

تأثیر تمرین هوازی و رزوراترول بر سطوح نروتروفین‌های هیپوکامپ موش‌های صحرائی مبتلا به آلزایمر

فاطمه باباجانی^۱، سقا فرج‌تبار بهرستاق^۲، امیر تقی پور^۱

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران پست الکترونیکی: s.faraj.b@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۵/۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۷/۲۱

چکیده

سابقه و هدف: فعالیت ورزشی منظم و رژیم غذایی حاوی پلی فنل‌ها، رویکردهای غیردارویی موثری هستند که از پیشرفت بیماری‌های عصبی جلوگیری می‌کنند. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین هوازی و رزوراترول بر سطوح نروتروفین‌های هیپوکامپ موش‌های صحرائی مبتلا به آلزایمر بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرائی نر ۸ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزن $217/25 \pm 6/07$ گرم در پنج گروه نرمال (NO)، آلزایمر (AD)، آلزایمر-تمرین (ADT)، آلزایمر-رزوراترول (ADRSV) و آلزایمر-تمرین-رزوراترول (ADTRSV) قرار گرفتند. گروه‌های مکمل، طی دوره مداخله روزانه ۲۰ میلی‌گرم RSV (به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را به صورت خوراکی دریافت کردند. برای القای آلزایمر از آمیلوئید بتای ۱-۴۲ خریداری شده از شرکت سیگما-آلدریج استفاده شد. ابتدا برنامه تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با سرعت ۶-۱۸ متر در دقیقه، پنج روز هفته به مدت هشت هفته اجرا شد. نهایتاً جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای تحقیق از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $p \leq 0/05$ استفاده شد.

یافته‌ها: القای AD باعث کاهش بیان BDNF و NGF شد ($p=0/0001$). بیان BDNF و NGF در گروه‌های ADT (به ترتیب $p=0/028$ و $p=0/029$)، ADRSV (به ترتیب $p=0/047$ و $p=0/044$) و ADTRSV (به ترتیب $p=0/0001$ و $p=0/0001$) افزایش معنی‌داری داشت. افزایش بیان BDNF در گروه ADTRSV نسبت به گروه ADT ($p=0/040$) و ADRSV ($p=0/023$) معنی‌دار شد.

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی و RSV در موش‌های AD منجر به افزایش BDNF و NGF شده که نشان‌دهنده محافظت عصبی تمرین و RSV بر بیماری AD است. با این وجود اثر ترکیب تمرین و RSV نسبت به هر کدام به تنهایی بیشتر بود.

واژگان کلیدی: فعالیت ورزشی، رزوراترول، نروتروفین، هیپوکامپ، آلزایمر

پیام‌های اصلی

- آلزایمر شایع‌ترین علت زوال عقل است و یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی جهان است.
- BDNF برای حفظ فعالیت‌های شبکه نئوکورتیکال حیاتی است و اختلال در عملکرد آن به اختلال حافظه در آلزایمر کمک می‌کند.
- NGF نقش کلیدی در حفظ یکپارچگی و عملکرد ساختاری عصبی دارد.
- تمرین هوازی و رزوراترول در موش‌های آلزایمری منجر به افزایش BDNF و NGF شده که نشان‌دهنده محافظت عصبی تمرین و رزوراترول بر بیماری آلزایمر است.

● مقدمه

AD شایع‌ترین علت زوال عقل است و یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی جهان است (۱). به عنوان مکانیسم‌های مولکولی، تجمع آمیلوئید بتا ($A\beta$) و بی‌نظمی در پروتئین‌ها و تاو به آسیب‌پذیری AD کمک می‌کند (۱). اخیراً AD علاوه بر اختلال عملکرد عصبی کولینرژیک و تجمع $A\beta$ ، به عنوان یک بیماری ناشی از عوامل مختلفی از جمله افزایش سن، آسیب‌های سر، عفونت‌ها و عوامل محیطی در نظر گرفته شده است (۲). BDNF برای حفظ فعالیت‌های شبکه نئوکورتیکال حیاتی است و اختلال در عملکرد آن به اختلال حافظه در AD کمک می‌کند (۳). NGF همچنین نقش کلیدی در حفظ یکپارچگی و عملکرد ساختاری عصبی دارد و بقا و بازسازی سلولی را در افراد مبتلا به بیماری‌های مرتبط با افزایش سن مانند AD افزایش می‌دهد (۴). مقادیر پایین‌تر BDNF در نئوکورتکس و هیپوکامپ در AD شناسایی شده است (۵). تاکنون، انواع تحقیقات بالینی و تجربی نقش احتمالی بیان نوروتروفین‌ها را در پاتوفیزیولوژی اختلالات عصبی روانشناختی مختلف نشان می‌دهد (۶).

