All data were expressed as the means \pm standard error of the mean and analyzed using one-way variance with post-hoc Tukey's test in SPSS 25, and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The induction of Alzheimer's decreased the expression values of the Bcl2 gene by 12.3%, and there was a significant increase in the expression values of TERT by 20.8% and the Bax/Bcl2 expression ratio by 22.7% in the Alzheimer's group compared to the healthy control group ($P=0.001$). After 12 weeks of exercise training, a significant decrease was found in the Bax gene in the aerobic group (15.98%), the resistance group (10.56%), and the combined group (11.77%) compared to the Alzheimer's group. Moreover, the Bax/Bcl2 expression ratio significantly decreased in the aerobic group (25.75%) and the combined group (23.06%) in comparison to the Alzheimer's group. Based on the results, the expression value of the Bcl2 gene significantly increased in the aerobic group (12.31%), the resistance group (11.17%), and the combined group (14.02%) compared to the Alzheimer's group. Finally, with 12 weeks of combined training, the gene value of TERT increased by 8.28% compared to the Alzheimer's group ($P=0.001$). Investigating the correlation between apoptosis genes and telomere, Pearson's test revealed that there was no significant correlation between TERT gene expression and apoptosis genes, while with an increase in Bcl-2 gene expression, a significant decrease was observed in Bax gene

expression ($P=0.01$) and Bax/Bcl-2 expression ratio ($P=0.001$).

Conclusion

In the early stages of AD, the cerebral cortex and hippocampus both had a substantial number of apoptotic neurons. As neurons are lost more frequently with aging, the apoptosis of neuronal cells eventually results in the development of AD, and *Bcl-2* is a survival factor that may stop both necrotic and apoptotic cell death. Accordingly, Um et al demonstrated that Bcl-2 expression levels were increased, and Bax expression levels were boosted in

the brain tissue of mice with AD after 16 weeks of training. In a previous study, exercise increased Bcl-2 expression, decreased Bax expression levels, and prevented apoptosis in the rat hippocampus, likely by activating the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/glycogen synthase kinase 3 pathway. Additionally, in the hippocampus, exercise reduced the Bax/Bcl-2 expression ratio and elevated caspase-3 expression. The fundamental processes driving these effects are yet unknown. However, resistant training may be a means to protect the brain and maintain healthy cognition with aging, whereas aerobic exercise may alter intracellular pathways.

ارتباط طول تلومر و آپوپتوز نورون‌های هیپوکمپ موش‌های نر آلازایمری، پس از ۱۲ هفته ورزش ترکیبی

لیلا وصالی اکبرپور^۱، علی حیدریان‌پور^{۱*}

اگره فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

زمینه. آپوپتوز بافت عصبی به‌ویژه هیپوکمپ به‌عنوان یکی از علل بالقوه بیماری‌های عصبی مانند بیماری آلازایمر معرفی شده است و ممکن است با طول تلومر ارتباط داشته باشد. بر این اساس، هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط طول تلومر و آپوپتوز نورون‌های هیپوکمپ پس از ۱۲ هفته ورزش ترکیبی در موش‌های آلازایمری بود.

روش کار. تعداد ۳۵ سر موش نر نژاد صحرایی (۲۲±۱۷۴ گرم) به‌صورت تصادفی به پنج گروه (هفت‌تایی) کنترل، آلازایمری، تمرین هوازی، قدرتی و ترکیبی تقسیم شدند. القاء آلازایمر توسط تزریق درون صفاقی تری‌متیل‌تین‌کلراید (هشت میلی‌گرم/کیلوگرم) بود. گروه‌های تمرین به مدت ۱۲ هفته و پنج روز در هفته تمرین کردند. پس از بهوشی و پرفیوژن موش، بافت هیپوکمپ جدا گردید و برای سنجش بیان ژن از روش Real-time PCR توسط مستر میکس Ampliqon و کیت سنتز DNA شرکت سیناکلون استفاده شد. تفاوت‌ها با روش تحلیل واریانس یک‌سویه و مقایسه گروه‌ها توسط آزمون تعقیبی توکی تعیین گردید ($P \leq 0.05$).

یافته‌ها. در گروه آلازایمر در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معنی‌دار TERT و Bax/Bcl2 و کاهش معنی‌دار Bcl2 مشاهده شد، که پس از ۱۲ هفته مداخله سه نوع تمرین ورزشی، این نتایج به‌طور معناداری معکوس شدند ($P = 0.001$). بین ژن‌های TERT و آپوپتوز، همبستگی معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$).

نتیجه‌گیری. به نظر می‌رسد که اجرای تمرین ترکیبی (هوازی و قدرتی)، بر بهبود طول تلومر و کاهش آپوپتوز هیپوکمپ موش‌های آلازایمری مؤثر باشد.

پیامدهای عملی. اجرای فعالیت ورزشی ترکیبی (هوازی و قدرتی) بر بهبود تلومر و کاهش آپوپتوز نورون مؤثر است.

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۷/۲۲
پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۳۰
انتشار برخط: ۱۴۰۳/۷/۲۱

کلیدواژه‌ها:

- آلازایمر
- طول تلومر
- آپوپتوز
- تمرین ورزشی

مقدمه

افزایشی بیش آپوپتوز Bax (Bcl2-associated X protein) مکانیسمی در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول است که افزایش بیان Bax بر روی نفوذپذیری غشای میتوکندری اثرگذار است و از طریق فعال‌سازی کاسپازها در نهایت منجر به تجزیه سلولی می‌گردد.^۱ در همین راستا، مطالعات قبلی نقش Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) و مکانیسم‌های مرتبط را در فرآیند آپوپتوز نشان دادند، در واقع Bcl-2 یک عامل بقا است که می‌تواند مرگ سلولی نکروزه و آپوپتوتیک را مسدود کند. مطابق با گزارش‌های ارایه شده، Bcl-2 نمونه اولیه خانوادگی از ژن‌ها و پروتئین‌های مربوطه است که نفوذپذیری غشای میتوکندری خارجی را کنترل می‌کند و نیز می‌تواند عوامل پروآپوپتوز (Bax، BAD، Bak، Bok و ...) و ضدآپوپتوز (Bcl-2، Bcl-1 و xL (Bcl-w را میانجی‌گری کند.

