

اثر هشت هفته مصرف مکمل ترکیبی همراه با تمرین هوازی بر بیان ژن های ARC و IGF-1 هیپوکامپ و عملکرد شناختی در موش های مبتلا به آلزایمر: یک مطالعه تجربی

امیر جهانبخش^۱، خسرو جلالی دهکردی^۲، فرزانه تقیان^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ARC و IGF-1 (Insulin-like growth factor 1) از جمله نشانگرهای مولکولی مهم برای نروژن مغزی هستند که در شرایط مختلف همچون آلزایمر، در بافت مغز به طور قابل توجهی کاهش می یابند. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته مصرف مکمل ترکیبی همراه با تمرین هوازی، بر بیان ژن های ARC و IGF-1 هیپوکامپ و عملکرد شناختی در موش های سالمند مبتلا به آلزایمر بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش نر C57 مبتلا به آلزایمر با سن ۱۶-۱۴ هفته و وزن ۳۵-۳۰ گرم به طور تصادفی در گروه های «شاهد سالم»، آلزایمر، آلزایمر + تمرین هوازی، آلزایمر + مکمل ترکیبی، آلزایمر + تمرین هوازی + مکمل ترکیبی قرار گرفتند. القای آلزایمر با تزریق آمیلوئید بتا (Aβ1-42) یا Amyloid-beta) به هیپوکامپ انجام شد. پروتکل تمرین هوازی به مدت پنج روز در هفته هشت هفته قبل و پس از القای آلزایمر بود. مکمل ترکیبی شامل روزوراترول با غلظت ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم و فیستین با غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت هشت هفته استفاده گردید. داده ها با استفاده از آزمون های One-way ANOVA و تعقیبی Tukey در سطح معنی داری ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: القای آلزایمر باعث کاهش معنی دار بیان ژن های ARC و IGF-1 ($P = ۰/۰۰۱$)، افزایش معنی دار بیان ژن APP (Amyloid precursor protein) در هیپوکامپ ($P = ۰/۰۰۱$) و کاهش معنی دار عملکرد شناختی هیپوکامپ ($P = ۰/۰۰۱$) شد. تمرین هوازی و مصرف مکمل ترکیبی هم به صورت جداگانه و هم به صورت هم زمان، باعث بهبود معنی دار تمام تغییرات فوق گردید ($P = ۰/۰۰۱$).

نتیجه گیری: به نظر می رسد تمرین هوازی و مصرف مکمل ترکیبی، احتمالاً می تواند از طریق افزایش بیان ژن های ARC و IGF-1 در هیپوکامپ، به افزایش نروژن مغزی و بهبود عملکرد شناختی در افراد سالمند مبتلا به آلزایمر کمک نماید.

کلید واژه ها: تمرین هوازی؛ APP؛ ARC؛ IGF-1؛ آلزایمر

ارجاع: جهانبخش امیر، جلالی دهکردی خسرو، تقیان فرزانه. اثر هشت هفته مصرف مکمل ترکیبی همراه با تمرین هوازی بر بیان ژن های ARC و IGF-1 هیپوکامپ و عملکرد شناختی در موش های مبتلا به آلزایمر: یک مطالعه تجربی. پژوهش در علوم توانبخشی ۱۴۰۲؛ ۱۹: ۱.

تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۰

کاهش عملکرد شناختی می باشد (۲). روند زمانی کاهش عملکرد مغزی وابسته به سن، تقریباً به موازات کاهش عملکرد سایر سیستم های بدن با شتاب قابل توجهی بعد از ۵۰ سالگی افزایش می یابد (۳). بیماری آلزایمر شایع ترین بیماری تحلیل برنده عصبی وابسته به سن به شمار می رود. مطالعات جهانی از افزایش روزافزون این بیماری در میان جمعیت سالمند در جوامع مختلف دنیا نشان دارد و

مقدمه

توانایی های عملکردی مغز مانند سایر سیستم های بدن در طی پیری به تدریج کاهش می یابد که به صورت کاهش در یادگیری و حافظه، توجه، سرعت تصمیم گیری، درک حسی (بینایی، شنوایی، لمس، بو و چشایی) و هماهنگی حرکتی آشکار می شود (۱). یکی از مهم ترین تغییرات ناشی از افزایش سن،

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

نویسنده مسؤول: خسرو جلالی دهکردی؛ دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