خانواده نوروتروفین‌ها شامل فاکتور رشد عصبی (NGF)، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، نوروتروفین-۵/۴ (NT-4/5) و NT-3 می‌باشند که نقش‌های عصبی مختلفی در سیستم عصبی محیطی (PNS) و مرکزی (CNS) دارند (۷). بیان BDNF و گیرنده آن TrkB در مغز فراوان است، و سیگنال‌دهی درون‌سلولی با واسطه BDNF/TrkB (که شامل Akt/PI3K, MAPK/ERK و مسیرهای PLC) به بقای سلول‌های عصبی و شکل‌پذیری سیناپسی کمک می‌کند (۸). این نوروتروفین‌ها در ابتدا به عنوان پرونوتروفین‌ها (مانند proBDNF و proNGF)، که پیش‌سازهای بزرگتری هستند و با p75NTR برای القای مرگ سلولی مرتبط هستند، سنتز می‌شوند. نوروتروفین‌های بالغ (BDNF, NGF) از طریق فرآیند پروتئولیتیک تولید شده و به Tark متصل می‌شوند. گیرنده‌ها، منجر به محافظت عصبی و تنظیم مثبت عملکرد سیناپسی می‌شوند. تعداد زیادی از مطالعات نشان می‌دهد که کاهش BDNF در پیری و اختلالات شناختی مرتبط با سن مشاهده شده در AD نقش دارد. در مقابل، تنظیم مثبت سیستم BDNF/TrkB، به درمان موثری برای AD تبدیل شده است. شواهد زیادی نشان می‌دهد که فعالیت بدنی بر عملکرد شناختی و آسیب‌شناسی سلولی AD تأثیر مثبت دارد. بهبود در شکل‌پذیری، ساختار و قدرت سیناپسی با تمرینات ورزشی به

خوبی در ادبیات تثبیت شده است (۹). علاوه بر افزایش کارایی در پردازش عصبی، قشر جلوی مغز و هیپوکامپ بزرگسالان با آمادگی هوازی بالاتر بهتر است (۱۰). ورزش هوازی باعث تحریک عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سنتز عوامل نوروتروفیک شده، سطح نشانگر عصبی التهابی را سرکوب می‌کند و یادگیری و حافظه را تقویت می‌کند. همچنین بقای سلولی را بهبود می‌بخشد و پاکسازی $A-\beta$ را تنظیم می‌کند. (۱۱). علاوه بر این نشان داده شده که ورزشی درمانی ممکن است به جلوگیری از پیشرفت AD را بدون عوارض جانبی کمک کند (۱۲). تمرین ورزشی قادر است بیان ژن‌های BDNF, NT3, NGF و IGF-1 و VEGF165 را در مدل AD افزایش دهد (۱۴). با این برخی مطالعات نشان داده که تمرین هوازی تأثیر معنی‌داری بر نوروتروفین‌ها (BDNF, VEGF165 و IGF-1) در بیماران مبتلا به AD ندارد (۱۳). روزراترول (RSV, 3,5,4'-trihydroxystilbene) یک پلی‌فنول طبیعی است که معمولاً در پوست انگور، شراب قرمز، ریواس و چندین گیاه دیگر یافت می‌شود (۱۴). RSV دارای اثرات محافظت‌کننده عصبی مرتبط با زوال شناختی است (۱۵). یک مطالعه نشان داد که درمان موش‌ها با RSV منجر به بهبود حافظه و عملکرد شناختی می‌شود (۱۶). همچنین نشان داده شده که RSV قادر است میزان BDNF را افزایش دهد (۱۷). در بیماری‌های نورودژنراتیو، کاهش سیرتوئین ۱ (SIRT1) می‌تواند باعث اختلال عملکرد شناختی شود. کاهش تنظیم BDNF که از طریق پروتئین متصل شونده به عنصر پاسخ cAMP (CREB) و پروتئین متصل شونده به متیل سیتوزین-فسفات-گوانین ۲ (MeCP2) تنظیم می‌شود، منجر به مهار SIRT1 در هیپوکامپ می‌شود. RSV بیان SIRT1 و BDNF هیپوکامپ را در موش‌ها افزایش داد (۱۸). برخلاف این یافته‌ها برخی پژوهش‌ها نشان داده که RSV تمایز نورون‌های تازه تولید شده هیپوکامپ را مختل کرده و بیان BDNF و CREB را کاهش می‌دهد (۱۹). به نظر می‌رسد هم تمرین ورزشی هوازی و هم RSV قادر است بر نوروتروفین‌ها بافت مغز تأثیر داشته باشد، هر چند برخی پژوهش‌ها این نتایج را تأیید نکرده‌اند. لذا با توجه به تناقضاتی که در ادبیات وجود دارد و همچنین محدودیت‌های پژوهش در خصوص بررسی اثر همزمان تمرین هوازی همراه با مصرف RSV را بر BDNF و NGF بافت هیپوکامپ موش‌های AD، این پژوهش در نظر دارد

با استفاده از مختصات استریوتاکسیک (بر اساس کتابچه مختصات مغزی موش) محل هیپوکامپ تعیین شد. در ادامه ناحیه CA1 هیپوکامپ علامت‌گذاری شد و مجموعه به آرامی سوراخ گردید. از سرنگ همیلتون برای تزریق $A\beta$ استفاده شد. دو میکرولیتر $A\beta$ در مغز به آرامی در حدود یک دقیقه تزریق شد. بعد از تزریق، سوزن به آرامی خارج شد و موش‌ها به حالت هوشیار بازگردانده شدند (۲۰).

