

The Effect of Aerobic Training on A β 42, RAGE, and LRP-1 Gene Expression in Animal model of Streptozotocin-Induced Alzheimer's Disease

Meysam Fahim¹,
Sadegh Cheragh-birjandi²,
Ali Yaghoubi³,
Vahid Rezaei²,
Moslem Dahmardeh⁴

¹ PhD Student, Department of Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

² Assistant Professor, Department of Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

³ Associate Professor, Department of Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Veterinary, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

(Received December 15, 2025; Accepted February 9, 2026)

Abstract

Background and purpose: The accumulation of amyloid beta (A β) in the hippocampus is a key pathological event in the initiation and progression of Alzheimer's disease. A β levels in the brain are regulated by the receptors RAGE and LRP-1. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of aerobic training on A β 42, RAGE, and LRP-1 expression in the hippocampus of streptozotocin (STZ)-induced Alzheimer's disease rat models.

Materials and methods: Thirty male Wistar rats were randomly divided into three groups (n = 10 per group): healthy control, Alzheimer, and Alzheimer + aerobic training. The Alzheimer's model was induced by intraventricular (ICV) injection of STZ. The aerobic training protocol was performed five sessions per week for eight weeks at a speed of 26 m/min on a treadmill. Memory was assessed using the shuttle box test. Protein expression levels of A β 42, LRP-1, and RAGE in hippocampal tissue were measured using Western blotting. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test.

Results: The expression levels of A β 42 and RAGE in the hippocampus of the Alzheimer's control group were significantly higher than those in the healthy control group (P = 0.001). A β 42 expression was significantly lower in the Alzheimer + aerobic training group compared to the Alzheimer's group (P = 0.016), while the reduction in hippocampal RAGE expression in the Alzheimer + aerobic training group compared to the Alzheimer's group was not statistically significant (P = 0.521). The expression levels of LRP-1 in the hippocampus of the Alzheimer's group were significantly lower than those in the healthy control group (P = 0.003). Moreover, LRP-1 expression in the Alzheimer + aerobic training group was significantly higher than in the Alzheimer's control group (P = 0.036).

Conclusion: Aerobic training, by reducing RAGE expression and increasing LRP-1 levels in the hippocampus, decreases hippocampal A β 42 accumulation, leading to improvements in memory function. Therefore, aerobic training represents a non-pharmacological strategy to modulate disease progression and should be considered in the management of Alzheimer's disease

Keywords: Alzheimer's disease, Aerobic training, A β 42, RAGE, LRP-1

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 35 (254): 3-14 (Persian).

Corresponding Author: Sadegh Cheragh-birjandi - Department of Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran. (E-mail: s_birjandi2001@yahoo.com)

تأثیر تمرین هوازی در تعدیل مسیرهای انتقال آمیلوئید [A β 42] از طریق RAGE و LRP-1 در مدل حیوانی آلزایمر القا شده با استروپزتوسین

میشم فهمیم^۱
صادق چراغ بیرجندی^۲
علی یعقوبی^۳
وحید رضایی^۲
مسلم دهمرده^۴

چکیده

سابقه و هدف: تجمع آمیلوئید بتا (A β) در هیپوکامپ موجب شروع بیماری آلزایمر می شود. سطح A β در مغز توسط RAGE و LRP-1 تنظیم می شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان A β 42، RAGE و LRP-1 هیپوکامپ موش های آلزایمری شده توسط استروپزتوسین (STZ)، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به سه گروه (n=۱۰) شامل گروه کنترل سالم، گروه آلزایمر و گروه آلزایمر + تمرین هوازی تقسیم شدند. مدل آلزایمر با تزریق درون بطن مغزی (ICV) STZ القا شد. پروتکل تمرین هوازی به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته و با شدت ۲۶ متر در دقیقه بر روی نوارگردان اجرا شد. برای ارزیابی حافظه از آزمون شاتل باکس استفاده شد. میزان بیان پروتئین های A β 42، LRP-1 و RAGE در بافت هیپوکامپ با استفاده از روش وسترن بلات اندازه گیری شد. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل داده ها مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها: میزان بیان A β 42 و RAGE هیپوکامپ موش های گروه آلزایمر به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود (P=۰/۰۰۱). بیان A β 42 در گروه آلزایمر + تمرین هوازی نسبت به گروه آلزایمر به طور معنی داری پایین تر بود (P=۰/۰۱۶)، اما با وجود کاهش بیان RAGE هیپوکامپ در گروه آلزایمر + تمرین نسبت به گروه آلزایمر، این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود (P=۰/۵۲۱). میزان بیان LRP-1 هیپوکامپ موش های گروه آلزایمر به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل سالم پایین تر بود (P=۰/۰۰۳). هم چنین میزان بیان این شاخص در گروه آلزایمر + تمرین هوازی نسبت به گروه آلزایمر به طور معنی داری بالاتر بود (P=۰/۰۳۶).

استنتاج: تمرین هوازی از طریق کاهش RAGE و افزایش LRP-1 در هیپوکامپ، کاهش سطح A β 42 هیپوکامپ را باعث می شود که بهبود عملکرد حافظه را در پی دارد. بنابراین می توان عنوان کرد که تمرین هوازی در کنترل پیشرفت بیماری مؤثر است که آن را به عنوان یک استراتژی غیر دارویی و مؤثر در مدیریت بیماری آلزایمر مطرح می سازد.