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مرگ عصبی، آپوپتوز است که با افزایش سن و در اثر از دست رفتن نورون‌ها، در نهایت منجر به ایجاد بیماری آلازایمر می‌گردد. به‌طور متمرکز می‌توان بیان داشت که آپوپتوز بافت عصبی به‌ویژه هیپوکمپ به‌عنوان عامل بالقوه بیماری‌های عصبی مانند آلازایمر شناخته شده است.^۱ علل اصلی تخریب عصبی در این بیماری، همراه با پیری طبیعی مغز، چندین رویداد سلولی و مولکولی مانند استرس اکسیداتیو، اختلال در عملکرد میتوکندری، رسوب پروتئین‌های تجمع یافته، التهاب عصبی، و فعال شدن عوامل آپوپتوز است؛ بر همین اساس، در بررسی‌های سلولی مولکولی و در مراحل اولیه آلازایمر، تعداد زیادی نورون آپوپتوز در قشر مغز و هیپوکمپ یافت شده است.^۲ تنظیم

* نویسنده مسئول: ایمیل: a.heidarianpour@basu.ac.ir

حق تالیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

به‌طوریکه فعالیت تلومراز در این بیماران در مقایسه با افراد سالم به‌طور قابل توجهی افزایش یافته بود.^{۱۳} تلومرها، توالی تکراری از TTAGGG در انتهای کروموزوم‌های خطی هستند، که با هر بار تقسیم سلولی کوتاه و کوتاه‌تر شده تا سلول دچار مرگ گردد. همچنین آنزیم تلومراز یک ریبونوکلوپروتئین است که از طریق مهم‌ترین زیر واحد خود یعنی رونوشت معکوس تلومراز (Telomerase reverse transcriptase, TERT)، عملکرد محافظتی خود را بر طول تلومر اجرا می‌کند، که شامل افزودن توالی‌های TTAGGG به انتهای کروموزوم می‌باشد.^{۱۳}

نقش ورزش در تغییر بیان پروتئین‌های مرتبط با تلومر توسط چندین آزمایش در بافت‌های جوندگان مورد مطالعه قرار گرفته است. در یک مطالعه، با بررسی اثرات تمرین کوتاه مدت (۲۱ روز دویدن چرخ اختیاری) در موش مشاهده کردند که پروتئین TERT در مقایسه با گروه کنترل بی‌تحرک افزایش یافته است.^{۱۴} با این حال، اخیراً یک مطالعه نشان داد که مقادیر متوسط ورزش برای محافظت از سلامت تلومرها کافی است؛ در حالی که مقادیر بیشتر ممکن است مزایای بیشتری نداشته باشد. برخلاف این یافته، با وجود شدت و حجم تمرینی بالا، ورزشکار نخبه جوان نسبت به همسالان غیرفعال خود تلومرهای بلندتری داشت.^{۱۵} در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که مقادیر زیاد ورزش ممکن است تأثیر مفید خود را بر طول تلومر معکوس نکند، اما برای مشاهده اینکه آیا تفاوت‌های نوع و شدت فعالیت ورزشی مؤثر است یا خیر، تحقیقات بیشتری لازم است. همچنین، مشخص نیست که کدام یک از انواع فعالیت هوازی، قدرتی و یا ترکیبی برای القای اثرات مفید ورزش بر حفظ طول تلومر مهم‌تر است.

در پژوهش حاضر، ارتباط بین ژن‌های آپوپتوز و طول تلومر مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های کمتری در این زمینه در میان مطالعات وجود داشت و تعداد محدودی از پژوهش‌های پیشین به بررسی این رابطه پرداخته بودند. به‌طوری‌که برخی از تحقیقات عنوان داشتند که مهار تلومراز علاوه بر آن که منجر به کوتاه شدن طول تلومر شده، موجب القاء آپوپتوز نیز می‌گردد.^{۱۶} از سوی دیگری عنوان شده است که یکی از شاخص‌های عملکرد تلومراز، همبستگی مثبت و مستقیم بین بیان mRNA TERT و فعالیت تلومراز است که می‌تواند به عنوان عملکرد این آنزیم بیان گردد.^{۱۷} بر همین اساس، به‌نظر می‌رسد که بین فعالیت TERT و آپوپتوز رابطه‌ای وجود داشته باشد.

با ارایه مطالب فوق سعی شد تا تأثیرات جداگانه آلزایمر، آپوپتوز و فعالیت ورزشی بر طول و بقای تلومرهای نورو و بیان و بررسی گردد. با این حال، تعامل عوامل فوق با یکدیگر بر احیاء و

شواهد نشان می‌دهند که ورزش بر جنبه‌های مختلف فعالیت سلول‌های عصبی تأثیر گذار است و قادر است از مرگ سلول‌های عصبی جلوگیری کند.^۱ علاوه بر این ورزش یکپارچگی عروق مغزی را افزایش می‌دهد، نورونز هیپوکمپ را تقویت و مزایای شناختی را تعدیل می‌کند. علاوه بر این، ورزش نسبت Bax/Bcl-2 (شاخص رخداد آپوپتوز) را سرکوب و بیان کاسپاز-۳ را در هیپوکمپ تنظیم می‌کند؛ به‌طوری‌که در مطالعه‌ای، اجرای سه هفته فعالیت ورزشی از طریق افزایش بیان Bcl-2، از افزایش نسبت Bax/Bcl-2 ناشی از ایسکمی جلوگیری کرد.^۵ همچنین، تمرین ورزشی قادر است از طریق افزایش پروتئین ضد آپوپتوز Bcl-2، شاخص‌های Bax proapoptotic را در بافت هیپوکمپ مغز موش کاهش دهد. در همین راستا، در پژوهش منتظری و همکاران، اجرای هشت هفته تمرین استقامتی و قدرتی باعث افزایش بیان ژن Bcl-2 و کاهش بیان Bax گردید.^۶