Email: khosrojalali@iaui.ac.ir

شناختی استفاده شده است و یا به طور تجربی مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. رزوراتول (Resveratrol) یک پلی‌فنل قوی و ماده بیولوژیک فعال در برخی دانه‌ها، سبزیجات و میوه‌ها به ویژه توت و انگور قرمز است که سبب افزایش طول عمر سلول‌ها می‌شود. برای این ترکیب، خصوصیات دیگری مانند مقابله با سرطان، محافظت‌کننده سیستم عصبی، کاهش قند خون و کاهش هموگلوبین گلیکوزیله ذکر شده است (۱۳). نتایج تحقیقات نشان داده است که رزوراتول از نظر نوروبیولوژیکی مهم است. به عنوان مثال، به دلیل اثرات ضد پیری آن از طریق دی‌استیلاز سیرتوئین-۱ (Sirt1) مورد توجه قرار گرفت. رزوراتول از سد خونی- مغزی عبور می‌کند؛ جایی که رزوراتول نقص‌های حافظه فضایی را پس از سکنه مغزی برمی‌گرداند و به عنوان یک عامل محافظت‌کننده عصبی عمل می‌کند (۱۴).

فیستین (Fisetin) (یک فلاونوئید طبیعی که به وفور در میوه‌ها و سبزیجات مختلف مانند توت‌فرنگی، سیب، خرمالو، انگور، پیاز و خیار یافت می‌شود) نیز خواص نوروتروفیک، ضد سرطان و ضد التهابی دارد. همچنین اثرات آنتی اکسیدانی در برابر اختلالات شناختی و عصبی مانند آلزایمر دارد. (۱۵). علاوه بر این، مشخص شده است که فیستین تشکیل فیبریل ناشی از پروتئین $A\beta$ را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند و عملکرد رفتاری را بهبود می‌بخشد و تخریب عصبی آپوپتوز ناشی از کلرید آلومینیوم را در مغز موش کاهش می‌دهد (۱۶). تحقیقات محدودی در زمینه مصرف رزوراتول و فیستین همراه با تمرین هوازی بر هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر انجام شده است. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته مصرف مکمل فیستین و رزوراتول همراه با تمرین هوازی بر بیان ژنی ARC و IGF-1 هیپوکامپ و عملکرد شناختی در موش‌های سالمند مبتلا به آلزایمر بود.

مواد و روش‌ها

نگهداری حیوانات آزمایشگاهی: در این کارآزمایی تجربی، ۲۵ سر موش نر c57 از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات پژوهشگاه رویان اصفهان تهیه گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه تخصصی فیزیولوژی ورزشی این واحد دانشگاهی، به مدت یک هفته جهت سازگاری در این محیط نگهداری شدند. نکته قابل توجه این که در تمام دوره تحقیق، حیوانات در شرایط استاندارد شامل چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دمای محیط ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. همچنین، تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات در مطالعه حاضر بر اساس معاهده Helsinki و تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان با کد IR.IAU.KHUISF.REC.1401.387 انجام شد.

روش القای آلزایمر: الیگومر $A\beta$ 1-42 از شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) خریداری شد. موش‌های c57 با تجویز داخل صفاقی سدیم پنتوباریتال ۰/۲ درصد (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و سپس در دستگاه استریوتاکسیک (Wood Dale, IL, Stoelting) قرار گرفتند. الیگومر $A\beta$ 1-42 با ۵۰ میکرومولار یا یک میلی‌مولار استریل سالین ۰/۹ درصد (۱ میکرولیتر در هر طرف با سرعت ۰/۲ میکرولیتر در دقیقه) به ناحیه DG دو طرفه هیپوکامپ پستی به موش تزریق گردید. ۲۵ سر موش وارد گروه‌های پژوهش شدند. در ادامه، ۲۵ سر موش مبتلا به آلزایمر به طور تصادفی به گروه‌های «شاهد سالم، آلزایمر، آلزایمر + تمرین هوازی، آلزایمر + مکمل