واژه های کلیدی: بیماری آلزایمر، تمرین هوازی، A β 42، LRP-1، RAGE

E-mail: s_birjandi2001@yahoo.com

مؤلف مسئول: صادق چراغ بیرجندی - دانشجوی دکتری، واحد علوم و پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، دانشکده علوم انسانی

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

۲. استادیار، گروه علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

۳. دانشیار، گروه علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

۴. استادیار، گروه دامپزشکی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۹/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۹/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۱۱/۲۰

مقدمه

بیماری آلزایمر (AD) (Alzheimer's disease) یک اختلال عصبی پیشرونده است که از نظر پاتوفیزیولوژیکی با پلاک آمیلوئید بتا ۴۲ (A β 42) (amyloid beta 42) خارج سلولی، گره‌های نوروفیبریلاری (NFTs) (neurofibrillary tangles) درون سلولی متشکل از پروتئین هیپرفسفریله تائو و مرگ نورونی و همچنین از دست دادن سیناپسی منجر به زوال شناختی مشخص می‌شود (۱). نشان داده شده است که برش درون سلولی پروتئین پیش ساز آمیلوئید (Amyloid precursor protein) (APP) توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک بتا سکریتاز (Beta-secretase) و گاما سکریتاز (Gama-Secretase)، پپتید کوتاهی به نام A β 42 تولید می‌کند که دارای ۴۰-۴۲ اسید آمینه است (۲). مونومرهای A β 42 جدا شده از APP، تمایل دارند تا در طول پیشرفت AD، تجمع یافته و به فیبرهای سمی تبدیل شوند که ارتباطات نورونی را تخریب می‌کنند (۳).

پروتئین‌ها و پپتیدها از سد خون-مغز (BBB) (Blood-Brain Barrier) می‌توانند از طریق سیستم‌های انتقال میانجی شده با حامل ویژه یا میانجی شده با گیرنده در هردو جهت عبور کنند (۴). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های کنترل سطح A β در مغز و جلوگیری از تجمع و سمیت آن در مغز، انتقال آن به بیرون از CNS از طریق BBB است (۵). پیشنهاد شده است که اکثر مقادیر A β متصل به پروتئین از روش وابسته به پروتئین-۱ مرتبط با گیرنده لیپوپروتئین با چگالی پایین (Low-Density Lipoprotein Receptor Related Protein-1) (LRP-1) از مغز حذف می‌شوند. در حالی که انتقال از طریق گیرنده‌ی محصول نهایی گلیکوزیله شده پیشرفته Glycation End- Receptor for Advanced (RAGE) (products)، انتشار A β آزاد فراوانی را به درون مغز ممکن می‌سازد. RAGE و LRP-1 نقش مخالفی در تنظیم انتقال A β از سد مغز-خون بازی می‌کنند (۴، ۶). مدارک فراوانی برای به خطر افتادن BBB در آلزایمر وجود دارد.

از آنجایی که LRP-1، A β را به خارج از مغز و RAGE آن را به درون مغز عبور می‌دهد، این موضوع می‌تواند منجر به کاهش پاک‌سازی و افزایش انتقال A β به درون مغز شود، در نتیجه افزایش بیش‌تر رسوب A β مغز را در پی خواهد داشت که افزایش سمیت آن را باعث می‌شود (۴، ۶). گزارش‌های زیادی نشان داده‌اند که در بیماران آلزایمری و مدل‌های حیوانی آلزایمر، LRP-1 در عروق کوچک مغزی تنظیم منفی (Downregulation) شده و در حالی که RAGE به‌طور همزمان تنظیم مثبت (Upregulation) می‌شود (۴). در این راستا یافته‌های ما (Ma) و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که افزایش RAGE و یا کاهش بیان LRP-1 با تجمع A β 42 ارتباط دارد و اختلالات حافظه و یادگیری را ارتقا می‌بخشد (۷).

تلاش‌های زیادی برای یافتن روش‌های پیشگیری قابل اعتماد و توسعه داروها یا درمان‌های اصلاح‌کننده بیماری برای درمان AD انجام شده است. مشخص است که عادات سبک زندگی با بروز AD مرتبط است. نشان داده شده است که ورزش منظم باعث سازگاری در کل بدن از جمله سیستم عصبی می‌شود. در این راستا در AD تأثیر مثبتی بر تغییر سنتر نوروتروفین، کاهش استرس اکسایشی، التهاب، القای آنزیم‌های تخریب‌کننده A β 42، افزایش عروق و جریان خون و متابولیسم انرژی مغز دارد (۸). لین (Lin) و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تمرین ورزشی طولانی مدت نورون‌های آمیگدال و هیپوکامپ را در برابر تحلیل عصبی آلزایمر، احتمالاً از طریق ارتقای مسیر سیگنال دهی BDNF و افزایش پاک‌سازی A β از فضای مغزی، محافظت می‌کند. تمرین ورزشی می‌تواند به عنوان یک عامل در بر تأخیر انداختن شروع آلزایمر کاربرد داشته باشد (۹). همچنین یعقوبی و همکاران (۲۰۱۶) عنوان کردند که تمرین ورزشی باعث کاهش سطح γ -سکریتاز و کاهش سطح A β 42 در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری می‌شود و تأثیری بر سطح نپریلیزین هیپوکامپ ندارد. آن‌ها نتیجه گرفتند که تمرین ورزشی می‌تواند از طریق

کاهش سطح γ -سکرتاز، به کاهش سطح $A\beta_{42}$ در مغز موش های آلزایمری منجر شود و می تواند به عنوان یک روش درمانی مکمل در بیماران آلزایمر مورد مطالعه قرار گیرد (۱۰). نتایج پژوهش دیگری نشان داد که تمرین هوازی همراه با امگا-۳ با کاهش مسیر آمیلوئیدوژنیک باعث کاهش سطح $A\beta_{42}$ هیپوکامپ موش های آلزایمری می شود (۱۱). نتایج زرین افضل و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که تمرین ورزشی تداومی با شدت متوسط می تواند با افزایش سطوح LRP1 پلاسمایی و پاکسازی محیطی سطوح $A\beta$ در هیپوکامپ، منجر به تعدیل و کنترل عوامل مؤثر در بیماری آلزایمر در رت های آزمایشگاهی شود (۱۲).