برنامه تمرین ورزشی از ۲ ماهگی آغاز شد. تمرین به دو مرحله آشنایی با تمرین (دو هفته) و سازگاری با تمرین (هشت هفته) تقسیم شد. در مرحله آشنایی با تمرین، موش‌ها در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت ۱۵-۴۵ دقیقه با سرعت ۶-۱۸ متر در دقیقه تمرین ورزشی را انجام دادند. در ادامه موش‌ها هشت هفته و پنج روز در هفته با شدت ۱۸ متر در دقیقه و به مدت ۴۵ دقیقه فعالیت ورزشی اصلی را روی تردمیل مخصوص حیوانات انجام دادند (۲۱).

رزوراترول (۲۰ میلی گرم/کیلوگرم از سیگما آلدریج) یا حجمی معادل آن سالین (محلول نمکی) هر روز صبح (بین ساعت ۸ صبح تا ۱۰ صبح) به مدت ۲ ماه (۸ هفته) به صورت خوراکی و گاواژ به موش‌ها تجویز شد (۲۲).

پس از اتمام پروتکل تحقیق، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) حیوانات با استفاده از کلروفورم بی‌هوش و قربانی شدند. بافت هیپوکامپ بلافاصله پس از جداسازی و شست و شو با سالین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای -80°C 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. در ادامه 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.

تا اثر این دو متغیر مستقل را بر نروتروفین‌های هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به AD مورد بررسی قرار دهد.

• مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر که از نظر هدف توسعه‌ای و با توجه به ماهیت و روش اجرای آن در زمره تحقیقات آزمایشگاهی و تجربی بوده و به تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد IR.IAU.SARI.REC.1404.152 رسیده است. ۳۵ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزن $217/25 \pm 6/07$ گرم از مؤسسه پاستور تهیه و به آزمایشگاه حیوانی منتقل شدند. حجم نمونه مطالعه حاضر، در سطح معنی‌داری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۸۰٪ (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم افزار Medcalc 18.2.1 (۷ سر موش در هر گروه) تعیین شد. در طول دوره پژوهش دمای محیط 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از یک هفته سازگاری با شرایط محیطی جدید، موش‌ها به پنج گروه هفت سری نرمال (NO)، آلدزایمر (AD)، آلدزایمر-تمرین (ADT)، آلدزایمر-رزوراترول (ADRSV)، آلدزایمر-تمرین-رزوراترول (ADTRSV) تقسیم شدند.

برای القای آلدزایمر از آمیلوئید بتای ۴۲-۱ خریداری شده از شرکت سیگما-آلدریج استفاده شد. ابتدا آمیلوئید بتای ۴۲-۱ در آب مقطر دو بار استریل شد. محلول برای چند ساعت در دمای اتاق یا در 37°C درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا تجمع فیبری تشکیل شود (این مرحله برای افزایش سمیت و شبیه‌سازی پلاک‌های مغزی ضروری است). موش‌ها با تزریق کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. موهای روی سر تراشیده، و درز برگما و لامبدا با یک برش ساجیتال مشخص شد. سر موش روی دستگاه استریوتاکسیک قرار گرفت تا موقعیت دقیق مغز مشخص شود.

جدول ۱. پروتکل تمرین

سرعت تردمیل (متر در دقیقه)	۱۸	۱۴	۱۰	۸	۶
۴۵'	۴۵'	۳۰'	۲۵'	۱۵'	
۴۵ دقیقه فعالیت ورزشی (۵ روز در هفته)					
هفته اول (آشنایی با تمرین)					
هفته دوم تا نهم (سازگاری با تمرین)					

جدول ۲. الگوی پرایمر

Genes	Forward primers	Reverse primers
BDNF	5'-GAACGGGAGGGGTAGATTTTC-3'	5'-CAACCAGAATGGAGAGTGAAGA-3'
NGF	5'-CATCGCTCTCCTTCACAGAGTT-3'	5'-TGTACGGTTCTGCCTGTACG-3'
GAPDH	5'-AGAAGGCTGGAGAAGATGAGG-3'	5'-TTGGTGCCTCGTGTCTTCTGT-3'

انجام Real time-PCR

۲۰ میلی گرم از بافت با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوب 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 اندازه گیری mRNA، ۱ میکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم RQ1 RNase-free DNase-I (Promega) و retro-transcribed (RT) تیمار شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل: ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل ۲۰ ثانیه‌ای در حرارت ۹۵°، ۳۰ ثانیه در ۶۰° و ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲° بود. نسبت بیان ژنهای مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه CT (Threshold Cycle) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای نرمال سازی بیان زن از فرمول (کنترل) - ct = ct (هدف) 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. نهایتاً از آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) و آزمون-های شاپیرو ویلک، تحلیل واریانس یک طرفه تعقیبی توکی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

• یافته‌ها

در این قسمت شاخص‌های توصیفی داده‌های مربوط متغیر-های اصلی تحقیق با استفاده از جدول بررسی شده است.

