

اثر تمرین هوازی همراه با مکمل رزوراترول بر بیان ژن Wnt/بتا-کاتنین هیپوکمپ موش‌های مبتلا به آلزایمر

محبوبه رنجبر^۱، مریم نقیب زاده^۲، احمد عبدی^۳، قاسم ترابی پلت کله^۴

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲- نویسنده مسئول: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. پست الکترونیک: m.naghizadeh@ilam.ac.ir

۳- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله علمی، آمل، ایران

۴- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه غیردولتی قدیر لنگرود، لنگرود، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: بیماری آلزایمر (AD) یک بیماری عصبی پیشرونده و علت اصلی زوال عقل مرتبط با سن است که با اختلال عملکرد شناختی و در حافظه مشخص می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که سیگنال‌دهی نامنظم Wnt/بتا-کاتنین نقش مهمی در پاتوژنز AD ایفا می‌کند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثربخشی تمرین هوازی همراه با مکمل رزوراترول بر بیان ژن Wnt/بتا-کاتنین هیپوکمپ موش‌های مبتلا به آلزایمر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به پنج گروه کنترل (NO)، آلزایمر (AD)، آلزایمر-تمرین (ADT)، آلزایمر-رزوراترول (ADRSV) و آلزایمر-تمرین-رزوراترول (ADTRSV) تقسیم شدند. برای القای آلزایمر از آمیلوئید بتای ۱-۴۲ استفاده شد. گروه‌های ADRSV و ADTRSV طی دوره مداخله روزانه رزوراترول (۲۰ میلی گرم/کیلوگرم) را به صورت خوراکی دریافت کردند. برنامه تمرین هوازی هشت هفته‌ای شامل دویدن روی نوارگردان بود که با سرعت ۶-۱۸ متر در دقیقه در هر جلسه و با تکرار پنج روز در هفته اجرا شد. تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) با استفاده از کلروفرم بی‌هوش و فدا شدند. بیان ژن Wnt/بتا-کاتنین به روش Real time-PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ تجزیه شد.

یافته‌ها: القای AD باعث کاهش معنی‌داری در بیان ژن Wnt و بتا-کاتنین نسبت به گروه NO شد ($p=0.001$). تمرین و RSV باعث افزایش بیان ژن Wnt (به ترتیب، $p=0.025$ ، $p=0.045$) و بتا-کاتنین (به ترتیب، $p=0.015$ ، $p=0.021$) نسبت به گروه AD شد. همچنین افزایش معنی‌داری در میزان بیان ژن Wnt و بتا-کاتنین در گروه ADTRSV نسبت به گروه‌های ADT (به ترتیب، $p=0.027$ ، $p=0.026$) و ADRSV (به ترتیب، $p=0.014$ ، $p=0.018$) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج تحقیق که اثرات محافظتی فعالیت بدنی و RSV بر تنظیم نوروزنز هیپوکامپ از طریق مسیر سیگنال‌دهی Wnt را در هیپوکمپ موش‌های مبتلا به آلزایمر (AD)، نشان می‌دهد، می‌توان از این دو روش درمانی برای بهبود بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی از قبیل آلزایمر (AD) استفاده کرد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، رزوراترول، مسیر سیگنالینگ Wnt، هیپوکمپ، بیماری آلزایمر

پیام‌های اصلی

- بیماری آلزایمر با اختلال در مسیر مهم Wnt/ β -catenin که برای بقا، عملکرد و شکل‌گیری سیناپس‌های عصبی حیاتی است، مرتبط می‌باشد. این مطالعه نشان می‌دهد که ترکیب ورزش و رزوراترول می‌تواند این مسیر سرکوب شده را دوباره فعال کرده و به حالت طبیعی نزدیک کند.
- تأثیر همزمان تمرین هوازی و مکمل‌دهی رزوراترول در بهبود علائم آلزایمر و عوامل مولکولی مرتبط با آن، قوی‌تر و مؤثرتر از استفاده از هر یک از این روش‌ها به تنهایی است. این تحقیق بر اهمیت "رویکرد ترکیبی" در درمان بیماری‌های عصبی تأکید می‌کند.
- ورزش هوازی به خودی خود یک محرک قوی برای سلامت مغز است. رزوراترول، به عنوان یک ترکیب ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان قوی، ممکن است با تقویت سیگنال‌های مفید تولید شده توسط ورزش و خنثی کردن عوامل مضر (مانند رادیکال‌های آزاد و التهاب)، محیط بهتری برای ترمیم و محافظت از نورون‌ها فراهم کند.

• مقدمه

همزمان چندین عامل پاتوژنیک از جمله اختلالات سیگنالینگ Wnt را هدف قرار می‌دهند، پرنک می‌سازد. در این راستا، فعالیت ورزشی هوازی به‌عنوان یک راهبرد غیردارویی امیدوارکننده مطرح است. شواهد نشان می‌دهند سبک زندگی فعال در بزرگسالان و سالمندان می‌تواند سلامت مغز را بهبود بخشد و اختلالات شناختی مرتبط با افزایش سن را کاهش دهد (۸). به ویژه، فعالیت ورزشی طولانی مدت با شدت متوسط (به مدت ۱۲ هفته) قادر به تحریک سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کاتنین از طریق کاهش سطح سرمی پروتئین مهارکننده Wnt DKK1 (Dickkopf-1) در انسان‌ها است (۹). همچنین، بهبود عملکرد شناختی ناشی از ورزش با القای بیان ژن Wnt در هیپوکامپ همراه است (۸). این یافته‌ها نشان می‌دهد که فعال‌سازی سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کاتنین یک مکانیسم بالقوه است که زمینه‌ساز بهبود شناختی مرتبط با سبک زندگی فعال می‌باشد. جالب‌تر اینکه مهار این مسیر موجب افزایش سطح β می‌شود (۱۰)، که گواهی بر ارتباط دوگانه این مسیر با پاتولوژی اصلی AD است. راهبرد مکمل دیگر، استفاده از رزوراترول RSV (Resveratrol) پلی‌فنول طبیعی موجود در منابعی مانند انگور، بادام‌زمینی و میوه‌ها است (۱۱). مطالعات نشان می‌دهند RSV نه تنها از طریق فعال‌سازی مسیر SIRT1/AMPK موجب القای اتوفاژی و مهار آپوپتوز در بافت عصبی (در قشر مغز و هیپوکامپ) می‌شود (۱۲)، بلکه می‌تواند مسیر Wnt/بتا-کاتنین را نیز فعال کند. به‌طور مثال، RSV در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار، که به ترتیب به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند، در رده‌های سلولی سرطان کولورکتال انسانی موجب افزایش سطوح Wnt3a و- β کاتنین و مهار GSK-3 β شده است (۱۳). همچنین، فعال‌سازی

بیماری آلزایمر AD (Alzheimer's disease) یک اختلال عصبی پیشرونده و مزمن است که با ویژگی‌های پاتولوژیک کلیدی از جمله تجمع پلاک‌های آمیلوئید-بتا (β A β) و توده‌های نوروفیبریلاری تاو فسفریله شده در ساختار هیپوکامپ شناخته می‌شود. این تغییرات منجر به زوال سیناپسی، مرگ نورون‌ها، آتروفی مغزی و در نهایت اختلالات شناختی برگشت‌ناپذیر می‌گردد (۱). بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۹، مرگ‌ومیر ناشی از AD بیش از ۱۴۵ درصد افزایش یافته و این بیماری را به یک چالش جهانی سلامت تبدیل کرده است (۲). علیرغم تحقیقات گسترده، هیچ درمان مؤثری برای متوقف‌سازی یا معکوس کردن روند AD یافت نشده است. این شکست درمانی، لزوم فوری کشف سازوکارهای پاتوژنیک عمیق‌تر و شناسایی اهداف درمانی نوین را آشکار می‌سازد.