به طور کلی، این یافته ها به وضوح بیانگر این هستند که تمرین ورزشی می تواند به عنوان یک روش مؤثر در مدیریت AD مورد استفاده قرار گیرد. اما با مرور مطالعات صورت گرفته می توان دریافت، نکته مهمی که در اکثر مطالعات به آن پرداخته نشده است، تأثیر تمرین ورزشی بر سطح $A\beta_{42}$ و بررسی عوامل انتقال دهنده آن به داخل (RAGE) و خارج (LRP-1) از CNS می باشد. بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر ۸ هفته تمرین هوازی بر بیان $A\beta_{42}$ ، LRP-1 و RAGE هیپوکامپ موش های آلزایمری شده توسط استروپتوزوسین می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، بر روی ۳۰ موش صحرایی نر ویستار انجام شد که به طور تصادفی به سه گروه مساوی ($n=10$ در هر گروه)، کنترل سالم، آلزایمر (تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) (streptozotocin) و آلزایمر+تمرین هوازی، تقسیم شدند. حیوانات در قفس های پلی کربنات استاندارد تحت تهویه مناسب (پنج موش در هر قفس) با دسترسی آزاد به آب آشامیدنی استریل و غذای پلت نگهداری شدند. برای القای مدل حیوانی بیماری آلزایمر، تزریق داخل بطن

مغزی (ICV) (intracerebroventricular) دو طرفه STZ به بطن های جانبی مغز انجام شد. موش های صحرایی نر ویستار با وزن بین ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و سن تقریبی ۸ تا ۱۰ هفته در شروع مداخله استفاده شدند. برای اعتبارسنجی القای موفقیت آمیز مدل آلزایمر، از آزمون شاتل باکس اجتنابی غیرفعال استفاده شد. تأخیر در ورود به محفظه تاریک در طول آزمایش یادآوری به عنوان شاخصی از عملکرد حافظه استفاده شد.

القای بیماری آلزایمر

پس از رسیدن به وزن بدن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم، در مجموع ۲۰ حیوان به طور تصادفی به گروه های آلزایمر انتخاب شدند. بیهوشی از طریق تزریق داخل صفاقی کتامین (۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) القا شد. موش ها در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند و بر اساس مختصات اطلس پاکسینوس و واتسون، تزریق های دو طرفه با هدف قرار دادن بطن های جانبی (قدامی - خلفی: 0.8 - میلی متر، میانی - جانبی: ± 1.4 میلی متر، پشتی - شکمی: 3.6 - میلی متر) انجام شد و با استفاده از سیمان دندانی به مجموعه محکم شدند. پس از یک هفته دوره بهبودی برای اطمینان از بهبودی کامل و شرایط فیزیولوژیکی پایدار، آلزایمر با تزریق ICV نورو توکسین STZ که تازه در بافر سیترات 0.05 مولار ($pH=4.5$) حل شده بود، القا شد. برای اطمینان از پایداری و فعالیت زیستی، محلول به صورت تازه در لوله های میکروسانتریفیوژ پیچیده شده در فویل آلومینیومی برای محافظت از نور تهیه شد. دوز نهایی STZ، ۲ میلی گرم بر کیلوگرم بود که با حجم ۲ میکرولیتر در هر بطن (۲ میکرولیتر در دقیقه) با استفاده از یک میکروسرنج همیلتون متصل به پمپ تزریق، تزریق شد. تزریق به آرامی طی یک دوره دو دقیقه ای در هر طرف انجام شد و سوزن به مدت دو دقیقه دیگر در محل خود نگه داشته شد تا از رفلکس جلوگیری شود و تزریق دقیق تضمین شود (۱۳).

آزمون اجتناب غیرفعال (آزمون شاتل باکس)

برای تأیید القای موفقیت آمیز مدل آلزایمر، آزمون رفتاری اجتناب غیرفعال (شاتل باکس) ۷۲ ساعت پس از تزریق انجام شد. موش‌هایی که کاهش قابل توجهی در تأخیر ورود به محفظه تاریک در مقایسه با مرحله آموزش نشان دادند، به عنوان موش‌هایی که دچار نقص شناختی ابتلا به AD، در نظر گرفته شدند.

در طول مرحله آموزش، موش‌ها در دستگاه قرار داده شدند و پس از ورود به محفظه تاریک، شوک خفیفی به پا وارد شد. مدت زمان شوک ۱۵۰۰ میکرو ثانیه و شدت آن ۱۰۰ میلی آمپر بود. پس از ۲۴ ساعت، تأخیر در ورود به محفظه تاریک بدون هیچ گونه شوکی اندازه‌گیری شد. افزایش تأخیر نشان دهنده حفظ حافظه بود، در حالی که کاهش تأخیر نشان دهنده اختلال شناختی بود (۱۱).

پروتکل تمرین هوازی

پروتکل تمرین هوازی شامل دویدن تداومی روی نوارگردان به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته، بین ساعت ۸:۰۰ تا ۱۲:۰۰ بامداد، در شروع فاز فعال موش‌ها بود. در هفته اول، جلسات با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر درجه به مدت ۱۰ دقیقه شروع شد. مدت زمان و شدت تمرین (سرعت) به تدریج طی سه هفته افزایش یافت و تا هفته ۸ به ۵۵ دقیقه در روز با سرعت ۲۶ متر در دقیقه رسید. پیشرفت از اصل اضافه بار برای اطمینان از سازگاری فیزیولوژیکی پیروی می‌کرد (۱۴).