در رابطه با نوع فعالیت ورزشی، عنوان شده است که ورزش هوازی به رشد و تکامل مغز کمک می‌کند، حجم هیپوکمپ را افزایش می‌دهد و کاهش آن را به تأخیر می‌اندازد، آسیب‌شناسی را معکوس می‌کند و با کاهش استرس اکسیداتیو، آپوپتوز، التهاب عصبی و اختلال عملکرد میتوکندری از ایجاد آلزایمر جلوگیری می‌کند.^۷ در مطالعه دیگری، اجرای پروتکل ورزش هوازی توسط موش‌های صحرایی، سطح پروتئین‌های طرفدار آپوپتوز یعنی Bax و کاسپاز-۳ را در هیپوکمپ و قشر آنها کاهش داد.^۸ سیچلا و همکاران، موش‌ها را به مدت چهار هفته تحت یک پروتکل شنای اجباری قرار دادند که سطح پروتئین‌های پیش‌آپوپتوز را در موش‌های ۲۷ ماهه کاهش داد.^۹ برعکس، لیو و همکاران، تأیید کردند که پس از ۱۰ هفته ورزش بیشینه بر روی تردمیل توسط موش‌های مسن، آپوپتوز سلول‌های جسم مخطط در مقایسه با گروه کم‌تحرک ۶۸/۲۴ درصد افزایش یافته است که نشان می‌دهد فعالیت بدنی شدید ممکن است برای ارگانسیم مفید نباشد.^{۱۰} دو و همکاران، دویدن داوطلبانه را در موش‌های آلزایمر ترازیخته به مدت چهار و هشت هفته آزمایش کردند و در پایان این دوره کاهش سلول‌های آپوپتوز را در هیپوتالاموس نشان دادند.^{۱۱} در ادامه، مطالعات زیادی در رابطه با ورزش هوازی و آپوپتوز وجود دارد، اما اطلاعات کمی در مورد اثرات تمرین مقاومتی به‌صورت جداگانه یا همزمان بر بافت مغز وجود داشت.

علاوه بر تأثیرات مستقل و مشترک آپوپتوز و فعالیت ورزشی بر مغز بیماران آلزایمری، در علوم نوروساینس جدید مشخص شده است که بیماران مبتلا به آلزایمر، به‌طور قابل توجهی طول تلومر کوتاه‌تری در مقایسه با گروه کنترل همسالان خود دارند،

دقیقه، هفته سوم ۳۰ دقیقه، هفته چهارم ۴۰ دقیقه، هفته پنجم ۵۰ دقیقه، هفته ششم تا هفته نهم ۶۰ دقیقه در روز، و هفته دهم تا دوازدهم به مدت ۶۰ دقیقه دو بار در روز، در آب با دمای ۳۰ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد شنا کردند^{۲۰} استخر شنای موش‌ها شامل یک باکس شیشه‌ای بود که به شش قسمت مساوی به ابعاد ۵۰×۵۰×۵۰ سانتی‌متر تقسیم شده و هر باکس دارای پروانه موج ساز و کانال تخلیه و نیز المنت تنظیم درجه حرارت آب بود (جدول ۱ الف).

تمرین قدرتی به مدت ۱۲ هفته و پنج روز در هفته (شنبه، یکشنبه، دوشنبه، چهارشنبه و پنجشنبه) به صورت بالا رفتن همراه با وزنه‌های متصل به دم موش‌ها، از نردبانی به طول یک متر با ۲۶ پله و زاویه ۸۵ درجه نسبت به زمین انجام گرفت. وزنه متصل به دم هر حیوان در هفته اول و دوم ۵۰ تا ۶۰ درصد، هفته سوم تا پنجم ۷۰ تا ۹۰ درصد، هفته ششم تا هشتم ۱۰۰ تا ۱۱۰ درصد، هفته نهم و دهم ۱۲۰ تا ۱۳۰ درصد و هفته یازدهم و دوازدهم ۱۴۰ تا ۱۵۰ درصد وزن بدن بود. هر جلسه تمرینی شامل ۳ ست ۴ تکراری بود. استراحت بین هر تکرار ۳۰ تا ۶۰ ثانیه و بین هر ست ۱۲۰ تا ۱۵۰ ثانیه بود (جدول ۱ ب).^{۲۱}

برنامه تمرین ترکیبی ۱۲ هفته و به صورت پنج روز در هفته اجرا گردید. بدین ترتیب، آزمودنی‌ها سه روز در هفته (شنبه، دوشنبه و چهارشنبه) تمرین هوازی شنا و دو روز در هفته (یکشنبه و پنجشنبه) به تمرین قدرتی می‌پرداختند. یک روز پس از پایان پروتکل تمرین، موش‌ها توسط پنتوباربیتال سدیم بیهوش، و سپس پرفیوژن شدند. تحت شرایط استریل و توسط متخصص آناتومی، مخ از مجمه خارج شد و هیپوکمپ برش زده شد و بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۲/۵ میلی‌لیتر با پرچسب متناسب با موش وارد نیتروژن مایع گردید. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموزن بافت‌ها، همه آنها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. ارزیابی نهایی بیان ژن، طبق دستورالعمل تکنیک Real Time-PCR انجام گردید. از سایبرگرین مستر میکس Ampliqon ساخت کشور دانمارک استفاده شد. برای تعیین غلظت DNA از رنگ‌های فلورسانس استفاده می‌شود، که در این تکنیک متداول‌ترین رنگ، سایبرگرین می‌باشد که به شیاریهای کوچک DNA دو رشته‌ای متصل شده و با جذب طول موج ۴۹۸ نانومتر، نور ۵۲۲ نانومتری را به رنگ سبز ساطع می‌کند که سپس توسط دستگاه ثبت می‌شود. بنابراین، افزایش شدت فلورسنت با غلظت DNA متناسب است.

طبق دستورالعمل کیت شرکت سینا کلون و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه ۱۰ لاندایی، ترکیبی از

بهبود طول تلومر مشخص نشده است. در حقیقت، هنوز روشن نیست که با افزایش بیان ژن‌های آپوپتوز، مقادیر ژن‌های مؤثر بر طول تلومر چه تغییری خواهند کرد و یا اجرای فعالیت ورزشی از طریق افزایش بیان ژن TERT، قادر به بازسازی تلومرها و مانع از مرگ نوروها خواهد شد یا خیر. همچنین، با توجه به تأثیرات متفاوت تمرینات مختلف ورزشی همچون هوازی، قدرتی و ترکیبی، پیش‌بینی مؤثر هر یک بر مهار آپوپتوز و طول تلومر کار دشواری است. بنابراین، در مطالعه حاضر به تعیین ارتباط بیان ژن‌های آپوپتوز و ژن TERT پس از اجرای ۱۲ هفته تمرین شنای اجباری، تمرین قدرتی و ترکیب هر دو نوع تمرین پرداخته شده است.