یکی از مسیرهای سیگنالینگ حیاتی که اختلال آن نقش بارزی در پاتوژنز AD ایفا می‌کند، مسیر سیگنالینگ Wnt (Wnt/ β -catenin) (ترکیبی از Wingless و Int-1) است. این مسیر در تنظیم فرآیندهای حیاتی سلولی نظیر تکثیر، تمایز و بقای سلولی نقش دارد (۳). اختلال در سیگنالینگ Wnt حساسیت نورون‌ها را به آپوپتوز ناشی از β A β افزایش می‌دهد (۴)، نورون‌های هیپوکامپ بالغین را مختل می‌کند و با کاهش ترشح پروتئین‌های Wnt از آستروسیت‌ها در پیری تشدید می‌شود (۵). در مقابل، فعال‌سازی این مسیر مرگ نورون‌های ناشی از β A β و اختلالات رفتاری را کاهش می‌دهد (۴) و برای انعطاف‌پذیری سیناپسی (Synaptic Plasticity) و انتقال عصبی ضروری است (۶). شکست تمام آزمایشات بالینی مبتنی بر داروهای ضد β A β طی ۲۵ سال گذشته (۷)، ضرورت اتخاذ راهبردهای ترکیبی نوین را که

هیپوکامپ علامت گذاری شد و مجموعه به آرامی سوراخ گردید. از سرنگ همیلتون برای تزریق $A\beta$ استفاده شد. دو میکرولیتر $A\beta$ به صورت دو طرفه به آرامی در حدود یک دقیقه تزریق شد. تایید ابتلا به آلزایمر با استفاده از ارزیابی حافظه احترازی غیر فعال انجام شد. برای ارزیابی حافظه احترازی غیر فعال از دستگاه شاتل باکس استفاده شد. این آزمایش در دو روز پشت سر هم انجام می شود. روز اول یا روز آموزش، شامل آموزش دادن حیوان در دستگاه می باشد و روز دوم یا روز آزمون، شامل بررسی یا سنجش میزان حافظه حیوانات آموزش دیده است. در روز آموزش، هر حیوان در محفظه سفید دستگاه قرار می گیرد و پس از گذشت پنج ثانیه درب گیوتینی باز می شود. مدت زمانی که حیوان برای ورود به بخش تاریک دستگاه صبر می کند، ثبت می گردد. حیواناتی که بیش از ۱۰۰ ثانیه از داخل شدن به درون بخش تاریک، خودداری کردند، از ادامه آزمایش ها حذف شدند. پس از ورود حیوان به بخش تاریک درب بسته شده و پس از گذشت ۲۰ ثانیه از دستگاه خارج می شود. ۲۰ دقیقه بعد حیوان مجدداً درون محفظه روشن قرار می گیرد و پس از ۵ ثانیه درب باز شده، مدت زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک ثبت می گردد. پس از ورود حیوان درب بسته شده و تحریک الکتریکی به مدت ۲ ثانیه وارد می شود. ۲۰ ثانیه بعد از شوک، حیوان به قفس نگهداری، منتقل می گردد. دو دقیقه بعد مجدداً حیوان را در محفظه روشن قرار داده و میزان تاخیرش در ورود به محفظه سیاه ثبت می گردد. اگر تاخیر حیوان بیشتر از ۱۲۰ ثانیه باشد، نشان دهنده این است که یادگیری اجتنابی غیر فعال شکل گرفته است. ۲۴ ساعت بعد از آموزش، مرحله آزمون برای سنجش حافظه طولانی مدت انجام می گیرد. به این صورت که هر موش در محفظه روشن دستگاه قرار داده و پس از ۵ ثانیه درب باز می شود. سپس مدت زمان تاخیر ورود حیوان به محفظه تاریک ثبت می گردد. در این مرحله حیوان هیچ گونه شوک الکتریکی دریافت نمی کند. در این آزمایش ها سقف زمانی برای توقف موش در محفظه روشن حداکثر ۷۰۰ ثانیه بود. موشی که به یاد می آورد در بخش تاریک دستگاه، شوک دریافت کرده است، تمایلش را برای ورود به این بخش مهار نموده و از ورود به آن اجتناب می کند. کاهش تاخیر در ورود به بخش تاریک نشان دهنده تضعیف حافظه است و افزایش زمان تاخیر نشان دهنده بهبود حافظه می باشد (۱۵).

پروتکل تمرین: برنامه تمرین موش های صحرایی AD در جدول ۱ آورده شده است. تمرین ورزشی روی تردمیل از ۲ ماهگی آغاز شد و در ۱۰ ماهگی حیوانات پایان یافت. تمرین به دو مرحله آشنایی با تمرین (دو هفته) و سازگاری با تمرین

مستقیم این مسیر توسط RSV، اثرات نوروپروتکتیو در مدل بیماری پارکینسون نشان داده است (۱۴).

با وجود اهمیت مسیر Wnt/بتا-کاتنین در عملکرد هیپوکامپ مبتلایان به AD و شواهد مستقل مبنی بر تاثیر مثبت ورزش و RSV بر این مسیر، مطالعه ای به بررسی اثر ترکیبی این دو مداخله بر بهبود سیگنالینگ Wnt در مدل های AD پرداخته است. این شکاف دانشی، مانع از درک پتانسیل سینرژیک (هم افزایی) این راهبردهای غیردارویی شده است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف پرکردن این خلاء و با فرضیه محوری اثر فزاینده تر ترکیب تمرین هوازی و مکمل رسانی رزوراترول (نسبت به هر یک به تنهایی) بر بهبود بیان ژن های کلیدی مسیر Wnt/بتا-کاتنین در هیپوکامپ موش های مبتلا به AD طراحی شد. کاربرد نتایج این تحقیق می تواند مبنایی برای توسعه پروتکل های درمانی ترکیبی غیرتهاجمی و مبتنی بر سبک زندگی جهت تعدیل پاتولوژی AD از طریق تقویت سیگنالینگ Wnt فراهم آورد.