بافت برداری

برای جمع‌آوری نمونه‌های بافت هیپوکامپ، همه حیوانات ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی با تزریق داخل صفاقی دوز ترکیبی کتامین (۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. متعاقباً، حیوانات از طریق قطع سر مکانیکی، که شامل قطع سر در سطح اولین مهره گردنی

با استفاده از قیچی‌های جراحی تخصصی بود، اتانازی شدند. جمجمه با دقت با استفاده از تیغ جراحی باز شد و مغز به آرامی و بدون آسیب استخراج شد. با استفاده از نشانه‌های آناتومیکی از اطلس پاکسینوس، هیپوکامپ به صورت دو طرفه و طولی تشریح شد. بافت‌های جدا شده هیپوکامپ بلافاصله در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای تجزیه و تحلیل‌های بیوشیمیایی بعدی منجمد شدند. تمام مراحل، از جمله کاشت کانول، القای آلزایمر، پروتکل‌های تمرینی، اتانازی و جمع‌آوری بافت، توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد (IR.IAU.BOJNOURD.REC.1403.003) تأیید شد.

بیان A β 42، RAGE و LRP-1 هیپوکامپ موش‌ها با استفاده از روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. بدین منظور بافت‌های هیپوکامپ در بافر لیز حاوی مهارکننده‌های پروتئاز و مهارکننده‌های فسفاتاز آسیاب شدند. پس از جمع‌آوری مایع رویی، نمونه‌های پروتئین با استفاده از کیت سنجش پروتئین برادفورد اندازه‌گیری شدند. در مجموع ۲۰ میکروگرم از هر نمونه پروتئین برای الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید سدیم دودسیل سولفات ۱۰ درصد و سپس انتقال مرطوب به غشاهای PVDF (Millipore) استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانو متر و با استفاده از دستگاه خوانشگر میکرو پلیت (BioTek ELX800 آمریکا) قرائت گردید. محاسبه غلظت نمونه‌ها بر اساس رسم منحنی استاندارد تغییرات جذب در مقابل غلظت نمونه‌های استاندارد محاسبه گردید. با ضرب عدد حاصل از عدد منحنی استاندارد در ۵۰ مقدار پروتئین در نمونه‌های هموزن بافتی بر حسب ug/ml بدست آمد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از محلول مسدودکننده وسترن QuickBlock™ (P0252; Beyotime) مسدود شدند، ۳ بار در TBST شسته شدند و سپس به مدت یک شب با آنتی‌بادی‌های اولیه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. از آنتی‌بادی اولیه رت A β (Abcam؛ ۱:۱۰۰۰ ab34121)، آنتی‌بادی اولیه رت

آزمون اجتناب غیرفعال از ANCOVA استفاده شد. مقایسه‌های تعقیبی با استفاده از آزمون توکی انجام شد. مقادیر $p \leq 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. همه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در این بخش اطلاعات توصیفی مربوط به تأخیر در ورود به ناحیه تیره (شاتل باکس) موش‌ها در پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه‌های تحقیق ارائه شده است. جدول شماره ۱، مقادیر میانگین و انحراف معیار وزن و تأخیر در ورود به ناحیه تیره موش‌ها در قبل و بعد از ۸ هفته تمرین هوازی در گروه‌های تحقیق را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۱: میانگین و انحراف معیار وزن اولیه موش‌ها بعد از دو هفته القای آلزایمر و وزن پایانی بعد از ۸ هفته تمرین

شاخص	مرحله	گروه		
		کنترل سالم	آلزایمر	آلزایمر + تمرین هوازی
تأخیر در ورود به ناحیه تیره (S)	پیش‌آزمون	۱۶۱/۴۳ ± ۲۴/۸۱	۲۲/۷۹ ± ۹/۷۱	۲۱/۴۶ ± ۷/۱۲
	پس‌آزمون	۱۶۶/۹ ± ۱۱/۱۵	۳۶/۹ ± ۱۲/۴۵	۱۳۱/۹ ± ۱۱/۱۸

* به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین بیان شده است.

تحلیل کوواریانس تفاوت معناداری را برای زمان تأخیر در ورود به ناحیه تیره در پس‌آزمون بین گروه‌های تحقیق نشان داد ($F=23.432$ و $P=0.001$). آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که گروه آلزایمر در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم ($P=0.001$) و گروه آلزایمر+تمرین هوازی ($p=0.02$)، به‌طور معناداری در تأخیر به ورود به ناحیه تیره کم‌تری داشت. علاوه بر این، گروه کنترل سالم در مقایسه با گروه آلزایمر+تمرین هوازی به‌طور معنی‌داری تأخیر طولانی‌تری را نشان داد ($P=0.03$).

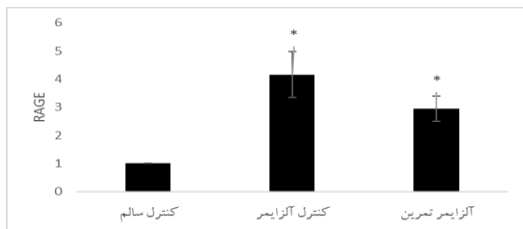
بیان Aβ42 هیپوکامپ گروه‌های تحقیق: در بررسی تفاوت بین گروهی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه، مشخص شد که بین بیان Aβ42 هیپوکامپ گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته از القای آلزایمر و