روش کار

پژوهش حاضر یک مطالعه مقطعی کاربردی بود، که با کد IR.BASU.REC.1400.050 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم ورزشی همدان به تصویب رسید. آزمودنی‌های این مطالعه را تعداد ۳۵ موش نر صحرایی در محدوده وزنی 174 ± 22 گرم و محدوده سنی چهار تا پنج هفته تشکیل دادند. حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار G power نسخه ۳/۱ بر اساس توان آماری ۰/۸۵، اندازه اثر ۰/۵ و میزان خطای ۰/۵ به تعداد ۳۵ سر موش تعیین گردید.^{۱۸} موش‌ها از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه شدند و تمامی مراحل پژوهش حاضر مطابق با دستورالعمل استفاده از حیوانات انجام گرفت.

حیوانات در محیطی با درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت محیط 50 ± 5 درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ نگه‌داری شدند. آب و غذا به صورت آزادانه در اختیار آنها قرار داده شد. موش‌ها بر اساس میانگین وزن همگن شدند و به‌طور تصادفی یک گروه هفت‌تایی به عنوان گروه کنترل سالم مشخص گردید. ۲۸ سر موش تحت القای آلزایمر قرار گرفتند و پس از آن به چهار گروه هفت‌تایی شامل کنترل آلزایمری، تمرین هوازی، تمرین قدرتی، و تمرین ترکیبی تقسیم شدند. هر سه سر موش به‌صورت جداگانه در قفس‌های پلی‌اتیلن ($23 \times 23 \times 12 \text{ cm}^3$) نگه‌داری شدند. همچنین، برای القای آلزایمر، مقدار ۸ میلی‌گرم/کیلوگرم تری‌متیل‌تین کلراید (TMT) به همراه ۲۰۰ μL نرمال سالین (به عنوان حلال) به روش درون صفاقی به موش‌ها تزریق گردید.^{۱۹}

برنامه تمرین هوازی به صورت شنای اجباری به مدت ۱۲ هفته و پنج روز در هفته (شنبه، یکشنبه، دوشنبه، چهارشنبه، و پنجشنبه) اجرا گردید. در هفته اول ۱۵ دقیقه، هفته دوم ۲۰

هوازی (۲۵/۷۵٪) و ترکیبی (۲۳/۰۶٪) منجر به کاهش این نسبت در مقایسه با گروه آلزایمری گردید (P=۰/۰۰۱) (شکل ۱ B). در بررسی همبستگی بین ژن‌های آپوپتوز و تلومر، آزمون پیرسون نشان داد که بین بیان ژن TERT و ژن‌های آپوپتوز، همبستگی معنی‌داری وجود ندارد؛ اما با افزایش بیان ژن Bcl-2، کاهش معنی‌داری در بیان ژن Bax (P=۰/۰۰۱) و نسبت Bax/Bcl-2 (P=۰/۰۰۱) مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۱ الف. برنامه تمرین هوازی شنا

فاصله بین تمرین (ساعت)	مدت زمان (دقیقه)	هفته
۲۴	۱۰	اول
۲۴	۲۰	دوم
۲۴	۳۰	سوم
۲۴	۴۰	چهارم
۲۴	۵۰	پنجم
۲۴	۶۰	ششم
۲۴	۶۰	هفتم
۲۴	۶۰	هشتم
۲۴	۶۰	نهم
۱۲	۶۰	دهم
۱۲	۶۰	یازدهم
۱۲	۶۰	دوازدهم

جدول ۱ ب. برنامه تمرین قدرتی

فاصله بین هر ست (ثانیه)	فاصله بین هر تکرار (ثانیه)	درصد وزن بدن	هفته
۱۲۰	۳۰	۵۰	اول
۱۲۰	۳۰	۶۰	دوم
۱۲۰	۳۰	۷۰	سوم
۱۲۰	۳۰	۸۰	چهارم
۱۲۰	۳۰	۹۰	پنجم
۱۲۰	۳۰	۱۰۰	ششم
۱۲۰	۳۰	۱۰۵	هفتم
۱۲۰	۳۰	۱۱۰	هشتم
۱۴۰	۵۰	۱۲۰	نهم
۱۴۰	۵۰	۱۳۰	دهم
۱۵۰	۶۰	۱۴۰	یازدهم
۱۵۰	۶۰	۱۵۰	دوازدهم

مسترمیکس (۵ لاند)، پرایمر (۱ لاند)، cDNA (۱ لاند) و آب مقطر (۳ لاند) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی، نسبت به ژن رفرنس β اکتین ارزیابی شد. پس از انتقال اطلاعات به نرم افزار Excel، طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن محاسبه گردید. برای دسته‌بندی و تعیین شاخص‌های مرکزی و پراکندگی از آمار توصیفی استفاده شد. جهت بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروه‌ها در صورت طبیعی بودن داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌سویه و جهت تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. همچنین در صورت طبیعی بودن داده‌ها آزمون کروسکال-والیس به کار برده شد. در پژوهش حاضر، به منظور رد فرضیه صفر، سطح معنی‌داری $P \geq 0/05$ در نظر گرفته شد. کلیه محاسبات آماری از طریق نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۶ استفاده شد.

یافته‌ها

پس از اجرای ۱۲ هفته تمرین هوازی شنا، قدرتی و ترکیبی توسط موش‌های نر آلزایمری، نتایج جدول آزمون تحلیل واریانس یک‌سویه، در رابطه با شاخص‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های کنترل سالم، آلزایمری و تمرین نشان داد (P=۰/۰۰۱). پس از اجرای آزمون تعقیبی توکی مشاهده شد که مقادیر بیان ژن TERT در گروه آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشت (۲۰/۸٪) و اجرای ۱۲ هفته تمرین ترکیبی منجر به افزایش معناداری در مقایسه با گروه آلزایمری گردید. (۸/۲۸٪) (P=۰/۰۰۱) (شکل ۱ A).