در ادامه در جدول زیر نتایج آزمون فرض نرمال بودن متغیرهای تحقیق با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک نشان داده شده است.

همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می‌گردد، چون سطح معنی داری متغیرهای پژوهش در همه گروه‌ها بیشتر از سطح آلفا می‌باشد (یعنی بیشتر از $\alpha=0.05$)، لذا توزیع داده‌های مولفه‌های فوق نرمال و برای مقایسه اختلاف بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده می‌گردد.

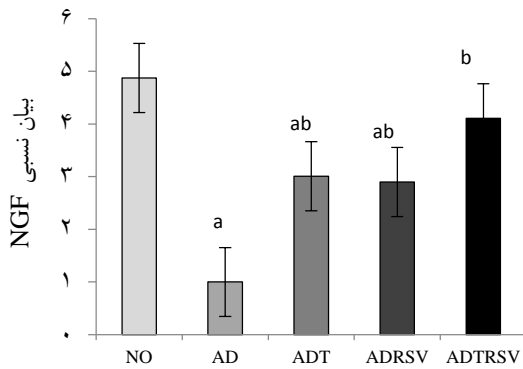
جدول ۳. میانگین وزن گروه‌ها مختلف

ADTRSV (n=7)	ADRSV (n=7)	ADT (n=7)	AD (n=7)	NO (n=7)	گروه‌ها
۲۲۳/۸۶ ± ۸/۴۹	۲۲۲ ± ۶/۴۲	۲۲۴/۷۱ ± ۹/۴۱	۲۲۵/۵۷ ± ۱۱/۲۸	۲۱۹/۷۱ ± ۱۰/۶۱	وزن (گرم)

NO: نرمال، AD: آلزایمر، ADT: آلزایمر-تمرین، ADRSV: آلزایمر-روزراترول، ADTRSV: آلزایمر-تمرین-روزراترول.

جدول ۴. نتایج آزمون فرض نرمال بودن متغیرهای اصلی تحقیق توسط آزمون شاپیرو ویلک

Sig	شاپیرو ویلک	تعداد (N)	گروه	آماره متغیر
۰/۷۲۱	۰/۹۴۹	۷	NO	بیان نسبی BDNF
۰/۸۸۷	۰/۹۶۹	۷	AD	
۰/۴۲۰	۰/۹۱۳	۷	ADT	
۰/۷۱۴	۰/۹۰۲	۷	ADRSV	
۰/۲۱۶	۰/۸۷۸	۷	ADTRSV	
۰/۴۴۱	۰/۹۱۶	۷	NO	بیان نسبی NGF
۰/۳۳۸	۰/۹۰۱	۷	AD	
۰/۴۰۴	۰/۹۱۷	۷	ADT	
۰/۱۵۳	۰/۸۶۰	۷	ADRSV	
۰/۵۴۳	۰/۹۲۹	۷	ADTRSV	



نمودار ۲. تغییرات بیان NGF هیپوکامپ در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با گروه NO، b تفاوت با گروه AD.

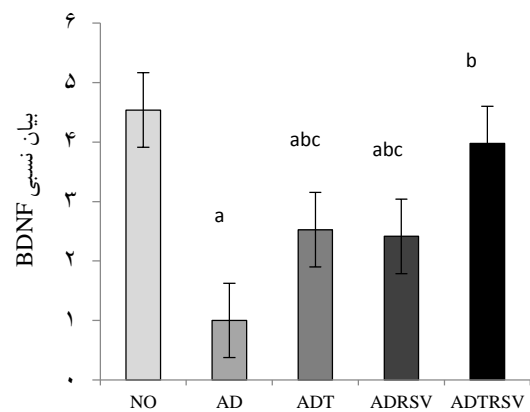
NO: نرمال، AD: آلزایمر، ADT: آلزایمر-تمرین، ADRSV: آلزایمر-رزورترول،

ADTRSV: آلزایمر-تمرین-رزورترول.

• بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای AD باعث با کاهش در بیان BDNF و NGF همراه بود. هم‌راستا با پژوهش حاضر مقدسی و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که القای آلزایمر با TMT منجر به کاهش قابل توجهی در حافظه، یادگیری، بیان ژن NGF، BDNF و TrkB و افزایش بیان ژن تاو شد (۲۳). مطالعات نشان داده که افزایش سن یکی از مهم‌ترین عامل خطرزا برای کاهش عملکرد شناختی و کاهش نوروتروفین‌ها است (۲۴). به نظر کاهش بیان BDNF و NGF هیپوکامپ ناشی از افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از القای AD باشد که همین تغییرات در نتیجه افزایش سن نیز بروز پیدا می‌کند. در پژوهش حاضر القای AD با استفاده از $A\beta$ صورت گرفت. مطالعات قبلی نشان داده که افزایش $A\beta$ در هیپوکامپ با افزایش سایتوکاین‌های التهابی و پیش‌التهابی باعث اختلال در عملکرد کولینرژیک و تغییر در نوروتروفین‌ها مانند BDNF می‌شود (۲۵). به نظر می‌رسد کاهش BDNF ناشی از اتصال $A\beta$ به پروموتور بیان ژنی گیرنده تیروزین کینازی مانند TrkB باشد (۲۶). با این وجود مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت ورزشی هوازی توانست اثر تعدیلی بر القای AD با افزایش بیان BDNF و NGF داشته باشد. نتایج یک متاآنالیز نشان داد که تمرینات حاد و مزمن در بیماران مبتلا به AD می‌تواند اختلال شناختی را با افزایش سطح BDNF خون بهبود بخشد، که ممکن است به عنوان نشانگر زیستی برای ارزیابی اثر فعالیت ورزشی در بیماران مبتلا به AD مورد استفاده قرار گیرد (۲۷). بلویرانلی و همکاران (۲۰۱۹) نیز در موش‌های مدل AD با استفاده از دی‌گالاکتوز و کلرید آلومینیوم، نشان دادند که تمرینات ارادی و اجباری می‌توانند با کاهش $A\beta$ و فشار اکسایشی، باعث

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان BDNF ($F=16/774$, $p=0/0001$) بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد. همچنین نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان BDNF در گروه‌های AD ($p=0/0001$)، ADT ($p=0/002$) و ADRSV ($p=0/001$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($p=0/028$)، ADRSV ($p=0/047$) و ADTRSV ($p=0/0001$) نسبت به AD؛ و ADTRSV نسبت به گروه AD ($p=0/040$) و ADRSV ($p=0/023$) مشاهده شد (نمودار ۱).



نمودار ۱. تغییرات بیان BDNF هیپوکامپ در گروه‌های مختلف با آزمون

آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با گروه NO، b تفاوت با گروه AD، c تفاوت با ADTRSV.

NO: نرمال، AD: آلزایمر، ADT: آلزایمر-تمرین، ADRSV: آلزایمر-رزورترول،

ADTRSV: آلزایمر-تمرین-رزورترول.

یافته دیگر تحقیق حاضر نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان NGF ($F=10/458$, $p=0/0001$) بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد همچنین نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان NGF در گروه‌های AD ($p=0/0001$)، ADT ($p=0/049$) و ADRSV ($p=0/033$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($p=0/029$)، ADRSV ($p=0/044$) و ADTRSV ($p=0/0001$) نسبت به AD مشاهده شد (نمودار ۲).

RSV از طریق مهار p53 با افزایش SIRT1 منجر به کاهش آپوپتوز و افزایش محتوای BDNF سلولی می‌شود. RSV با فعال کردن مسیر SIRT1/AMPK بیان و فعالیت PCG1- α را افزایش داده و منجر به بهبود در بیوژنز، جلوگیری از تجمع ROS و متعاقباً کاهش نشانگرهای التهابی ناشی از AD می‌شود. در نهایت AMPK در پاکسازی $A\beta$ ناشی از اتوفاژی از طریق مهار mTORC1، تأثیرات زیادی بر شکل‌پذیری و انعطاف سیناپسی دارد (۳۶). این تغییرات با اختلال در یادگیری و حافظه فضایی نیز همراه بود. شاید اختلاف در نتایج مربوط به سن موش‌های مورد مطالعه باشد. در مطالعه پارک و همکاران از موش‌های جوان ۴ هفته‌ای استفاده شده در حالی که در پژوهش حاضر از موش‌های مسن‌تر استفاده شد. این نتایج نشان می‌دهد که RSV ممکن است در طول دوره رشدی مضر باشد. با این حال، بیشتر شواهد نشان می‌دهد که نوروزنر در مغز بزرگسالان رخ می‌دهد. در نهایت نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثر ترکیب تمرین و مکمل بر بیان BDNF نسبت به گروه تمرین و RSV معنی‌دار شد. برودریچ و همکاران (۲۰۲۰) نیز در پژوهش خود بیان کردند که فعالیت ورزشی باعث کاهش تجمع لیگومرهای $A\beta$ و نشانگرهای اتوفاژی شد و RSV نشانگرهای مربوط به التهاب، $A\beta$ ، آپوپتوز، اتوفاژی، یوبی کوئیتیناسیون و اندولیزوزوم را کاهش داده و بیان نوروتروفین‌ها و SIRT1 را افزایش داد. با این وجود زمانی که تمرین با RSV ترکیب شد مزایای درمانی بیشتر شد (۳۲). قوبا و همکاران (۲۰۲۳) نیز نشان دادند که فعالیت ورزشی همراه با مصرف RSV قادر است با بهبود وضعیت اکسیدانی و کاهش شاخص‌های التهابی و آپوپتوزی، سطوح SIRT1 و NGF را افزایش دهد (۳۷). به نظر می‌رسد ترکیب تمرین همراه با RSV دارای اثرات هم‌افزایی داشته که باعث شده نسبت به گروه مکمل اثر بهتری داشته باشد. در پایان با توجه به نقش مهم SIRT1 و مسیرهای اکسیدانی و التهابی بر نوروتروفین‌ها توصیه می‌شود در پژوهش‌های آینده این مسیرها نیز مورد توجه قرار گیرد. از آنجایی که بیماری AD به صورت طبیعی برای مدت طولانی و با توجه به عوامل مختلفی از قبیل ارث و عوامل محیطی رخ می‌دهد، از دیگر محدودیت پژوهش حاضر می‌توان به القای بیماری اشاره کرد که می‌تواند نتایج را تحت تأثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین هوازی و مصرف RSV در موش‌های مبتلا به AD منجر به افزایش BDNF و NGF شده که نشان دهنده محافظت عصبی تمرین و RSV بر بیماری AD است. با این وجود اثر ترکیب تمرین و RSV نسبت به تمرین و RSV بیشتر بود. بنابراین می‌توان از ترکیب تمرین