LRP1 (ab92544؛ ۱:۱۰۰۰ Abcam)، آنتی‌بادی اولیه رت RAGE (ab3611؛ ۱:۱۰۰۰ Abcam) و رت GAPDH (AP0063؛ ۱:۵۰۰۰ Bioworld) استفاده شد. GAPDH به عنوان پروتئین مرجع داخلی استفاده شد. غشاها ۳ بار در TBST شسته شده و با آنتی‌بادی ثانویه مربوطه (TG266717؛ ۱:۱۰۰۰۰ Thermo) به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. محلول ECL (پارس طوس، ایران) با استفاده از سمپلر ۱۰۰۰ بر روی کاغذ PVDF ریخته و به مدت ۱ دقیقه کاغذ را با آن آغشته گردید. بهتر است کاغذ با استفاده از یک پنس چند بار وارونه شود به طوری که دو طرف کاغذ با محلول آغشته شود. کلیه فرایندها در اتاق تاریک انجام می‌شود. پس از خروج از محلول ظهور، کاغذها در یک کاور پلاستیکی قرار داده می‌شوند و با استفاده از خط کش بر روی کاور پلاستیکی کشیده می‌شود تا معرف ECL به طور کامل خارج شود و حبابی وجود نداشته باشد. سپس کاغذها درون کاست پلاستیکی مخصوص دستگاه Imaging کمی داک (Vilber، آمریکا) قرار داده می‌شوند و ظهور و آنالیز باندها با استفاده از نرم‌افزار FUSION FX software انجام می‌شود. حذف زمینه مخدوش با استفاده از سیستم TMClarity انجام می‌شود. برای کمی‌سازی باندها دانسیته هر پروتئین نسبت به پروتئین کالیبراتور در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به دانسیته پروتئین هدف نسبت به پروتئین کالیبراتور در گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت. لازم به توضیح است هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین سه بار به عنوان میزان ۰ بیان ثبت شد.

تحلیل آماری

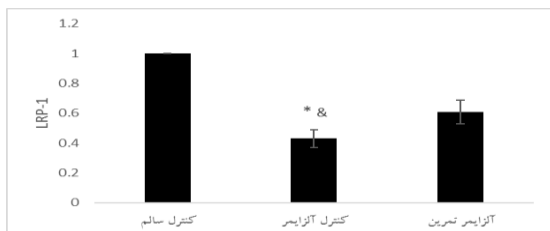
نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک تأیید شد و همگنی واریانس‌ها از طریق آزمون لون بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل متغیرهای بیوشیمیایی از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد، در حالی که برای تجزیه و تحلیل داده‌های رفتاری از

این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P=0/521$). در نمودار شماره ۲ بیان RAGE هیپوکامپ در گروه‌های تحقیق نمایش داده شده است.



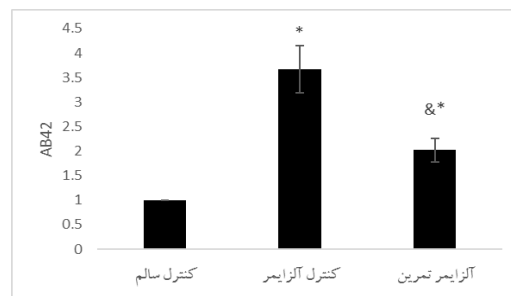
نمودار شماره ۲: تغییرات بیان RAGE بین گروه‌های تحقیق، *؛ نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم در سطح $p \leq 0/05$

بیان LRP-1 هیپوکامپ گروه‌های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین بیان LRP-1 هیپوکامپ گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته از القای آلزایمر و تمرین هوازی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P=0/003$ و $F=11/335$). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان بیان LRP-1 هیپوکامپ موش‌های گروه آلزایمر به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم پایین‌تر بود ($P=0/003$). همچنین میزان بیان این شاخص در گروه آلزایمر+تمرین هوازی نسبت به گروه آلزایمر به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P=0/036$). اما بین بیان LRP-1 هیپوکامپ در موش‌های گروه آلزایمر+تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل سالم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/226$). در نمودار شماره ۳ بیان LRP-1 هیپوکامپ در گروه‌های تحقیق نمایش داده شده است.



نمودار شماره ۳: تغییرات بیان LRP-1 بین گروه‌های تحقیق، *؛ نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم و &؛ نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه آلزایمر+تمرین هوازی در سطح $p \leq 0/05$

تمرین هوازی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($F=35/167$ و $P=0/001$). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان بیان $A\beta 42$ هیپوکامپ موش‌های گروه آلزایمر به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود ($P=0/001$). بیان این شاخص در گروه آلزایمر+تمرین هوازی نسبت به گروه آلزایمر به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($P=0/016$). همچنین بیان $A\beta 42$ هیپوکامپ در موش‌های گروه آلزایمر+تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود ($P=0/002$). در نمودار شماره ۱ بیان $A\beta 42$ هیپوکامپ در گروه‌های تحقیق نمایش داده شده است.



نمودار شماره ۱: تغییرات بیان $A\beta 42$ بین گروه‌های تحقیق، *؛ نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم و &؛ نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه آلزایمر در سطح $p \leq 0/05$

بیان RAGE هیپوکامپ گروه‌های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین بیان RAGE هیپوکامپ گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته از القای آلزایمر و تمرین هوازی تفاوت معناداری وجود دارد ($F=35/66$ و $P=0/001$). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان بیان RAGE هیپوکامپ موش‌های گروه آلزایمر به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود ($P=0/001$). همچنین میزان بیان این شاخص در گروه آلزایمر+تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P=0/001$), اما با وجود کاهش بیان RAGE هیپوکامپ در موش‌های گروه آلزایمر+تمرین هوازی نسبت به گروه آلزایمر،