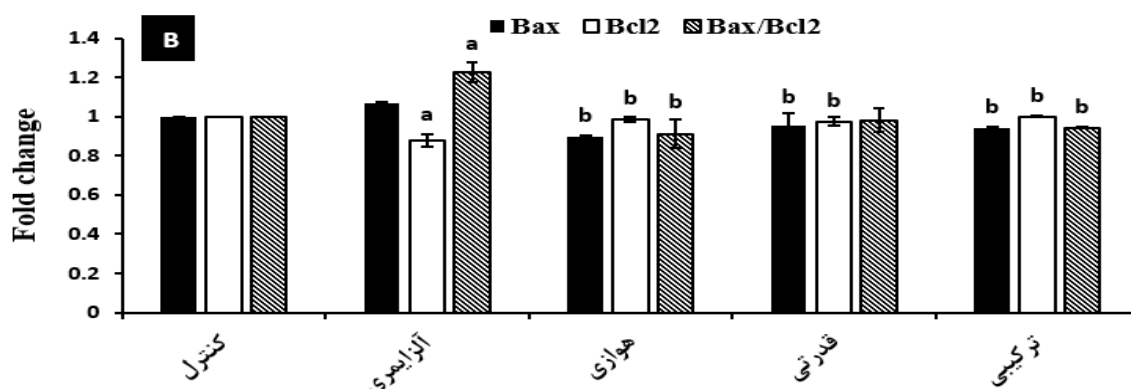
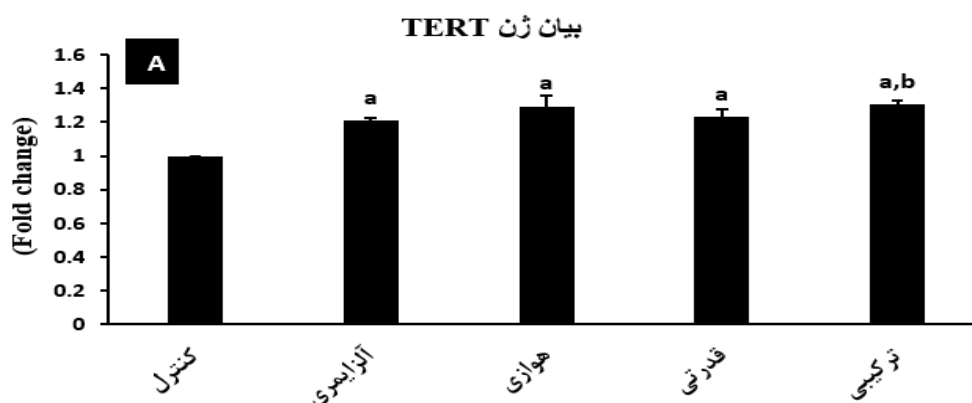
مقادیر بیان ژن Bax در گروه آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایشی نشان داد (۷٪) که به لحاظ آماری معنادار نبود (P=۰/۰۰۶). با این حال، پس از مداخلات تمرینات ورزشی، کاهش معنی‌داری در گروه‌های تمرینی هوازی (۱۵/۹۸٪) قدرتی (۱۰/۵۶٪) و ترکیبی (۱۱/۷۷٪) در مقایسه با گروه آلزایمری مشاهده شد (P=۰/۰۰۱) (شکل ۱ B).

همچنین موش‌های آلزایمری کاهش معنی‌داری در مقادیر بیان ژن Bcl-2 در مقایسه با گروه کنترل سالم داشتند (۱۲/۳٪)، که با اجرای ۱۲ هفته تمرینات هوازی (۱۲/۳۱٪)، قدرتی (۱۱/۱۷٪) و ترکیبی (۱۴/۰۲٪) افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه آلزایمری نشان دادند (P=۰/۰۰۱) (شکل ۱ B).

با القای آلزایمر، نسبت Bax/Bcl-2 در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشت (۲۲/۷٪)، که اجرای دو تمرین

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده

mRNA		'Sequence 5'-3'	PCR product size
β-ACTIN	F	CCCGCGAGTACAACCTTCT	bp 177
	R	CGTCATCCATGGCGAACT	
TERT	F	AGTGGTGAACCTCCCTGTGG	bp 332
	R	CAACCGCAAGACTGACAAGA	
Bax	F	TTGCTACAGGGTTTCATCCA	bp 107
	R	GAGTACCTGAACCGGCATCT	
Bcl2	F	GAGTACCTGAACCGGCATCT	bp 90
	R	GAAATCAAACAGAGGTCGCA	



شکل ۱- A. مقایسه مقادیر بیان ژن TERT. B. مقایسه مقادیر بیان ژنهای Bax، Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2. a. در مقایسه با گروه کنترل سالم. b. در مقایسه با گروه آلزایمری (P=0/001)

جدول ۳. همبستگی مقادیر ژنهای آپوپتوز و طول تلومر (P < 0/05)

		TERT	Bax	Bcl2	Bax/Bcl2
TERT	Correlation	۱	-0/۳۳	-0/۱۳	-0/۱۳۷
	P	-	0/۱۵۵	0/۵۸۶	0/۵۶۵
Bax	Correlation	-0/۳۳	۱	*-0/۵۶۲	*0/۹۱
	P	0/۱۵۵	-	0/۰۱	0/۰۰۱
Bcl2	Correlation	-0/۱۳	*-0/۵۶۲	۱	*-0/۸۵۳
	P	0/۵۸۶	0/۰۱	-	0/۰۰۱
Bax/Bcl2	Correlation	-0/۱۳۷	*0/۹۱	*0/۸۵۳	۱
	P	0/۵۶۵	0/۰۰۱	0/۰۰۱	-

بحث

در پژوهش‌های زیادی اثبات شده است که خانواده Bcl-2 عامل مهمی در تعیین بقاء یا مرگ نورون‌ها است. این خانواده شامل پروآپوپتوز از جمله Bax و ضد آپوپتوز از جمله Bcl-2 می‌باشد. در رابطه با آلزایمر، افزایش بیان Bax و کاهش بیان Bcl-2 در این بیماری مشاهده شده است.^۳ بر همین اساس، القای آلزایمر در موش‌های پژوهش حاضر در مقایسه با گروه کنترل سالم، منجر به افزایش هفت درصدی مقادیر بیان ژن Bax گردید، که به لحاظ آماری معنادار نبود؛ اما القای آلزایمر منجر به کاهش معنی‌دار مقادیر بیان ژن Bcl-2 گردید. در همین راستا، مشخص شده است که بیان اضافی Bax منجر به هتروداپایر شدن خود و در نتیجه افزایش حساسیت به محرک‌های آپوپتوز شده و از این طریق موجب پیش‌روی آبشار آپوپتوزی می‌گردد.^{۲۲}