• مواد و روش ها

نمونه های پژوهش: تحقیق حاضر با توجه به ماهیت و روش اجرای آن در زمره تحقیقات آزمایشگاهی و تجربی است. در این پژوهش همه آزمایش ها بر اساس خط مشی های قرارداد هلسینگی انجام شد و قوانین راهنمای مؤسسه ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر ۸ هفته ای با نژاد ویستار و میانگین وزن $223/17 \pm 9/08$ گرم از مؤسسه پاستور تهیه شد و به آزمایشگاه حیوانی منتقل شدند. دمای محیط 22 ± 3 درجه سانتی گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از سازگاری موش ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش ها به پنج گروه هفت سری شامل (۱) کنترل (NO)، (۲) آلزایمر-مرجع (AD)، (۳) آلزایمر-تمرین (ADT)، (۴) آلزایمر-رزوراترول (ADRSV)، (۵) آلزایمر-تمرین-رزوراترول (ADTRSV) قرار گرفتند.

نحوه القای آلزایمر: برای القای آلزایمر از آمیلوئید بتای ۴۲-۱ خریداری شده از شرکت سیگما-آلدیج استفاده شد. ابتدا آمیلوئید بتای ۴۲-۱ در آب مقطر دو بار استریل شده حل و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد آنکوبه شد. برای جراحی، موش ها با تزریق کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بی هوش و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. موهای روی سر تراشیده، و درز برگما و لامبدا با یک برش ساجیتال مشخص شد. در ادامه ناحیه CA1

پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) حیوانات با استفاده از کلروفرم بی‌هوش و قربانی شدند. بافت هیپوکامپ بلافاصله پس از جداسازی و شست و شو با سالیین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تاثیر آهنگ شبانه روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و ۱۱:۳۰ به اتمام رسید.

طراحی و آماده‌سازی پرایمر: جدول ۲ الگوی پرایمر را نمایش می‌دهد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

(هشت هفته) تقسیم شد (جدول ۱). تمرین در شب بین ساعت ۷:۰۰ بعد از ظهر و ۱۰:۰۰ شب در شرایط اتاق تاریک انجام شد تا از استرس ناشی از اختلال در ریتم شبانه‌روزی طبیعی موش‌ها جلوگیری شود. برای تشویق به انجام کامل تمرین از محرک‌های غیر استرس زا مانند لمس پشت موش‌ها استفاده شد (۱۶).

دریافت رزوراترول: رزوراترول (۲۰ میلی گرم/کیلوگرم از سیگما آلدریج) یا حجمی معادل آن سالیین (محلول نمکی) هر روز صبح (بین ساعت ۸ صبح تا ۱۰ صبح) به مدت ۲ ماه (۸ هفته) به صورت گاواژ و کاملاً یکسان به موش‌ها تجویز شد (۱۷). در گروه ترکیبی، دریافت رزوراترول هر روز بین ساعت ۸ صبح تا ۱۰ صبح و پروتکل تمرین بین ساعت ۷:۰۰ بعد از ظهر و ۱۰:۰۰ شب در شرایط اتاق تاریک انجام شد.

روش‌های اندازه‌گیری متغیرها: پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت

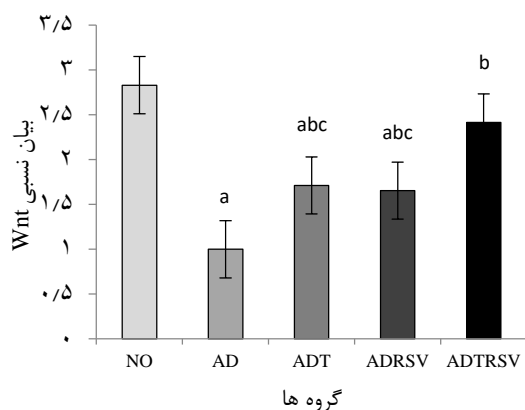
جدول ۱. برنامه تمرین موش‌های صحرایی AD

هفته	روز در هفته	سرعت تردمیل (متر/دقیقه)	زمان (دقیقه)
اول (آشنایی با تمرین)	دوشنبه	۴	۱۵
	چهارشنبه	۶	۳۰
	جمعه	۸	۴۵
دوم (آشنایی با تمرین)	دوشنبه	۸	۴۵
	چهارشنبه	۱۲	۴۵
	جمعه	۱۸	۴۵
سوم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵
چهارم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵
پنجم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵
ششم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵
هفتم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵
هشتم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵
نهم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵
دهم	دوشنبه - چهارشنبه - جمعه	۱۸	۴۵

جدول ۲. الگوی پرایمر

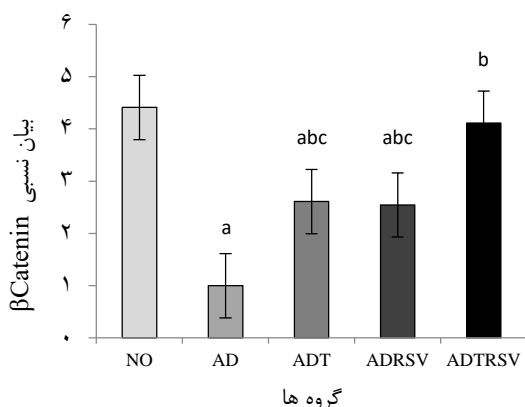
Genes	Forward primers	Reverse primers	طول محصول (bp)	دمای آنیلینگ (°C)
β-Catenin	5'- ATGCTGAGGAAGAAGATGTG GA-3'	5'- ATGAAACTGCGTGGATG GGA-3'	۱۰۳~	۶۰-۵۸
Wnt	5'- CGACTCAGAGATGGTGGTAG A-3'	5'- AGGAGACGGTTTCAGGG TTG-3'	۳۲۷~	۶۰-۵۸
GAPDH	5'- AGAAGGCTGGAGAAGATGAG G-3'	5'- TTGGTGCCTCGTGTCTTC TGT-3'	۱۲۲~	۶۲-۶۰

کاتنین در گروه‌های AD ($p=0/0001$) ADT ($p=0/005$) و ADRSV ($p=0/004$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($p=0/015$)، ADRSV ($p=0/021$) و ADTRSV ($p=0/0001$) نسبت به AD؛ و ADTRSV نسبت به گروه ADT ($p=0/026$) و ADRSV ($p=0/018$) مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۱. میزان بیان ژن Wnt هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (در سطح $p < 0/05$).

تفاوت با گروه NO، تفاوت با گروه AD، تفاوت با ADTRSV. NO: نرمال، AD: آلیزیم، ADT: آلیزیم-تمرین، ADRSV: آلیزیم-رزورترول، ADTRSV: آلیزیم-تمرین-رزورترول.



شکل ۲. میزان بیان ژن بتا-کاتنین هیپوکامپ در گروه‌های مختلف (در سطح $p < 0/05$).

تفاوت با گروه NO، تفاوت با گروه AD، تفاوت با ADTRSV. NO: نرمال، AD: آلیزیم، ADT: آلیزیم-تمرین، ADRSV: آلیزیم-رزورترول، ADTRSV: آلیزیم-تمرین-رزورترول.

• بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که القای AD ناشی از $A\beta$ باعث کاهش بیان Wnt و بتا-کاتنین بافت هیپوکامپ موش‌ها شد. همراستا با پژوهش حاضر شن و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهش خود نشان دادند که القای آلیزیم با استفاده از ترکیب

انجام Real time-PCR: ۲۰ میلی‌گرم از بافت با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوپ شده، سپس با استفاده از محلول تیزول، RNA کل سلول‌ها استخراج شد. cDNA سنتز شده و جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. cDNA سنتز شده با استفاده از SYBR Green master mix (Thermo Scientific, USA) و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۲ تکثیر شد. برای اندازه‌گیری mRNA، ۱ میکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم RQ1 RNase-free DNase-I (Promega) و (retro-transcribed (RT) پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل: 95° به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل 20° ثانیه‌ای در حرارت 95° ، 30° ثانیه در 60° و 50° ثانیه در دمای 72° بود. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای نرمال سازی بیان ژن از فرمول (کنترل) - ct (هدف) $\Delta ct =$ استفاده گردید. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن‌ها با Δct برای کمی کردن نتیجه حاصل از تغییرات ct نمونه‌ها، این عدد در فرمول $2^{-\Delta ct}$ وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل یافته‌ها: پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لون، برای تجزیه و تحلیل آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن Wnt بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=20/676$, $p=0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان بیان ژن Wnt در گروه‌های AD ($p=0/0001$)، ADT ($p=0/0001$) و ADRSV ($p=0/0001$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($p=0/025$)، ADRSV ($p=0/045$) و ADTRSV ($p=0/0001$) نسبت به AD؛ و ADTRSV نسبت به گروه ADT ($p=0/027$) و ADRSV ($p=0/014$) مشاهده شد (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن بتا-کاتنین بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=17/033$, $p=0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان بیان ژن بتا-

Wnt/بتا-کاتنین افزایش می‌دهد، در نتیجه اختلالات شناختی را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی بهبود می‌بخشد (۸). همان‌طوری که قبلاً اشاره شد، پروتئین Dkk1 که از آندودرم احشایی قدامی ترشح می‌شود، می‌تواند سیگنالینگ Wnt را با القای LRP5/6 مهار کرده و از رشد و تکثیر بیش از حد سلول‌ها جلوگیری کند (۱۹). در بیماران مبتلا به AD و در مغز موش‌های AD، DKK1 بیش از حد بیان می‌شود و میزان بیان آن را می‌توان به طور معنی‌داری از طریق فعالیت ورزشی کاهش داد. رن و همکاران (۲۰۱۷) دریافتند که فعالیت‌بدنی طولانی مدت به طور معناداری DKK1، مهارکننده Wnt را در مقایسه با بیماران کم تحرک مهار می‌کند (۹). فعالیت ورزشی مسیر سیگنال‌دهی Wnt را در موش‌های APP/PS1 (موش‌های تراریخته‌ای شبه آلزایمر) فعال کرده، اختلال عملکرد سیناپسی را بهبود بخشیده و انعطاف‌پذیری سیناپسی و نورون‌ها را در هیپوکامپ تقویت می‌کند (۲۳). در مغز، β قادر است β 3 (که در انتقال سیگنال‌های درون‌سلولی نقش دارد) را فعال کند و از این طریق منجر به مهار مسیر سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کاتنین می‌شود. تمرین ورزشی روی تردمیل به مدت ۱۲ هفته (هر جلسه ۳۰ دقیقه، ۵ روز در هفته) در موش‌ها نشان داد که سطح بیان Wnt3 افزایش می‌یابد، بیان β 3-GSK کاهش پیدا می‌کند، مسیر سیگنال‌دهی Wnt فعال‌تر می‌شود، نورون‌ها افزایش، و حافظه بهبود می‌یابد (۲۴). یکی دیگر از مسیرهای موثر فعالیت ورزشی بر مسیر Wnt/بتا-کاتنین سلول‌های استخوانی می‌باشد. در AD، تلاقی عوامل مشتق از استخوان و مغز با مهار تشکیل پلاک β ، افزایش پاکسازی β از مغز و افزایش عملکرد شناختی همراه است (۲۵). مطالعه قاری و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که پنج هفته فعالیت ورزشی باعث کاهش ترشح اسکلوستین (SOST) از استخوان موش‌ها شده و در نتیجه بروز و توسعه AD را از طریق مسیر Wnt/بتا-کاتنین بهبود می‌بخشد (۲۶). در مطالعات انسانی در مردان و زنان فعال سطوح پایین‌تری SOST مشاهده شده است (۲۷). پس از فعالیت ورزشی ترشح SOST از استخوان کاهش یافته و در نتیجه میزان گردش آن در خون و همچنین میزان عبور آن در سد خونی-مغز کاهش می‌یابد. در نتیجه مسیر سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کاتنین را فعال می‌کند، در نهایت باعث افزایش شکل‌پذیری سیناپسی و نورون‌ها شده و سطوح AD و مکانیسم‌های بیولوژیکی این بیماری را کاهش می‌دهد (۲۸). به طور کلی تمرین ورزشی از طریق تعدیل مولکول‌های کلیدی در مسیر Wnt/بتا-کاتنین، اثرات محافظتی در برابر پاتولوژی آلزایمر ایجاد می‌کند. مکانیسم‌های احتمالی مطرح شده در مطالعات حیوانی شامل سرکوب مهارکننده‌های مسیر Wnt