گفته می‌شود که در حال حاضر ۳۶ میلیون نفر مبتلا به آلزایمر در سراسر جهان هستند. پیش‌بینی‌ها حاکی از آن است که با توجه به افزایش جمعیت سالمند در جهان، آمار مبتلایان به آلزایمر تا سال ۲۰۵۰ به ۱۱۵ میلیون نفر خواهد رسید (۴). یکی از عوامل اصلی ایجادکننده آلزایمر، تشکیل پلاک‌های پیری متشکل از پپتید آمیلوئید بتا (Amyloid Beta یا $A\beta$) می‌باشد. این ماده به صورت طبیعی در مقادیر اندک در مغز یافت می‌شود و ۳۷-۴۹ اسید آمینه دارد که در اثر پروتئولیز Amyloid precursor protein (APP) ایجاد می‌شود (۵). بیشترین آمیلوئید بتای ترشح شده، حاوی ۴۰ اسید آمینه ($A\beta$ 40) و درصد اندکی، حاوی ۴۲ اسید آمینه ($A\beta$ 42) می‌باشد. از طرف دیگر، نتایج تحقیقات نشان داده است که افزایش شاخص‌های استرس اکسایشی در آلزایمر با تجمع و رسوب $A\beta$ در مغز همراه است. پژوهش‌ها در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است که تزریق $A\beta$ 42 به نورون‌های اولیه هیپوکامپی در محیط کاشت، منجر به افزایش شاخص‌های استرس اکسایشی و سمیت عصبی می‌شود (۶). همچنین، ژن APP بر روی کروموزوم ۲۱ قرار دارد. در نتیجه، جهش در این ژن منجر به تولید بیش از حد پلاک‌های $A\beta$ می‌گردد که رسوب آن‌ها مهم‌ترین علت از بین رفتن سلول‌های عصبی است (۷). عملکرد فیزیولوژیک ژن APP به طور دقیق مشخص نشده است؛ با وجود این که در چندین مطالعه عملکردهایی برای APP مانند نقش در اتصالات سلول، مهاجرت نورونی، تولید سیناپس، بقای سلول و توزیع طبیعی نورون‌ها در مغز گزارش شده است (۸).

Arc Activity-Regulated Cytoskeleton-Associated Gene در درجه اول در نورون‌های گلوتاماترژیک قشر مغز و هیپوکامپ بیان می‌شود و برای حفظ بهبود طولانی مدت (Long-term potentiation یا LTP) و تثبیت حافظه ضروری است. نورون‌های تحریک شده به سرعت بیان Arc mRNA را افزایش می‌دهند که منجر به تشخیص فعالیت شبکه عصبی می‌شود (۹). تثبیت طولانی مدت به شدت تحت تأثیر رویدادهای سیگنال‌رسانی است که پس از القای Arc mRNA آغاز می‌شود. یکی از تنظیم‌کننده‌های این فرایند، Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) است. در واقع، عملکرد Arc در تثبیت LTP یک فرایند دو مرحله‌ای می‌باشد که طی آن فعال شدن ترجمه Arc، تثبیت LTP وابسته به ARC را به دنبال دارد. محرک خارجی ممکن است سبب فعال‌سازی گیرنده‌های پس‌سیناپسی NMDR و تیروزین کیناز B و به دنبال آن، اتصال گلوتامات و BDNF به این گیرنده‌ها به رونویسی و ترجمه ARC شود (۱۰).

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) اثرات محافظت‌کننده عصبی در مدل‌های آسیب به دستگاه عصبی مرکزی دارد و تکثیر سلول اجدادی و نورون‌ها، الیگودندروسیت‌ها و رگ‌های خونی جدید در شکنجه‌های دندانه‌دار هیپوکامپ را افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد که IGF-1 گردش خونی برای شکل‌پذیری عصبی ناشی از ورزش ضروری است؛ چرا که مسدود کردن ورود IGF-1 گردش خونی به درون مغز، به طور کامل اثرات عصب‌زایی و محافظت‌کننده عصبی ورزش را از بین می‌برد (۱۱). تمرین و فعالیت ورزشی یکی از راهکارهای حمایتی و غیر تهاجمی برای بهبود عملکرد مغز می‌باشد. نتایج یک مطالعه نشان داد که افراد مبتلا به اختلالات حافظه و یادگیری، در میانسالی کمتر فعال بوده‌اند و این غیر فعال بودن با ۲۵ درصد افزایش توسعه آلزایمر همراه می‌باشد (۱۲).

علاوه بر داروهای شیمیایی، از گیاهان دارویی نیز جهت درمان اختلالات

و IGF-1 به دست آمد. ژن‌ها از طریق نرم‌افزارهای Oligo نسخه ۷ و Beacon designer طراحی شدند. در نهایت، Real-Time PCR با استفاده از کیت SYBR Green و دستگاه‌های Corbett Rotor gene 6000 انجام شد. در تحقیق حاضر، از ژن B2M به عنوان ژن خانه‌داری استفاده گردید. تجزیه و تحلیل بیان ژن با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه و ارزیابی شد (جدول ۲).