دیگر نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اجرای ۱۲ هفته تمرین هوازی، قدرتی و ترکیبی در مقایسه با گروه آلزایمر، مقادیر بیان ژن Bcl-2 را افزایش و مقادیر بیان ژن Bax را کاهش داد. با این حال، تنها تمرین هوازی و ترکیبی قادر به کاهش نسبت Bax/Bcl-2 بود، که این نتایج حاکی از تاثیر بیشتر تمرین ترکیبی بر مهار آپوپتوز نورون‌های هیپوکمپ ناشی از آلزایمر است. در شرایط نرمال، همواره بین عوامل پرو و ضد آپوپتوزی تعادل برقرار است؛ اما در موقعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی مانند آلزایمر، این تعادل بهم می‌ریزد. یکی از عواملی که به بهبود این تعادل کمک می‌کند، فرضیه تأثیر فعالیت ورزشی می‌باشد.^۳ در واقع، قبل از دریافت یک محرک مرگ، پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 به صورت داخل سلولی با Bax هترومر می‌شود، و در صورت بیان اضافی Bcl-2 این مولکول‌ها تشکیل هتروداپایر می‌دهند و به‌طور هم‌زمان آپوپتوز ناشی از تحریک را مهار می‌کنند.^{۲۲}

در چندین مطالعه، ورزش باعث افزایش Bcl-2 و کاهش سطح Bax و مهار آپوپتوز در هیپوکمپ موش گردید. در این راستا، ام و همکاران، نشان دادند که افزایش سطح Bax در بافت مغز موش‌های مبتلا به آلزایمر، پس از ۱۶ هفته تمرین کاهش و سطح Bcl-2 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.^{۲۳} همچنین مختاری زائر و همکاران، افزایش بیان Bcl-2 و سرکوب بیان Bax را در بافت هیپوکمپ موش‌های وابسته به مورفین پس از ۱۰ روز ورزش داوطلبانه یا اجباری با شدت کم (چرخ چرخشی) مشاهده کردند.^{۲۴} چانگ و همکاران، سرکوب شاخص‌های محافظت عصبی Bax، کاهش نسبت Bax/Bcl-2 و تنظیم مثبت بیان Bcl-2 در موش‌های ماده مسن پس از هشت هفته HIIT را گزارش کردند.^{۲۵} مطالعه‌ای روی موش‌های AD که تحت ۴ هفته تمرین قدرتی قرار گرفتند،

نشان داد که ورزش نسبت Bax/Bcl-2 را در هیپوکمپ موش‌ها کاهش می‌دهد.^{۲۶} اجرای شش هفته تمرین هوازی بر روی موش‌های آلزایمری نشان داد که ورزش باعث افزایش Bcl-2، کاهش محتوای Bax، افزایش نسبت Bcl-2/Bax و مهار آپوپتوز در آلزایمر شد.^{۲۷} این نتایج نشان می‌دهد که ورزش می‌تواند با مهار آپوپتوز و افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی از نورون‌ها محافظت کند.^۷ در واقع، تمرین ورزشی از طریق فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B ممکن است منجر به کاهش سطح فاکتورهای پیش‌آپوپتوز Bax و سیتوکروم C شود و در نتیجه، آپوپتوز را در هیپوکمپ مغزی مهار کند. از سوی دیگر، مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt/GSK3- β نقش انتقال مهمی در آپوپتوز عصبی در آلزایمر ایفا می‌کند و پروتئین هموستاز آپوپتوز پایین دست آن Bcl-2/Bax به‌عنوان یک تعیین‌کننده اصلی آپوپتوز استفاده می‌شود.^{۲۸}

نتایج نشان داد که تمرین هوازی از طریق یک مکانیسم مولکولی توانایی حافظه یادگیری موش‌های آلزایمری را بهبود می‌بخشد. ورزش هوازی با فعال کردن مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt/GSK3- β و افزایش نسبت Bcl-2/Bax در هیپوکمپ، آپوپتوز را در آلزایمر کاهش می‌دهد.^۷ در مجموع، ورزش هوازی و تمرین مقاومتی می‌تواند حافظه فضایی را بهبود بخشد، یا مکانیسم‌های مختلفی را فعال کنند که منجر به بقای سلول و کاهش سلول‌های آپوپتوز می‌شوند. تمرین مقاومتی می‌تواند یک استراتژی برای محافظت از مغز و حفظ شناخت سالم در طول فرآیند پیری باشد. درحالی‌که ورزش هوازی می‌تواند مسیرهای درون سلولی را تغییر دهد، هرچند مکانیسم‌های مرتبطی که این اثرات را توضیح می‌دهند هنوز ناشناخته هستند.^۸

در مطالعه حاضر، افزایش مقادیر TERT ناشی از القای آلزایمر، ممکن است به عنوان یک حالت دفاعی در برابر تخریب و کوتاه‌شدگی تلومرهای هیپوکمپ باشد. به‌طوری‌که گزارش شده است افزایش قابل توجه مقادیر TERT میتوکندری در نواحی هیپوکمپ افراد آلزایمری در مقایسه با افراد سالم وجود دارد.^{۲۹} با توجه افزایش بیان ژن TERT در گروه آلزایمری، می‌توان عنوان داشت که، پروتئین TERT به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تجمع بتا آمیلوئید در آلزایمر، از سیتوپلاسم وارد میتوکندری نورون‌های عصبی می‌شود و عمل رونویسی معکوس خود را با استفاده از tRNAهای میتوکندری اجرا می‌نماید.^{۳۰} در ادامه آشکار گردیده است که سلول‌های با TERT سیتوپلاسمی/میتوکندری، آسیب DNA هسته‌ای کمتر و تقریباً بدون آپوپتوز بودند. اما در مقابل، سلول‌های با TERT هسته‌ای دارای مقادیر زیادی آسیب DNA و همچنین آپوپتوز بودند.^{۳۱} بر

افزایش می‌یابد و ممکن است بر تعدیل ژن‌های نسبت آپوپتوز (Bax/Bcl-2) نیز تاثیر داشته باشد.

قدرانی

مقاله حاضر، مستخرج از رساله دکتری نویسنده اول در دانشکده علوم ورزشی می‌باشد و بدین وسیله از همه عزیزانی که در اجرای طرح پژوهشی حاضر یاری رساندند، تشکر و قدرانی می‌گردد.