تزریق داخل صفاقی D-گالاکتوز (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز) و تزریق داخل مغزی A β 25-35 (۱۰ میکرولیتر) به مدت چهار هفته باعث کاهش بیان پروتئین Wnt1 و بتا-کاتنین در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌ها شد (۱۰). همچنین لیو و همکاران (۲۰۲۴) مشاهده کردند که به دنبال القای AD بیان پروتئین‌های مسیر سیگنال‌دهی Wnt در سلول‌های HT22 موش‌ها کاهش یافته و با برهم خوردن عملکرد شناختی همراه است (۱۸). مهار سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کاتنین به دنبال القای AD در موش‌های مسن، ناشی از کاهش بیان پروتئین‌های Wnt و بتا-کاتنین و افزایش بیان DKK1 (آنتاگونیست Wnt) است (۱۹). علاوه بر این در AD، تجمع پروتئین β منجر به کاهش فعالیت مسیر Wnt/بتا-کاتنین در نورون‌های مغز می‌شود. کاهش بتا-کاتنین منجر به کاهش فعالیت مسیر PI3K/Akt، افزایش استرس اکسیداتیو و افزایش گونه‌های اکسیژن واکنشی ROS (Reactive Oxygen Species) در میتوکندری سلول‌های مبتلا به AD می‌شود. تولید ROS، رونویسی و آزادسازی ژن‌های پیش‌التهابی از جمله فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF α) و اینترلوکین-۱ (IL-1) که مسئول التهاب عصبی هستند را فعال می‌کند (۲۰). بنابراین، فعال شدن مسیر Wnt/بتا-کاتنین ممکن است یک هدف درمانی برای AD باشد. جالب این‌که در پژوهش حاضر، فعالیت ورزشی هوازی باعث معکوس شدن اثر القای AD بر بیان Wnt/بتا-کاتنین بافت هیپوکامپ موش‌ها شد. در همین راستا، چن و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که القای AD در موش‌های مسن موجب کاهش فعالیت مسیرهای سیگنالینگ PI3K/AKT و Wnt در هیپوکامپ می‌شود؛ با این وجود، ۱۲ هفته مداخله ورزشی (شامل دویدن روی تردمیل، تمرین مقاومتی و تمرین تناوبی) این تغییرات را به حالت عادی بازگرداند (۲۱). و همکاران (۲۰۲۳) نیز در پژوهش خود نشان دادند که تمرینات اجباری و اختیاری با فعال کردن مسیر سیگنال‌دهی Wnt/بتا-کاتنین باعث کاهش تجمع پلاک‌های β در هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۳ می‌شود. دیابت نوع ۳ یا دیابت مغزی اصطلاحی برای آلزایمر است که در آن مقاومت به انسولین به طور انتخابی بر مغز تأثیر می‌گذارد و باعث از دست دادن توانایی شناختی می‌شود. مسیرهای سیگنالینگ Wnt در سیستم عصبی، کاهش علائم بیماری آلزایمر، سنتز انسولین و دیابت نقش دارند (۲۲). هو و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهش خود مشاهده کردند که هشت هفته مداخله ورزشی روی تردمیل چرخه سلولی را تنظیم کرده، آپوپتوز را مهار و ترشح فاکتورهای نوروتروفیک را با تنظیم مسیر سیگنال‌دهی

داستیلاسیون و فعال سازی پروتئین های Dvl، که اجزای ضروری انتقال سیگنال Wnt هستند، به مهار کمپلکس تخریب بتا-کاتنین و تثبیت آن کمک می کند (۳۶). (۲) SIRT1 فعالیت کینازی GSK-3 β را مهار می کند که این امر به تثبیت بیشتر بتا-کاتنین، فعال سازی رونویسی ژن های هدف Wnt و تقویت فرآیندهایی مانند سیناپتوزن منجر می شود (۱۳). (۳) شواهدی نشان می دهد SIRT1 ممکن است با داستیلاسیون پروتئین مهارکننده قوی Wnt، یعنی Dkk1، پایداری یا فعالیت آن را کاهش داده و به طور غیرمستقیم سیگنالینگ Wnt را تقویت کند (۳۷). مجموع این اثرات SIRT1 بر مسیر Wnt، همراه با تنظیم سایر مسیرهای بقا، در نهایت به تقویت نوروپلاستیسته (شامل نوروزن و سیناپتوزن) و محافظت عصبی در برابر پاتولوژی آلزایمر منجر می شود. بنابراین، فرض می شود که RSV می تواند سیگنال های Wnt را به روش های مختلف با افزایش SIRT1 تعدیل کند.

در پژوهش حاضر ترکیب فعالیت ورزشی هوازی و مصرف RSV اثر بهتری نسبت به هر کدام به تنهایی بر بیان ژن Wnt/beta-کاتنین بافت هیپوکامپ داشت. مطالعات محدودی اثر ترکیب تمرین و RSV را بر این مسیر در مدل موش های AD مورد بررسی قرار دادند. در محدود مطالعه ای که توسط برودریچ و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد، مشاهده شد که پنج ماه تمرین هوازی منظم برخی از نشانگرهای مربوط به محافظت عصبی در مدل موشی xTg-AD³ مبتلا به AD را بهبود بخشید، اما هنگامی که با RSV ترکیب شد، مزایای به دست آمده بیشتر شد (۳۸). مطالعه لیو و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که تمرین و RSV و ترکیب این دو باعث افزایش SIRT1 در موش های مسن می شود (۳۹). علاوه بر این، اختلال در مسیر Wnt/beta-catenin در پاتولوژی AD به خوبی مستند شده است و عوامل متعددی از جمله افزایش ROS، التهاب عصبی پایدار و افزایش سایتوکاین های التهابی پیش برنده ای این اختلال هستند (۳۸). به عنوان مثال، به طور خاص، نشان داده شده که سایتوکاین های التهابی مانند TNF- α می توانند بیان مهارکننده های کلیدی مسیر Wnt مانند Dkk1 را افزایش دهند و به طور مستقیم سیگنالینگ را مختل کنند (۳۹). مطالعات متعددی حاکی از آن است که هم تمرین ورزشی و هم RSV به طور مستقل قادر به تعدیل این عوامل اختلال زا هستند؛ تمرین ورزشی با کاهش استرس اکسیداتیو (کاهش ROS) (۴۰)، مهار فعال سازی میکروگلیا و کاهش تولید سایتوکاین های التهابی (۴۱)، و همچنین افزایش بیان فاکتورهای نوروتروفیک مانند BDNF که با مسیر Wnt تعامل مثبت دارد (۴۲)، عمل می کند. به طور موازی، RSV از طریق فعال سازی SIRT1 و سایر مسیرها، اثرات

(DKK1 و sFRPs) (۲۹)، فعال سازی گیرنده ها و اجزای سیگنالینگ (افزایش LRP6، فعال سازی پروتئین Dvl (Dishevelled)) (۳۰)، تثبیت بتا-کاتنین و انتقال به هسته (کاهش تخریب بتا-کاتنین، انتقال هسته ای بتا-کاتنین، تأثیر بر پاتولوژی آلزایمر (کاهش تولید A β)، کاهش هیپرفسفریلاسیون تاو، کاهش سمیت A β)، تأثیرات عملکردی (افزایش نوروزن هیپوکامپ، بهبود پلاستیسته سیناپسی) (۳۱) می باشد.

از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش بیان ژن Wnt/beta-کاتنین بافت هیپوکامپ موش های AD به دنبال مصرف RSV بود.