بحث

بیماری آلزایمر به عنوان یک اختلال عصبی تحلیل برنده، با تجمع پپتیدهای $A\beta_{42}$ و اختلال در عملکرد BBB شناخته می شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که القای STZ به بطن مغز موش ها باعث افزایش بیان $A\beta_{42}$ ، RAGE و کاهش بیان LRP-1 در هیپوکامپ موش ها شد. این الگو کاملاً با پاتوفیزیولوژی بیماری آلزایمر مطابقت دارد، که در آن افزایش RAGE موجب تسهیل ورود $A\beta$ به مغز و تشدید التهاب عصبی می شود و کاهش LRP-1 نیز پاکسازی $A\beta_{42}$ از مغز را با اختلال مواجه می سازد (۷). مدارک فراوانی برای به خطر افتادن BBB در آلزایمر وجود دارد. BBB یک اثر فیلتراسیون انتخابی دارد که متابولیسم مغز را تثبیت می کند. این سد ارتباط نزدیکی با تعادل تولید و پاکسازی $A\beta_{42}$ در مغز دارد (۱۵). عنوان شده است که اختلال عملکرد BBB می تواند منجر به اختلال در انتقال $A\beta_{42}$ از گردش خون مغزی به گردش خون محیطی شود (۱۶). LRP1 و RAGE پروتئین های اصلی انتقال روی BBB هستند که مسئول انتقال و پاکسازی $A\beta_{42}$ هستند (۷، ۱۷). دوناهو (Donahue) و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که آلزایمر ارتباط نزدیکی با تغییرات در گیرنده های اندوتلیال LRP1 و RAGE در BBB بافت مغز انسان دارد (۴). به طور خاص، کاهش سطح LRP1 افزایش سطح RAGE در BBB منجر به عدم انتقال $A\beta$ می شود (۷). از طرف دیگر برخی از مطالعات نشان داده اند که سطوح $A\beta$ پلاسمایی در افراد در معرض خطر در طی مرحله پیش از علائم (مراحل اولیه)، افزایش می یابد، اما سپس با رشد و پیشرفت AD شروع به افت می کند (۱۸). از آنجایی که LRP-1، $A\beta$ را به خارج از مغز و RAGE آن را از طریق سد خون-مغز به درون مغز عبور می دهد. این موضوع نشان تخریب عملکرد BBB در اثر افزایش سطح $A\beta$ و افزایش استرس اکسایشی و التهاب ناشی از آن باشد (۱۹، ۲۰). بنابراین می توان این فرایند در مغز بیماران AD را به چرخه

معیوبی توصیف کرد که افزایش سطح $A\beta$ در مراحل اولیه AD باعث افزایش استرس اکسایشی و التهاب می شود که تخریب BBB را باعث می شوند. تخریب BBB با کاهش LRP-1 و افزایش RAGE همراه است که خود باعث افزایش بیش تر سطح $A\beta$ در مغز و تشدید علائم بیماری و پیشرفت آن می گردد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی باعث کاهش بیان $A\beta_{42}$ ، RAGE و افزایش بیان LRP-1 هیپوکامپ موش های آلزایمری شده توسط STZ شد. در این ارتباط لین و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تمرین ورزشی طولانی مدت سطوح $A\beta_{40}$ و $A\beta_{42}$ را در آمیگدال و هیپوکامپ موش های تراریخته آلزایمری کاهش داد. تمرین ورزشی تغییری در سطوح APP و یا RAGE ایجاد نکرد اما سطح LRP-1 را به طور معنی داری در هر دو ناحیه مغزی افزایش داد و بنابراین نوروپاتی های آمیگدال و هیپوکامپ را در برابر تحلیل عصبی آلزایمر، احتمالاً از طریق افزایش پاک سازی $A\beta$ از فضای مغزی (افزایش سطح LRP-1)، محافظت می کند (۹). همراسا با نتایج تحقیق حاضر یوآن (Yuan) و همکاران (۲۰۲۳) با قرار دادن موش های محروم از خواب (SD) (sleep deprivation) در محیط غنی شده (EE) (enriched environment) و ارزیابی بیان پروتئین $A\beta$ ، RAGE و LRP-1 در قشر حرکتی و هیپوکامپ، عنوان کردند که EE می تواند به طور موثری اثرات SD بر اختلال شناختی را بهبود بخشد، رسوب $A\beta$ ناشی از SD را کاهش دهد و بیان RAGE را کاهش دهد، در حالی که بیان LRP1 را افزایش می دهد (۱۷). هم چنین زرین افضل و همکاران (۲۰۲۰) عنوان داشتند که تمرین ورزشی تداومی می تواند با افزایش سطوح LRP-1 پلاسمایی و پاکسازی محیطی سطوح $A\beta$ در هیپوکامپ، منجر به تعدیل و کنترل عوامل مؤثر در AD در رت های آزمایشگاهی شود (۱۲). اما در سال ۲۰۱۸، راموس-سجودو (Ramos-Cejudo) و همکاران هیچ تغییر قابل توجهی در LRP1 پیدا نکردند،

اگر چه آن ها پس از ورزش طولانی مدت روی نوارگردان، کاهش RAGE در هیپوکامپ را مشاهده کردند که منجر به کاهش رسوب $A\beta$ شد، اما عنوان داشتند که همچنان این کاهش در رسوب $A\beta$ عمدتاً از طریق مهار مسیر سنتز آن از APP حاصل می شود (۲۱). خدادادی و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان دادند که القای آلزایمر از طریق $A\beta$ ، باعث کاهش بیان و پروتئین LRP-1 هیپوکامپ موش های می شود و ۴ هفته تمرین ورزشی نوارد گردان با افزایش سطح LRP-1 هیپوکامپ کاهش $A\beta$ را در پی داشت (۲۲).

چندین تحقیق ثابت کرده اند که تزریق درون بطنی مغز پپتید $A\beta_{40}$ بعضی از علائم آلزایمر در موش ها، از جمله استرس اکسایشی، التهاب عصبی و اختلال در عملکرد شناختی را ایجاد خواهد کرد (۲۰، ۲۷-۲۳). در این راستا نشان داده اند که تزریق $A\beta_{40}$ با القای آسیب رادیکال آزاد و تغییرات در دفاع آنتی اکسیدانی مثل تخلیه گلو تاتیون در قشر پیش پیشانی و هیپوکامپ موش ها ارتباط دارد (۲۳، ۲۴، ۲۷). هم چنین نشان داده شده است که $A\beta$ به عنوان یک عامل پیش التهابی عمل می کند و باعث فعال سازی چندین ترکیب التهابی می شود (۲۸). همان طور که عنوان شد این افزایش استرس اکسایشی و التهاب باعث تخریب BBB می گردد که انتقال مواد از عرض آن را با مشکل مواجه می کند (۱۹، ۲۰). نشان داده شده است که فعالیت شدید باعث افزایش عوامل التهابی و استرس اکسایشی می گردد و بر عکس تمرین ورزشی مزمن طولانی مدت کاهش بیان این عوامل را در پی دارد (۲۹، ۳۰). پارک (Park) و همکاران (۲۰۱۰) یک فرایند چرخه ای تحریک $A\beta$ در التهاب را ارائه داده و پیشنهاد می کنند که سیگنال دهی عامل نکروز تومور- α (Tumor necrosis factor- α) (TNF- α)، نهایتاً منجر به تولید پپتیدهای بیماری زای $A\beta$ جدید می گردد و افزایش تولید آن و در نتیجه آلزایمر را در پی دارد که می تواند یک دوره چرخه نیرومندتر را ایجاد کند (۳۱). هم چنین نشان داده شده است