مشارکت پدیدآورندگان

لیلا وصالی اکبریور: ایده‌پردازی، طراحی و اجرای اثر، جمع‌آوری، تحلیل و تفسیر داده‌ها، و تهیه پیش‌نویس اولیه و علی حیدریان‌پور: بررسی نوآوری طرح، نظارت بر تحلیل و تفسیر داده‌ها، و نقد و بررسی نسخه نهایی را بر عهده داشتند.

منابع مالی

پژوهش حاضر با حمایت مالی (گرننت) دانشجویان دکتری اجرا گردید.

دسترسی پذیری داده‌ها

داده‌های ایجاد شده در پژوهش حاضر، در صورت درخواست معقول از پدیدآورندگان ارایه می‌گردد.

ملاحظات اخلاقی

پژوهش حاضر در کمیته اخلاق در پژوهش دانشکده علوم ورزشی دانشگاه بوعلی سینا همدان و با کد IR.BASU.REC.1400.050 تأیید شده است.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌کنند که هیچ تعارض منافی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

همین اساس، در گروه‌های تمرینی پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار ژن TERT و Bcl-2 و کاهش معنی‌دار ژن Bax و نسبت Bax/Bcl-2 مشاهده گردید. هر چند همبستگی بین ژن TERT و ژن‌های آپوپتوز معنی‌دار نبود، اما به نظر می‌رسد که با خروج هسته‌ای TERT به سیتوپلاسم/میتوکندری، شاخص‌های آپوپتوز در گروه‌های تمرین نیز بهبود یافتند. از آنجائیکه بین بیان mRNA TERT و فعالیت تلومراز رابطه مستقیمی وجود دارد،^{۱۷} مشخص شده است که سرکوب بیان ژن TERT موجب کاهش بیوسنتز و فعالیت آنزیم تلومراز می‌گردد. بر همین اساس، عنوان شده است که مهار آنزیم تلومراز منجر به القاء آپوپتوز و مرگ نورونی خواهد شد.^{۱۶} از سوی دیگر، فعالیت بدنی ممکن است از کوتاه شدن تلومرهای مرتبط با سن محافظت کند. زیرا افراد مسن تمرین کرده استقامتی، طول تلومر مشابهی با بزرگسالان جوان داشتند و نیز ورزشکاران نخبه جوان نسبت به همسالان غیرفعال خود تلومرهای بلندتری دارند. هرچند به خوبی روشن نشده است که ورزش چگونه می‌تواند زیست‌شناسی تلومر را تغییر دهد، اما ممکن است از طریق افزایش فعالیت یا فراوانی تلومراز باشد. در واقع، بلافاصله پس از همانندسازی DNA، تلومراز از طریق فعال‌سازی TERT، (با افزودن نوکلئوتیدها به انتهای کروموزوم) کوتاه‌شدگی تلومر را کاهش می‌دهد.^{۱۳} بر اساس این یافته‌ها می‌توان عنوان داشت که، افزایش مقادیر ژن TERT در گروه‌های تمرینی خصوصاً در گروه تمرین ترکیبی، یک اثر بالقوه تمرین ورزشی به‌منظور محافظت از طول تلومر می‌باشد که در واقع این فراخوانی از جنبه‌ی دیگری بر محافظت نورون در برابر آپوپتوز نیز می‌افزاید. به نظر می‌رسد علاوه بر آلزایمر، اجرای فعالیت ورزشی نیز قادر به افزایش مضاعف بیان ژن TERT گردیده، که بر کاهش نسبت پروآپوپتوز (Bax/Bcl-2) نیز مؤثر بوده است.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که القای آلزایمر (توسط TMT)، موجب کاهش مقادیر آنتی‌آپوپتوز (Bcl-2) و افزایش مقادیر پروآپوپتوز (Bax) می‌گردد. همچنین، بیان ژن TERT به‌عنوان یک فراخوانی مثبت در برابر تحلیل طول تلومر مشاهده شده که با اجرای تمرین ورزشی خصوصاً تمرین ترکیبی (هوازی و قدرتی)، این فراخوانی

References

- 1 Salehpour M, Kashef M, Sadegh Ghomi M. The effect of eight-week resistance training on BAX and BCL2 of hippocampus tissue in male rats. *Journal of Sport & Exercise Physiology (JSEP)*. 2021;29:11-21. doi:10.52547/joeppa.14.2.45
- 2 Shao X, Cui W, Xie X, Ma W, Zhan Y, Lin Y. Treatment of Alzheimer's disease with framework nucleic acids. *Cell Proliferation*. 2020;53(4):e12787. doi: 10.1111/cpr.12787