سوریا و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهشی نشان دادند که درمان با RSV می تواند با فعال سازی مسیر سیگنال دهی Wnt، ظرفیت نوروزن هیپوکامپ را در مدل های AD افزایش دهد و از طریق تحریک سلول های بنیادی عصبی، اثرات محافظتی ایجاد کند (۳۲). همچنین دونگ و همکاران (۲۰۲۲) در مدل موش های پارکینسونی نشان دادند که RSV سطح پروتئین های مسیر سیگنال دهی Wnt/beta-کاتنین را افزایش داده و اثرات محافظت کننده عصبی بر مدل بیماری پارکینسون اعمال می کند (۱۴). یانگ و همکاران (۲۰۱۷) نیز در موش ها نشان دادند که RSV با افزایش بیان فاکتور نورون زایی مشتق شده از مغز (Brain-Derived Neurotrophic Factor) و کاهش بیش فعالی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal) و غلظت های IL-6، CRP و TNF- α پلاسما و تنظیم مسیر Wnt/beta-کاتنین هیپوکامپ، رفتار افسردگی را در موش های بهبود می بخشد (۳۳). RSV به دلیل نقش نوروزنیک و پتانسیل بازسازی عصبی اش در شرایط پاتولوژیک مانند آلزایمر مورد توجه است. احتمالاً بخشی از این اثرات به واسطه ای فعال سازی پروتئین سیرتونین SIRT1 (Sirtuin) و تأثیر آن بر سیگنالینگ Wnt و تنظیم چرخه سلولی اعمال می شود. RSV دارای خواص ضد التهابی قوی است که عمدتاً ناشی از مهار فعال سازی میکروگلیا و کاهش تولید سایتوکاین های التهابی مانند TNF- α است؛ این امر منجر به کاهش التهاب عصبی و تخریب ناشی از استرس اکسیداتیو می شود (۳۴، ۳۵). از سوی دیگر، RSV از طریق فعال سازی SIRT1، عملکرد عوامل آپوپتوزی مانند p53 و FOXO را تعدیل کرده و مسیرهای کلیدی بقا و تکثیر سلولی شامل AMPK، PI3K/Akt و BDNF را تنظیم می کند که همگی به اثرات نوروپروتکتیو آن در آلزایمر کمک می کنند (۱۲). به طور ویژه، SIRT1 تنظیم کننده ای مثبت مهمی برای مسیر سیگنالینگ Wnt محسوب می شود: (۱) SIRT1 با

نمی‌کند (۴۵). بنابراین، تعمیم‌پذیری نتایج ممکن است نیازمند احتیاط باشد.

نتیجه‌گیری

القای AD با کاهش بیان ژن Wnt/بتا-کاتنین همراه بود و فعالیت ورزشی هوازی و تجویز RSV این روند را بهبود بخشید. با توجه به نتایج تحقیق که اثرات محافظتی فعالیت بدنی و RSV بر تنظیم نوروزنز هیپوکامپ از طریق مسیر سیگنال دهی Wnt را نشان می‌دهد، می‌توان از این دو روش درمانی برای بهبود بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی از قبیل AD استفاده کرد.

حمایت مالی

این پژوهش با هزینه شخصی نویسندگان انجام شد.

تعارض منافع

در این پژوهش هیچ گونه تضاد منافی برای نویسندگان وجود ندارد.

تقدیر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد گروه علوم ورزشی دانشگاه ایلام است، بدین وسیله از تمامی افرادی که در این پژوهش ما را یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر دارای کد اخلاق IR.ILAM.REC.1403.021 که در دانشگاه ایلام به تصویب رسیده است.

آنتی‌اکسیدانی قوی (خنثی‌سازی ROS) (۴۳)، خواص ضد التهابی (کاهش TNF- α و سایتوکاین‌ها) (۳۴، ۳۵)، و تنظیم مثبت مسیرهای بقای سلولی (از جمله تقویت غیرمستقیم Wnt) (۳۶، ۳۷، ۱۲) اعمال می‌کند. با توجه به این مکانیسم‌های مکمل و مستقل، نتایج حاضر که بهبود معنی‌دارتری در متغیرهای مرتبط با مسیر Wnt/بتا-کاتنین در گروه ترکیبی (تمرین+RSV) نسبت به گروه‌های منفرد مشاهده شد، به‌طور قوی نشان‌دهنده‌ی اثر هم‌افزایی (سینرژیسم) این دو مداخله است. این هم‌افزایی احتمالاً ناشی از حمله‌ی همزمان به چندین عامل اختلال‌زای پیش‌برنده‌ی نقص Wnt در AD (ROS، التهاب، مهارکننده‌ها) از طریق کانال‌های مختلف ولی مرتبط می‌باشد.

از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری سطوح یا فعالیت پروتئین SIRT1 اشاره کرد. ارزیابی SIRT1 می‌توانست نقش واسطه‌ای کلیدی آن در اثرات گزارش‌شده‌ی RSV (و احتمالاً تمرین) بر سیگنالینگ Wnt/بتا-کاتنین را مستقیماً تأیید کند و درک مکانیسمی را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشد (۴۴). از دیگر محدودیت‌ها، استفاده از مدل حاد القای آلزایمر با تزریق داخل هیپوکامپی آمیلوئید بتای ۱-۴۲ بود، که این روش لزوماً تمام جنبه‌های پیچیده‌ی پاتولوژی AD مرتبط با افزایش سن (نظیر تجمع تدریجی تاو، اختلال متابولیک مزمن، تغییرات عروقی) را شبیه‌سازی

References

- Long JM, Holtzman DM. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*. 2019;3;179(2):312-39. doi:10.1016/j.cell.2019.09.001.
- Xu K, Wang M, Zhou W, Pu J, Wang H, Xie P. Chronic D-ribose and D-mannose overload induce depressive/anxiety-like behavior and spatial memory impairment in mice. *Transl Psychiatry*. 2021;11(1):90. doi:10.1038/s41398-021-01456-3.
- Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Transl Res Clin Interv)*. 2018;4:575-90. doi:10.1016/j.trci.2018.06.001.
- Rao YL, Ganaraja B, Suresh PK, Joy T, Ullal SD, Manjrekar PA, et al. Effect of resveratrol and combination of resveratrol and donepezil on the expression of microglial cells and astrocytes in Wistar albino rats of colchicine-induced Alzheimer's disease. *3 Biotech*. 2023;13(9):1-14. doi:10.1007/s13205-023-03539-2.
- Hirata Y, Tsunekawa Y, Takahashi M, Oh-Hashi K, Kawaguchi K, Hayazaki M, et al. Identification of novel neuroprotective N, N-dimethylaniline derivatives that prevent oxytosis/ferroptosis and localize to late endosomes and lysosomes. *Free Radic Biol Med*. 2021;174:225-35. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.09.015.
- Zhang X, Jiang L, Chen H, Wei S, Yao K, Sun X, et al. Resveratrol protected acrolein-induced ferroptosis and insulin secretion dysfunction via ER-stress-related PERK pathway in MIN6 cells. *Toxicology*. 2022;465:153048. doi:10.1016/j.tox.2022.153048.
- Li S, He Y, Chen K, Sun J, Zhang L, He Y, et al. RSL3 drives ferroptosis through NF- κ B pathway activation and GPX4 depletion in glioblastoma. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:7420187. doi:10.1155/2021/7420187.
- Wu S, Zhang Y, Kou X. Treadmill exercise improves cognitive dysfunction in diabetic rats. *Chin J Tissue Eng Res*. 2023;27(2):208. doi:10.3969/j.issn.2095-4348.2023.02.015.
- Kim TH, Chang JS, Park K-S, Park J, Kim N, Lee JI, et al. Effects of exercise training on circulating levels of Dickkopf-1 and secreted frizzled-related protein-1 in breast cancer survivors: A pilot single-blind randomized controlled trial. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171771. doi:10.1371/journal.pone.0171771.
- Shan X, Lv S, Huang P, Zhang W, Jin C, Liu Y, et al. Classic famous prescription kai-xin-san ameliorates Alzheimer's disease via the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Mol Neurobiol*. 2023;1-16. doi:10.1007/s12035-023-03528-2.