که سطح SOD-1 و پروتئین کاتالاز در مغز موش های آلزایمری فعال نسبت به غیرفعال افزایش معناداری دارد. محققان عنوان داشتند که با استفاده از فعالیت ورزشی منظم می توان استرس اکسایشی و آپوپتوز را در مغز موش های آلزایمری را کاهش می دهد که تعدیل سطح $A\beta_{42}$ را در پی دارد (۳۲). بنابراین می توان این فرایند در مغز بیماران AD را به چرخه معیوبی توصیف کرد که افزایش سطح $A\beta$ در مراحل اولیه AD باعث افزایش استرس اکسایشی و التهاب می شود که تخریب BBB را باعث می شوند. تخریب BBB با کاهش LRP-1 و افزایش RAGE همراه است که خود باعث افزایش بیش تر سطح $A\beta$ در مغز و تشدید علائم بیماری و پیشرفت آن می گردد. تمرین هوازی از طریق بهبود استرس اکسایشی و التهاب و کاهش سطح $A\beta_{42}$ ، می تواند روند این چرخه را کند کند.

مطالعه حاضر نشان داد که تمرین هوازی باعث کاهش بیان RAGE و $A\beta_{42}$ و افزایش LRP-1 در هیپوکامپ موش های آلزایمری شده توسط STZ می شود. احتمالاً تمرین هوازی از طریق کاهش RAGE و افزایش LRP-1 در هیپوکامپ، کاهش سطح $A\beta_{42}$ هیپوکامپ را باعث می شود که بهبود عملکرد حافظه را در پی داشته است. بنابراین می توان عنوان کرد که تمرین هوازی در کنترل پیشرفت بیماری مؤثر است که آن را به عنوان یک استراتژی غیردارویی و مؤثر در مدیریت بیماری آلزایمر مطرح می سازد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه مقطع دکتری تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد می باشد. بدین وسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد. هم چنین از پرسنل آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. Duong MT, Chen YJ, Doot RK, Young AJ, Lee H, Cai J, et al. Astrocyte activation imaging with ¹¹C-acetate and amyloid PET in mild cognitive impairment due to Alzheimer pathology. *Nucl Med Commun* 2021; 42(11):1261-1269.
2. Kapoor M, Chinnathambi S. TGF- β 1 signalling in Alzheimer's pathology and cytoskeletal reorganization: a specialized Tau perspective. *J Neuroinflammation* 2023; 20(1): 72 PMID: 36915196.
3. Ding S, Zhu Y, Zhu A, Shi G. A stimuli-responsive polymer modified nanopore for measuring β -amyloid peptide and zinc ions in brains of live mice with Alzheimer's disease. *Sens Diagn* 2023; 2:851-857.
4. Donahue JE, Flaherty SL, Johanson CE, Duncan III JA, Silverberg GD, Miller MC, et al. RAGE, LRP-1, and amyloid-beta protein in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2006; 112(4): 405-415 PMID: 16865397.
5. Erickson MA, Niehoff ML, Farr SA, Morley JE, Dillman LA, Lynch KM, et al. Peripheral administration of antisense oligonucleotides targeting the amyloid- β protein precursor reverses A β PP and LRP-1 overexpression in the aged SAMP8 mouse brain. *J Alzheimer's Dis* 2012; 28(4):951-960.
6. Liu H, Funke SA, Willbold D. Transport of Alzheimer disease amyloid- β -binding D-amino acid peptides across an in vitro blood-brain barrier model. *Rejuvenation Res* 2010; 13(2-3): 210-213 PMID: 19954305.
7. Ma LY, Fei YL, Wang XY, Wu SD, Du JH, Zhu M, et al. The research on the relationship of RAGE, LRP-1, and A β accumulation in the hippocampus, prefrontal lobe, and amygdala of STZ-induced diabetic rats. *J Mol Neurosci* 2017; 62(1): 1-10 PMID: 28401370.
8. Paillard T, Rolland Y, De Souto Barreto P. Protective effects of physical exercise in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: a narrative review. *J Clin Neurol* 2015; 11(3): 212-219 PMID: 26174783.
9. Lin TW, Shih YH, Chen SJ, Lien CH, Chang CY, Huang TY, et al. Running exercise delays neurodegeneration in amygdala and hippocampus of Alzheimer's disease (APP/PS1) transgenic mice. *Neurobiol Learn Mem* 2015; 118: 189-197 PMID: 25543023.
10. Yaghoubi A, Saghebjo M, Fallah-Mohammadi Z, Hedayati M, Moghaddam AH. Effects of eight weeks aerobic training on levels of amyloid β 42, neprilysin and γ -secretase in the hippocampus of male rat Alzheimer's model by homocysteine injection. *koomesh* 2016; 17(4): 996-1005.
11. Yaghoubi A. Changes in A β 42, Neprilysin, and γ -Secretase in the Hippocampus of Male Rats Alzheimer's model: The Effects of Aerobic Training and Omega-3 Intake. *J Kerman Univ Med Sci* 2023;30(3):136-145.
12. Zarin Afzal M, Kazemzadeh Y, Sedaghati S, Mirzayan S, Banaeifar A. The effect of a moderate-intensity interval training on the plasma levels of LDL receptor-related protein-1 (LRP1) and cerebral and plasma levels of amyloid beta in induced Alzheimer's rats. *EBNESINA* 2020; 22(4): 21-28.
13. Moreira-Silva D, Vizin RC, Martins TM, Ferreira TL, Almeida MC, Carrettiero DC. Intracerebral injection of streptozotocin to