افزایش میزان عوامل نوروتروفیک هیپوکامپ، از جمله فاکتور رشد عصبی و BDNF شود (۲۸). جعفرزاده و همکاران (۲۰۲۱) نیز در پژوهش خود نشان دادند که هشت هفته تمرین مقاومتی باعث افزایش بیان ژن‌های BDNF، NT3 و NGF و گیرنده‌های TrkB و TrkA در موش‌های صحرایی ویستار مدل AD شد (۱۱). مطالعات ثابت کرده‌اند که کاهش بیان ژن BDNF باعث ایجاد مشکلاتی در عملکردهای سیناپسی می‌شود و منجر به از دست دادن حافظه و آلزایمر می‌شود (۲۹). از سوی دیگر، فعالیت کولینرژیک توسط تمرینات بدنی افزایش می‌یابد و تنظیم سیستم کولینرژیک در شکل‌پذیری نورون‌ها نقش دارد (۳۰). سه مسیر اصلی سیگنال دهی با اتصال BDNF به TrkB فعال می‌شوند: مسیر MAP کیناز، فسفاتیدیل ۳-کیناز (PI3K) و فسفولیپاز C، گاما (PLCG). این سه مسیر پس از اتصال لیگاند با گیرنده فعال می‌شوند که در نهایت منجر به تکثیر، تمایز و بقای نورون می‌شود. در میان همه این‌ها، مسیر سوم که PKC و کلسیم در آن درگیر هستند، به دلیل نقش حیاتی فعالیت ورزشی در هموستاز کلسیم اهمیت بیشتری دارد. فعال‌سازی PLCG منجر به سیگنال دهی IP3 و DAG می‌شود. IP3 باعث آزادسازی کلسیم از ذخایر درون سلولی می‌شود و DAG PKC را فعال می‌کند که منجر به حساسیت بیش از حد دستگاه انقباضی، آزادسازی کلسیم و متعاقب آن تکثیر و مهاجرت میوسیت‌ها می‌شود. با این حال، مسیر مهم‌تر در نورون‌ها مسیر IP3 است که منجر به تکثیر، تمایز و بقای نورون‌ها به‌ویژه در هیپوکامپ می‌شود که منجر به بهبود حافظه بلندمدت و افزایش انتقال سیناپسی نیز می‌شود (۳۱). با این وجود استین و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهش خود نشان دادند که دوازده هفته تمرین هوازی تأثیر معنی‌داری بر عملکرد شناختی و سطح نوروتروفین‌های در گردش (BDNF، VEGF165 و IGF-1) بیماران مبتلا به AD ندارد (۱۳). شاید تفاوت در نوع تمرین و محل اندازه‌گیری نوروتروفین‌ها باعث تفاوت در نتایج شده است.

از دیگر نتایج پژوهش حاضر تأثیر مثبت RSV بر نوروتروفین‌ها در موش‌های AD بوده است. مطالعات قبلی نشان داده که RSV قادر به کاهش تولید نشانگرهای التهابی و افزایش نوروتروفین‌ها (BDNF و NGF) در مغز موش‌های AD است (۳۲). نشان داده شده که RSV نقش بالقوه‌ای در درمان نورون‌های هیپوکامپ در برابر سمیت ناشی از $A\beta$ و سمیت عصبی ناشی از استرس اکسیداتیو دارد (۳۳). در موش‌های مبتلا به AD، به نظر می‌رسد که این اثر با توانایی RSV برای عبور از BBB (۳۴) و افزایش بیان مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید نشانگرهای التهابی در مغز واسطه می‌شود (۳۵). همچنین

صمیمانه ما را در اجرای این پژوهش یاری کردند. تشکر و قدردانی می‌نماییم.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش مشارکت داشته و هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

و RSV به عنوان یک روش غیر دارویی برای بهبود عملکرد CNS در بیماری AD بهره گرفت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد. بدینوسیله از تمامی اشخاصی که

multifarious diseases in Alzheimer's development. *Frontiers in neuroscience*. 2019;12:1017.