11. Fisher E, Wood SJ, Elsworth RJ, Uptegrove R, Aldred S. Exercise as a protective mechanism against the negative effects of oxidative stress in first-episode psychosis: a biomarker-led study. *Transl Psychiatry*. 2020;10(1):254. doi:10.1038/s41398-020-00877-6.
12. Chiang M-C, Nicol CJ, Cheng Y-C. Resveratrol activation of AMPK-dependent pathways is neuroprotective in human neural stem cells against amyloid-beta-induced inflammation and oxidative stress. *Neurochem Int*. 2018;115:1-10. doi:10.1016/j.neuint.2017.11.003.
13. Seyedsalehi MS, Saboor-Yaraghi AA, Koohdani F, Amiri F, Norouzzadeh M, Kalikias Y, Talebi S, Pasalar P, Berahmeh A, Shemirani F, Mahmoodi M. Resveratrol affects β -catenin and GSK-3 β gene expression in Wnt-signaling pathway in HCT-116 human colorectal cancer cells. *Basic & Clinical Cancer Research*. 2018;30(10):22-33. bccr.tums.ac.ir/index.php/bccrj/article/view/272
14. Dong Y, Wang Z, Yan Z, Wu C, Yang T, Qiu H. Neuroprotective effects of resveratrol on a mouse model of Parkinson's disease via the Wnt/Beta-Catenin signaling pathway. *Indian J Pharm Sci*. 2022;84:959. doi:10.36468/pharmaceutical-sciences.736.
15. Eslimiesfahani D, Oryan S, Khosravi M, Valizadegan F. Effect of fennel extract on the improvement of memory disorders in beta amyloid alzheimer model of male wistar rats. *J. Ilam Uni. Med. Sci*. 2019; 27 (1) :1-12. doi: 10.29252/sjimu.27.1.1
16. Wu C, Yang L, Li Y, Dong YA, Yang B, Tucker LD, Zong X, Zhang Q. Effects of exercise training on anxious-depressive-like behavior in Alzheimer rat. *Medicine and science in sports and exercise*. 2020;52(7):1456. doi:10.1249/MSS.0000000000002294.
17. Monserrat Hernández-Hernández E, Serrano-García C, Antonio Vázquez-Roque R, Díaz A, Monroy E, Rodríguez-Moreno A, et al. Chronic administration of resveratrol prevents morphological changes in prefrontal cortex and hippocampus of aged rats. *Synapse*. 2016;70(5):206-17. doi:10.1002/syn.21884.
18. Liu J, Wei AH, Liu TT, Ji XH, Zhang Y, Yan F, et al. Icarin ameliorates glycolytic dysfunction in Alzheimer's disease models by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *FEBS J*. 2024. doi:10.1111/febs.17055.
19. García-Velázquez L, Arias C. The emerging role of Wnt signaling dysregulation in the understanding and modification of age-associated diseases. *Ageing Res Rev*. 2017;37:135-45. doi:10.1016/j.arr.2017.07.001.
20. Harris RA, Tindale L, Cumming RC. Age-dependent metabolic dysregulation in cancer and Alzheimer's disease. *Biogerontology*. 2014;15:559-77. doi:10.1007/s10522-014-9501-x.
21. Chen D, Zhang Y, Zhang M, Chang J, Zeng Z, Kou X, et al. Exercise attenuates brain aging by rescuing down-regulated Wnt/ β -catenin signaling in aged rats. *Front Aging Neurosci*. 2020;12:105. doi:10.3389/fnagi.2020.00105.
22. Zanjani S, Kordi MR, Ravasi AA. Comparison of the effect of voluntary exercise in enriched environment and forced exercise on Wnt-5a expression and Amyloid Beta accumulation in hippocampus of rats with type 3 diabetes. *Daneshvar Med*. 2023;30(5):62-78.
23. Xiao HH, Chen JC, Li H, Li RH, Wang HB, Song HP, et al. Icarisid II rescues cognitive dysfunction via activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway promoting hippocampal neurogenesis in APP/PS1 transgenic mice. *Phytother Res*. 2022;36(5):2095-108. doi:10.1002/ptr.7480.
24. Kim D-Y, Jung S-Y, Kim K, Kim C-J. Treadmill exercise ameliorates Alzheimer disease-associated memory loss through the Wnt signaling pathway in the streptozotocin-induced diabetic rats. *J Exerc Rehabil*. 2016;12(4):276. doi:10.12965/jer.1632744.355.
25. Khrimian L, Obri A, Ramos-Brossier M, Rousseaud A, Moriceau S, Nicot AS, Mera P, Kosmidis S, Karnavas T, Saudou F, Gao XB. Gpr158 mediates osteocalcin's regulation of cognition. *Journal of Experimental Medicine*. 2017;214(10):2859-73. doi.org/10.1084/jem.20171320
26. Ghari M, Fathi E, Farahzadi R. The role of Wnt/ β -catenin signaling pathway in blood leukemias. *Scientific Journal of Iran Blood Transfus Organ*. 2018;15(2):149-64. <http://bloodjournal.ir/article-1-1156-en.html>.
27. Gardinier JD, Rostami N, Juliano L, Zhang C. Bone adaptation in response to treadmill exercise in young and adult mice. *Bone Rep*. 2018;8:29-37. doi:10.1016/j.bonr.2018.01.004.
28. Xiang T, Zhang S, Cheng N, Ge S, Wen J, Xiao J, et al. Oxidoreductase domain-containing protein 1 promotes liver fibrosis by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway in vitro. *Mol Med Rep*. 2017;16(4):5050-4. doi:10.3892/mmr.2017.7054.
29. Aghaizu ND, Jin H, Whiting PJ. Dysregulated Wnt signalling in the Alzheimer's brain. *Brain Sciences*. 2020;10(12):902. doi.org/10.3390/brainsci10120902.
30. Kang J, Liu M, Yang Q, Dang X, Li Q, Wang T, Qiu B, Zhang Y, Guo X, Li X, Liu Y. Exercise training exerts beneficial effects on Alzheimer's disease through multiple signaling pathways. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2025;17:1558078. doi.org/10.3389/fnagi.2025.1558078.
31. Tong XK, Royea J, Hamel E. Simvastatin rescues memory and granule cell maturation through the Wnt/ β -catenin signaling pathway in a mouse model of Alzheimer's disease. *Cell death & disease*. 2022;13(4):325. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04784-y>.
32. Surya K, Manickam N, Jayachandran KS, Kandasamy M, Anusuyadevi M. Resveratrol mediated regulation of hippocampal neuroregenerative plasticity via SIRT1 pathway in synergy with Wnt signaling: Neurotherapeutic implications to mitigate memory loss in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2023;94(s1):S125-S40. doi:10.3233/JAD-220418.
33. Yang X-H, Song S-Q, Xu Y. Resveratrol ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior: involvement of the HPA axis, inflammatory markers, BDNF, and Wnt/ β -catenin pathway in rats. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2017:2727-36. doi:10.2147/NDT.S147724.
34. Yang X, Xu S, Qian Y, Xiao Q. Resveratrol regulates microglia M1/M2 polarization via PGC-1 α in conditions of neuroinflammatory injury. *Brain Behav Immun*. 2017;64:162-72. doi:10.1016/j.bbi.2017.02.014.
35. Hoda U, Agarwal NB, Vohora D, Parvez S, Raisuddin S. Resveratrol suppressed seizures by attenuating IL-1 β , IL-1-Ra, IL-6, and TNF- α in the hippocampus and cortex of kindled mice. *Nutr Neurosci*. 2017;20(9):497-504. doi:10.1080/1028415X.2017.1299465.