- model Alzheimer disease in rats. *Bio Protoc* 2019; 9(20): e3397 PMID: 33654898.
14. De Assis GG, De Souza EON, De Almeida-Neto PF, Ceylan Hİ, Bragazzi NL. A Proposal for a Noxious Stimuli-Free, Moderate-Intensity Treadmill Running Protocol to Improve Aerobic Performance in Experimental Research on Rats. *Metabolites* 2024; 14(10):534.
 15. Kut C, Grossman SA, Blakeley J. How critical is the blood-brain barrier to the development of neurotherapeutics? *JAMA Neurol* 2015; 72(4): 381-382 PMID: 25642802.
 16. Cai Z, Qiao P-F, Wan C-Q, Cai M, Zhou N-K, Li Q. Role of blood-brain barrier in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2018;63(4):1223-1234 PMID: 29782323.
 17. Yuan R, Yisen Z, Xiu W, Wei T, Wei W. Effects of enriched environment on the expression of β -amyloid and transport-related proteins LRP1 and RAGE in chronic sleep-deprived mice. *Transl Neurosci* 2023; 14(1): 20220301 PMID: 37692085.
 18. Kawarabayashi T, Shoji M. Plasma biomarkers of Alzheimer's disease. *Curr Opin Psychiatry* 2008; 21(3): 260-267 PMID: 18382225.
 19. Uslu S, Akarkarasu ZE, Ozbabalik D, Ozkan S, Çolak O, Demirkan ES, et al. Levels of amyloid beta-42, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurochem Res* 2012; 37(7): 1554-1559 PMID: 22437436.
 20. Souza LC, Carlos Filho B, Goes AT, Del Fabbro L, de Gomes MG, Savegnago L, et al. Neuroprotective Effect of Physical Exercise in a Mouse Model of Alzheimer's Disease Induced by β -Amyloid1-40 Peptide. *Neurotox Res* 2013; 24(2):148-163.
 21. Ramos-Cejudo J, Wisniewski T, Marmar C, Zetterberg H, Blennow K, de Leon MJ, et al. Traumatic brain injury and Alzheimer's disease: the cerebrovascular link. *EBioMedicine* 2018; 28:21-30 PMID: 29396300.
 22. Khodadadi D, Gharakhanlou R, Naghdi N, Salimi M, Azimi M, Shahed A, et al. Treadmill exercise ameliorates spatial learning and memory deficits through improving the clearance of peripheral and central amyloid-beta levels. *Neurochem Res* 2018; 43(8): 1561-1574 PMID: 29948724.
 23. Prediger RD, Franco JL, Pandolfo P, Medeiros R, Duarte FS, Di Giunta G, et al. Differential susceptibility following β -amyloid peptide-(1-40) administration in C57BL/6 and Swiss albino mice: Evidence for a dissociation between cognitive deficits and the glutathione system response. *Behav Brain Res* 2007; 177(2): 205-213 PMID: 17194489.
 24. . Piermartiri TC, Figueiredo CP, Rial D, Duarte FS, Bezerra SC, Mancini G, et al. Atorvastatin prevents hippocampal cell death, neuroinflammation and oxidative stress following amyloid- β 1-40 administration in mice: evidence for dissociation between cognitive deficits and neuronal damage. *Exp Neurol* 2010; 226(2): 274-284 PMID: 20816828.
 25. Medeiros R, Figueiredo CP, Pandolfo P, Duarte FS, Prediger RD, Passos GF, et al. The role of TNF- α signaling pathway on COX-2 upregulation and cognitive decline induced by β -amyloid peptide. *Behav Brain Res* 2010; 209(1): 165-173 PMID: 20122965.

26. Passos GF, Figueiredo CP, Prediger RD, Silva KA, Siqueira JM, Duarte FS, et al. Involvement of phosphoinositide 3-kinase γ in the neuro-inflammatory response and cognitive impairments induced by β -amyloid 1–40 peptide in mice. *Brain Behav Immun* 2010; 24(3): 493-501 PMID: 20025958.
27. Santos DB, Peres KC, Ribeiro RP, Colle D, Dos Santos AA, Moreira EL, et al. Probucol, a lipid-lowering drug, prevents cognitive and hippocampal synaptic impairments induced by amyloid β peptide in mice. *Exp Neurol* 2012; 233(2): 767-775 PMID: 22173317.
28. Tuppo EE, Arias HR. The role of inflammation in Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37(2):289-305 PMID: 15474976.
29. Guo M, Lin V, Davis W, Huang T, Carranza A, Sprague S, et al. Preischemic induction of TNF- α by physical exercise reduces blood–brain barrier dysfunction in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008;28(8):1422-1430 PMID: 18414498.
30. Beiter T, Hoene M, Prenzler F, Mooren FC, Steinacker JM, Weigert C, et al. Exercise, skeletal muscle and inflammation: ARE-binding proteins as key regulators in inflammatory and adaptive networks. *Exerc Immunol Rev* 2015; 21: 42-57 PMID: 25826388.
31. Park KM, Bowers WJ. Tumor necrosis factor-alpha mediated signaling in neuronal homeostasis and dysfunction. *Cell Signal* 2010;22(7):977-983 PMID: 20096353.
32. 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): 529-539 PMID: 18813861.