• References

- Ashrafian H, Zadeh EH, Khan RH. Review on Alzheimer's disease: inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. *International journal of biological macromolecules*. 2021;167:382-94.
- Brejyeh Z, Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment. *Molecules*. 2020;25(24):5789.
- Giuffrida ML, Copani A, Rizzarelli E. A promising connection between BDNF and Alzheimer's disease. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(8):1791.
- Mitra S, Behbahani H, Eriksdotter M. Innovative therapy for Alzheimer's disease-with focus on biodelivery of NGF. *Frontiers in neuroscience*. 2019;13:434303.
- Croce N, Gelfo F, Ciotti MT, Federici G, Caltagirone C, Bernardini S, et al. NPY modulates miR-30a-5p and BDNF in opposite direction in an in vitro model of Alzheimer disease: a possible role in neuroprotection? *Molecular and cellular biochemistry*. 2013;376:189-95.
- Abdollahi S, Zare-Chahoki A, Noorbakhsh F, Gorji A. A review of molecular interplay between neurotrophins and miRNAs in neuropsychological disorders. *Molecular neurobiology*. 2022;59(10):6260-80.
- Castrén E. Neurotrophins as mediators of drug effects on mood, addiction, and neuroprotection. *Molecular neurobiology*. 2004;29:289-301.
- Nordvall G, Forsell P, Sandin J. Neurotrophin-targeted therapeutics: A gateway to cognition and more? *Drug discovery today*. 2022;27(10):103318.
- Voss MW, Nagamatsu LS, Liu-Ambrose T, Kramer AF. Exercise, brain, and cognition across the life span. *Journal of applied physiology*. 2011;111(5):1505-13.
- Erickson KI, Leckie RL, Weinstein AM. Physical activity, fitness, and gray matter volume. *Neurobiology of aging*. 2014;35:S20-S8.
- 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.
- Özbeyli D, Çakır ÖK. The effects of different exercise modalities in Alzheimer's disease. *Clinical and Experimental Health Sciences*. 2017;7(1):27-31.
- Stein AM, Coelho FGdM, Vital-Silva TM, Rueda AV, Pereira JR, Deslandes AC, et al. Aerobic training and circulating neurotrophins in alzheimer's disease patients: A controlled trial. *Experimental Aging Research*. 2023;49(1):1-17.
- Mueed Z, Tandon P, Maurya SK, Deval R, Kamal MA, Poddar NK. Tau and mTOR: the hotspots for multifarious diseases in Alzheimer's development. *Frontiers in neuroscience*. 2019;12:1017.
- Cicero AF, Ruscica M, Banach M. Resveratrol and cognitive decline: a clinician perspective. *Archives of Medical Science*. 2019;15(4):936-43.
- Labban S, Alghamdi BS, Alshehri FS, Kurdi M. Effects of melatonin and resveratrol on recognition memory and passive avoidance performance in a mouse model of Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*. 2021;402:113100.
- Serra MP, Boi M, Poddighe L, Melis T, Lai Y, Carta G, et al. Resveratrol regulates BDNF, trkB, PSA-NCAM, and Arc expression in the rat cerebral cortex after bilateral common carotid artery occlusion and reperfusion. *Nutrients*. 2019;11(5):1000.
- Tang X, Zhao Y, Zhou Z, Yan J, Zhou B, Chi X, et al. Resveratrol mitigates sevoflurane-induced neurotoxicity by the SIRT1-dependent regulation of BDNF expression in developing mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020;2020.
- Park HR, Kong KH, Yu BP, Mattson MP, Lee J. Resveratrol inhibits the proliferation of neural progenitor cells and hippocampal neurogenesis. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(51):42588-600.
- 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. 2019.
- Wu C, Yang L, Li Y, Dong Y, Yang B, Tucker LD, et al. Effects of exercise training on anxious-depressive-like behavior in Alzheimer rat. *Medicine and science in sports and exercise*. 2020;52(7):1456.
- 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.
- Moghadasi M, Akbari F, Najafi P. Interaction of aerobic exercise and crocin improves memory, learning and hippocampic tau and neurotrophins gene expression in rats treated with trimethyltin as a model of Alzheimer's disease. *Molecular biology reports*. 2024;51(1):111.
- Lee YI, Kim YG, Pyeon HJ, Ahn JC, Logan S, Orock A, et al. Dysregulation of the SNARE-binding protein Munc18-1 impairs BDNF secretion and synaptic neurotransmission: a novel interventional target to protect the aging brain. *Geroscience*. 2019;41:109-23.
- Eremenko E, Mittal K, Berner O, Kamenetsky N, Nemirovsky A, Elyahu Y, et al. BDNF-producing, amyloid β -specific CD4 T cells as targeted drug-delivery vehicles in Alzheimer's disease. *EBioMedicine*. 2019;43:424-34.