36. Holloway KR, Calhoun TN, Saxena M, Metoyer CF, Kandler EF, Rivera CA, et al. SIRT1 regulates Dishevelled proteins and promotes transient and constitutive Wnt signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(20):9216-21. doi:10.1073/pnas.1002787107.
37. Hussain M, Rao M, Humphries AE, Hong JA, Liu F, Yang M, et al. Tobacco smoke induces polycomb-mediated repression of Dickkopf-1 in lung cancer cells. *Cancer Res*. 2009;69(8):3570-8. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-2726.
38. Broderick TL, Rasool S, Li R, Zhang Y, Anderson M, Al-Nakkash L, et al. Neuroprotective effects of chronic resveratrol treatment and exercise training in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(19):7337. doi:10.3390/ijms21197337.
39. Liao Z-Y, Chen J-L, Xiao M-H, Sun Y, Zhao Y-X, Pu D, et al. The effect of exercise, resveratrol or their combination on Sarcopenia in aged rats via regulation of AMPK/Sirt1 pathway. *Exp Gerontol*. 2017;98:177-83. doi:10.1016/j.exger.2017.08.004.
40. Ren J, Xiao H. Exercise intervention for Alzheimer's disease: unraveling neurobiological mechanisms and assessing effects. *Life*. 2023;13(12):2285. doi.org/10.3390/life13122285.
41. Cantón-Suárez A, Sánchez-Valdeón L, Bello-Corral L, Cuevas MJ, Estébanez B. Understanding the molecular impact of physical exercise on Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(24):13576. doi.org/10.3390/ijms252413576.
42. Choi SH, Bylykbashi E, Chatila ZK, Lee SW, Pulli B, Clemenson GD, Kim E, Rompala A, Oram MK, Asselin C, Aronson J. Combined adult neurogenesis and BDNF mimic exercise effects on cognition in an Alzheimer's mouse model. *Science*. 2018;361(6406):eaan8821. doi:10.1126/science.aan8821.
43. AlHayani DA, Kubaev A, Uthirapathy S, Mandaliya V, Ballal S, Kalia R, Arya R, Gabbie BC, Alasheqi MQ, Kadhim AJ. Insights Into the Therapeutic Potential of SIRT1-modifying Compounds for Alzheimer's Disease: A Focus on Molecular Mechanisms. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2025;75(1):29. doi.org/10.1007/s12031-025-02324-9.
44. Cao W, Li H, Fan K, Tuya W. Respiratory Syncytial Virus Enhances SIRT2 Expression Through Wnt/ β -Catenin Signaling to Promote Lung Cancer Progression. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2025;18(5):1-3. doi.org/10.5812/jjm-158800.
45. Padmakumar S, Taha MS, Kadakia E, Bleier BS, Amiji MM. Delivery of neurotrophic factors in the treatment of age-related chronic neurodegenerative diseases. *Expert opinion on drug delivery*. 2020;17(3):323-40. doi.org/10.1080/17425247.2020.1727443.

The Effect of Aerobic Exercise Combined with Resveratrol Supplementation on Hippocampal Wnt/ β -Catenin Gene Expression in Alzheimer's-Afflicted Rats

Ranjbar M¹, Naghibzadeh M^{*2}, Abdi A³, Torabi Palat Kaleh Gh⁴

1- MSc student in Sport Physiology, Department of Sports Science, Faculty of Literature and Humanities, Ilam University, Ilam, Iran

2- *Corresponding author: Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Science, Faculty of Literature and Humanities, Ilam University, Ilam, Iran. Email: m.naghibzadeh@ilam.ac.ir

3- Dep of Sport Physiology Faculty of Physical Education and Sport Sciences , Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

4- Department of Sport Physiology, University Langerud non-governmental Qadir, Langerud, Iran.

Received 1 Jul, 2025

Accepted 25 Aug, 2025

Background and Objectives: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder and the leading cause of age-related dementia, characterized by cognitive impairment and memory deficits. Studies have indicated that dysregulated Wnt/ β -catenin signaling plays a significant role in AD pathogenesis. The present study aimed to investigate the efficacy of aerobic exercise combined with resveratrol supplementation on Wnt/ β -Catenin gene expression in the hippocampus of Alzheimer's model rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 35 male Wistar rats were divided into five groups: Control (NO), Alzheimer's (AD), Alzheimer's-Training (ADT), Alzheimer's-Resveratrol (ADRSV) and Alzheimer's-Training-Resveratrol (ADTRSV). Beta-42-1 amyloid was used to induce Alzheimer's. The ADRSV and ADTRSV groups received daily resveratrol (20 mg/kg) orally during the intervention period. The eight-week aerobic exercise program consisted of treadmill running performed at speeds of 6-18 meters per minute per session, five days per week. All samples were anesthetized with chloroform and sacrificed under identical conditions at baseline (48 hours after the last exercise session and following a 12-14 hour fast). Wnt/ β -catenin gene expression was measured using real-time PCR. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test at a significance level of $p < 0.05$.

Results: AD induction caused a significant decrease in Wnt and β -Catenin expression compared to the NO group ($p = 0.0001$). Exercise and RSV administration significantly increased Wnt expression ($p = 0.025$ and $p = 0.045$, respectively) and β -Catenin expression ($p = 0.015$ and $p = 0.021$, respectively) compared to the AD group. Furthermore, a significant increase in Wnt and β -Catenin expression levels was observed in the ADTRSV group compared to both the ADT group ($p = 0.027$ and $p = 0.026$, respectively) and the ADRSV group ($p = 0.014$ and $p = 0.018$, respectively).

Conclusion: Considering the results of the study that show the protective effects of physical activity and RSV on the regulation of hippocampal neurogenesis through the Wnt signaling pathway in the hippocampus of mice with AD, these two therapeutic methods can be used to improve neurodegenerative diseases such as AD.

Keywords: Exercise, Resveratrol, Wnt Signaling Pathway, Hippocampus, Alzheimer Disease