- 3 Bazyar F, Shabani R, Elmiyeh A. The Effects of Endurance Training and Saffron Extract on the Expression of Bax, Bcl-2, and Caspase-3 Genes in the Hippocampal Tissue of Alzheimer's Male Rats. *Journal of Jiroft University of Medical Sciences*. 2023;9(4):1151-9.
- 4 Bellavite P. Neuroprotective potentials of flavonoids: experimental studies and mechanisms of action. *Antioxidants*. 2023;12(2):280. doi: 10.3390/antiox12020280
- 5 Zhang Z, Li R, Zhang X, Wei Y, Ma H, Zhu L, et al. Voluntary exercise promotes neurotrophic factor and suppresses apoptosis in hippocampal ischemia. *Journal of integrative neuroscience*. 2019;18(1):65-70. doi: 10.31083/j.jin.2019.01.118
- 6 Montazery Taleghani H, Shakeri N, Ebrahim K, Soori R, Gholami M. The Effect of Endurance and Resistance Training on Apoptosis Activity and Collagen Deposition in Heart Tissue of Diabetic Rats. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2022;22(2):7. doi: 10.52547/jarums.22.2.186
- 7 Peng Y, Chi R, Liu G, Tian W, Zhang J, Zhang R. Aerobic Exercise Regulates Apoptosis through the PI3K/Akt/GSK-3 β Signaling Pathway to Improve Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease Mice. *Neural Plasticity*. 2022;2022:1-12. doi: 10.1155/2022/1500710
- 8 Andreotti DZ, Silva JD, Matumoto AM, Orellana AM, De Mello PS, Kawamoto EM. Effects of physical exercise on autophagy and apoptosis in aged brain: Human and animal studies. *Frontiers in Nutrition*. 2020;7:94. doi: 10.3389/fnut.2020.00094
- 9 Cechella JL, Leite MR, Pinton S, Zeni G, Nogueira CW. Neuroprotective benefits of aerobic exercise and organoselenium dietary supplementation in hippocampus of old rats. *Molecular Neurobiology*. 2018;55:3832-40. doi: 10.1007/s12035-017-0600-9
- 10 Liu W, Wang Z, Xia Y, Kuang H, Liu S, Li L, et al. The balance of apoptosis and autophagy via regulation of the AMPK signal pathway in aging rat striatum during regular aerobic exercise. *Experimental Gerontology*. 2019;124:110647. doi: 10.1016/j.exger.2019.110647
- 11 Do K, Laing BT, Landry T, Bunner W, Mersaud N, Matsubara T, et al. The effects of exercise on hypothalamic neurodegeneration of Alzheimer's disease mouse model. *PLoS One*. 2018;13(1):e0190205. doi: 10.1371/journal.pone.0190205
- 12 Lukens, J. N. *et al.* Comparisons of telomere lengths in peripheral blood and cerebellum in Alzheimer's disease. 5, 463-469 (2009). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2009.05.666>
- 13 Prasad KN, Wu M, Bondy SC. Telomere shortening during aging: Attenuation by antioxidants and anti-inflammatory agents. *Mechanisms of ageing and development*. 2017;164:61-6. doi: 10.1016/j.mad.2017.04.004
- 14 Bhimte A, Thakur N, Lakhani N, Yadav V, Khare A, Kumar D, et al. Aging-physiological interpretation and adaptation to stressors. *Journal of entomology and zoology studies*. 2018;6:4-60.
- 15 Werner CM, Hecksteden A, Morsch A, Zundler J, Wegmann M, Kratzsch J, et al. Differential effects of endurance, interval, and resistance training on telomerase activity and telomere length in a randomized, controlled study. *European heart journal*. 2019;40(1):34-46. doi: 10.1093/eurheartj/ehy585
- 16 Faezizadeh Z, Mesbah-Namin SA, Allameh A. The effect of silymarin on telomerase activity in the human leukemia cell line K562. *Planta medica*. 2012;78(09):899-902. doi: 10.1055/s-0031-1298464
- 17 Pestana A, Vinagre J, Sobrinho-Simões M, Soares P. TERT biology and function in cancer: beyond immortalisation. *Journal of molecular endocrinology*. 2017;58(2):R129-46. doi: 10.1530/jme-16-0195
- 18 Park S, Moon NR, Kang S, Kim DS. Ferulic acid and vinpocetine intake improves memory function by enhancing insulin sensitivity and reducing neuroinflammation and oxidative stress in type 2 diabetic animals with induced Alzheimer's disease. *Journal of Functional Foods*. 2022;95:105180. doi: 10.1016/j.jff.2022.105180
- 19 Hasanloei A, Salamat KM, Hosseini SA. Antioxidant effect of swimming training and royal jelly consumption in the Hippocampus tissue of rats with Alzheimer's disease. *Hormozgan Medical Journal*. 2022;26(1):62-7. doi: 10.34172/hmj.2022.11
- 20 Zoppi CC, Macedo DV. Overreaching-induced oxidative stress, enhanced HSP72 expression, antioxidant and oxidative enzymes downregulation. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2008;18(1):67-76. doi: 10.1111/j.1600-0838.2006.00630.x
- 21 Jafarzadeh G, Shakerian S, Farbood Y, Ghanbarzadeh M. Effects of eight weeks of resistance exercises on neurotrophins and trk receptors in alzheimer model male wistar rats. *Basic and Clinical Neuroscience*. 2021;12(3):349. doi: 10.32598/bcn.2021.2067.1
- 22 Hasani S, Habibian M. The effect of regular high-intensity interval exercise on some apoptotic factors in the brain tissue of old female rats. *KAUMS Journal (FEYZ)*. 2018;22(2):128-33.
- 23 Um HS, Kang EB, Cho IH, Kim CH, Cho JS, Hwang DY. The combination of exercise training and α -lipoic acid treatment has therapeutic effects on the pathogenic phenotypes of Alzheimer's disease in NSE/APPsw-transgenic mice. *International journal of molecular medicine*. 2010;25(3):337-46. doi: 10.3892/ijmm_00000350

- 24 Mokhtari-Zaer A, Ghodrati-Jaldbakhan S, Vafaei AA, Miladi-Gorji H, Akhavan MM, Bandegi AR, et al. Effects of voluntary and treadmill exercise on spontaneous withdrawal signs, cognitive deficits and alterations in apoptosis-associated proteins in morphine-dependent rats. *Behavioural brain research*. 2014;271:160-70. doi: 10.1016/j.bbr.2014.05.061
- 25 Chung JW, Seo JH, Baek SB, Kim CJ, Kim TW. Treadmill exercise inhibits hippocampal apoptosis through enhancing N-methyl-D-aspartate receptor expression in the MK-801-induced schizophrenic mice. *Journal of exercise rehabilitation*. 2014;10(4):218. doi: 10.12965/jer.140144
- 26 Martini F, Régis Leite M, Gonçalves Rosa S, Pregardier Klann I, Wayne Nogueira C. Strength exercise suppresses STZ-induced spatial memory impairment and modulates BDNF/ERK-CAMKII/CREB signalling pathway in the hippocampus of mice. *Cell Biochemistry and Function*. 2020;38(2):213-21. doi: 10.1002/cbf.3470
- 27 Liu T. Effect of exercise on apoptosis in hippocampal cells in an endoplasmic reticulum stress-induced Alzheimer's disease model in rats. *Sports Science*. 2012;32(4):72-6.
- 28 Erdal ME, Yilmaz SG, Ay ME, Kara HG, Özge AA, Tasdelen B. A study investigating the role of 2 candidate SNPs in Bax and Bcl-2 genes in Alzheimer's disease. *Puerto Rico Health Sciences Journal*. 2020;39(3):264-9.
- 29 Saretzki GC. Does telomerase protein protect our neurons?. *Journal of Neurology & Neuromedicine*. 2016;1(2):23-8. doi: 10.29245/2572.942x/2016/2.1025
- 30 Saretzki G. The telomerase connection of the brain and its implications for neurodegenerative diseases. *Stem Cells*. 2023;41(3):233-41. doi: 10.1093/stmcls/sxac078