26. Fonseca-Gomes J, Jerónimo-Santos A, Lesnikova A, Casarotto P, Castrén E, Sebastião AM, et al. TrkB-ICD fragment, originating from BDNF receptor cleavage, is translocated to cell nucleus and phosphorylates nuclear and axonal proteins. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2019;12:4.
27. Huang H, Li W, Qin Z, Shen H, Li X, Wang W. Physical exercise increases peripheral brain-derived neurotrophic factors in patients with cognitive impairment: A meta-analysis. *Restorative Neurology and Neuroscience*. 2021;39(3):159-71
28. Belviranlı M, Okudan N. Voluntary, involuntary and forced exercises almost equally reverse behavioral impairment by regulating hippocampal neurotrophic factors and oxidative stress in experimental Alzheimer's disease model. *Behavioural Brain Research*. 2019 May 17;364:245-55.
29. Vafaei AA, Jezek K, Bures J, Fenton AA, Rashidy-Pour A. Post-training reversible inactivation of the rat's basolateral amygdala interferes with hippocampus-dependent place avoidance memory in a time-dependent manner. *Neurobiology of learning and memory*. 2007;88(1):87-93.
30. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in neurosciences*. 2002;25(6):295-301.
31. Bariohay B, Lebrun B, Moysé E, Jean A. Brain-derived neurotrophic factor plays a role as an anorexigenic factor in the dorsal vagal complex. *Endocrinology*. 2005;146(12):5612-20.
32. 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. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(19):7337.
33. D Rege S, Geetha T, L Broderick T, Ramesh Babu J. Resveratrol protects β amyloid-induced oxidative damage and memory associated proteins in H19-7 hippocampal neuronal cells. *Current Alzheimer Research*. 2015;12(2):147-56.
34. Pallas M, Ortuno-Sahagun D, Benito-Andres P, Ponce-Regalado MD, Rojas-Mayorquin AE. Resveratrol in epilepsy: preventive or treatment opportunities. *Front Biosci*. 2014;19:1057-64.
35. Saleh MC, Connell BJ, Saleh TM. Resveratrol induced neuroprotection is mediated via both estrogen receptor subtypes, ER α and ER β . *Neuroscience Letters*. 2013;548:217-21.
36. Yang AJ, Bagit A, MacPherson RE. Resveratrol, metabolic dysregulation, and Alzheimer's disease: Considerations for neurodegenerative disease. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(9):4628.
37. Ghoweba RE, Khowailed AA, Aboulhoda BE, Rashed LA, Selmy A. Synergistic role of resveratrol and exercise training in management of diabetic neuropathy and myopathy via SIRT1/NGF/GAP43 linkage. *Tissue and Cell*. 2023;81:102014.

The effect of Aerobic Exercise and Resveratrol on Hippocampal Neurotrophin Levels of Rats with Alzheimer's Disease

Babajani F¹, Farajtabar Behrestaq S^{*2}, Taghipoor A

1- Department of Physical Education and Sport Sciences, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

2- * Corresponding Author: Department of Physical Education and Sport Sciences, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. E-mail: s.faraj.b@iau.ac.ir

Received 27 Jun, 2025

Accepted 12 Oct, 2025

Background and Objectives: Promoting regular exercise and a diet containing polyphenols are effective non-pharmacological approaches that prevent the progression of neurodegenerative diseases. The aim of this study was to investigate the effect of aerobic exercise and resveratrol on the levels of neurotrophins in the hippocampus of Alzheimer's rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 35 8-week-old male Wistar rats with a mean weight of 217.25 ± 6.07 g were divided into five groups: normal (NO), Alzheimer's (AD), Alzheimer's-training (ADT), Alzheimer's-resveratrol (ADRSV), and Alzheimer's-training-resveratrol (ADTRSV). The supplement groups received 20 mg of RSV (per kg of body weight) orally during the intervention period. Amyloid beta 42-1 purchased from Sigma-Aldridge was used to induce Alzheimer's. Aerobic exercise program including running on treadmill with a speed of 6-18 meters per minute, was performed 5 days a week for eight weeks. Finally, to compare the mean changes of the research variables, one-way analysis of variance test and Tukey's post hoc test were used at a significance level of $p \leq 0.05$.

Results: AD induction decreased the expression of BDNF and NGF ($p=0.0001$). The expression of BDNF and NGF increased significantly in ADT ($p=0.028$ and $p=0.029$, respectively), ADRSV ($p=0.047$ and $p=0.044$, respectively) and ADTRSV ($p=0.0001$ and $p=0.0001$, respectively). The increase in BDNF expression was significant in ADTRSV compared to ADT group ($p=0.040$) and ADRSV ($p=0.023$).

Conclusion: Aerobic exercise and RSV in AD rat led to the increase of BDNF and NGF, which indicates the neuroprotection of exercise and RSV on AD disease. However, the effect of the combination of exercise and RSV was greater than either alone.

Keywords: Exercise, Resveratrol, Neurotrophin, Hippocampus, Alzheimer's