جدول ۲. توالی پرایمر متغیرهای تحقیق

ژن‌ها	توالی پرایمر	دما
B2m	F: ACAGTTCCACCCGCCTCACATT R: TAGAAAGACCAGTCCTTGCTGAAG	۶۰
IGF-1	F: TGTTCGTGTCGCACCCAGTGGTA-3' R: TTCCAACCTGCCACGGTCCTGAT-3'	۶۰
Arc	F: CTGCTGTAACGATGAAGCCCTG-3' R: GCTGTAGGAAGCTCATCTCTCC-3'	۶۰

IGF-1: Insulin-like growth factor 1

دما بر حسب درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون Shapiro-Wilk و جهت همگن بودن واریانس از آزمون Levene استفاده گردید. از آزمون‌های One-way ANOVA و تعقیبی Tukey به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ (IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون One-way ANOVA نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن‌های ARC ($P = 0.001$)، IGF-1 ($P = 0.010$) و APP ($P = 0.010$) در بافت مغز موش‌های سالمند مبتلا به آلزایمر در گروه‌های مورد بررسی وجود داشت (جدول ۳).

مقادیر ARC و IGF-1 در گروه‌های مبتلا به آلزایمر ($P < 0.001$) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد سالم داشت، اما در گروه‌های پیش‌آلزایمر + تمرین هوازی ($P = 0.010$)، آلزایمر + مکمل گیاهی ($P = 0.010$) و آلزایمر + تمرین هوازی + مکمل گیاهی ($P = 0.010$) نسبت به گروه مبتلا به آلزایمر افزایش معنی‌داری مشاهده گردید ($P = 0.010$).

ترکیبی، آلزایمر + تمرین هوازی + مکمل ترکیبی» تقسیم شدند. لازم به ذکر است که جهت بررسی اثر القای آلزایمر، ۵ سر موش صحرایی سالم در گروه شاهد سالم قرار گرفتند.

پروتکل تمرین هوازی: برنامه تمرین هوازی ۵ جلسه در هفته و به مدت هشت هفته انجام شد. تمرین در هفته اول ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان شروع گردید و در هفته هشتم به ۴۰ دقیقه با سرعت ۲۷ رسید (جدول ۱).

جدول ۱. برنامه تمرینی هوازی

طول هر دوره (هفته)	سرعت دویدن (متر در دقیقه)	مدت زمان هر جلسه (دقیقه)	تعداد جلسات در هفته (روز)
اول	۱۰	۳۰	۵
دوم	۱۸	۳۵	۵
سوم	۱۸	۳۵	۵
چهارم	۲۲	۳۵	۵
پنجم	۲۲	۴۰	۵
ششم	۲۷	۴۰	۵
هفتم	۲۷	۴۰	۵

مصرف رزوراترول و فیستین: ترکیبات رزوراترول و فیستین از شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) خریداری شد. دز ایمن استفاده شده برای هر ترکیب بر اساس مقالات تعیین و رزوراترول با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و فیستین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی گاواژ گردید.

تشریح و نمونه‌برداری: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی، از ترکیب ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کتامین و ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محلول زایلازین به منظور بیهوشی موش‌ها استفاده شد. ابتدا متخصصان آزمایشگاه برای تشخیص بیهوشی، آزمایش درد انجام دادند. پس از اطمینان از بیهوشی کامل، مغز حیوانات باز شد و بافت مغزی برداشته شده بلافاصله در نیتروژن قرار گرفت. برای اندازه‌گیری متغیرهای APP، ARC و IGF-1، بافت مغز در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

روش اندازه‌گیری مقادیر بیان ژنی APP، ARC و IGF-1: RNA از بافت هیپوکامپ مغز با استفاده از معرف تریزول و طبق پروتکل سازنده (یکتا تجهیز آزمایش ایران) استخراج شد. ۳۶۰/۲۸۰ تضمین شد. پس از آن، سنتز cDNA طبق پروتکل کیت BIOFACT انجام شد. توالی ژن هدف از سایت NBCI و توالی نوکلئوتیدی پرایمر جلو و توالی نوکلئوتیدی پرایمر معکوس مکمل APP، ARC

جدول ۳. میانگین بیان ژن‌های ARC، IGF-1 (Insulin-like growth factor 1) و APP (Amyloid precursor protein) در گروه‌های مورد بررسی

گروه	بیان ژن APP (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مقدار P	بیان IGF1 (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مقدار P	بیان ARC (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مقدار P
نرمال	۰/۹۷ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۰۰۱	۱/۰۲ $\pm$ ۰/۰۶	۰/۰۰۱	۰/۹۷ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۰۰۱
مبتلا به آلزایمر	۸/۴۰ $\pm$ ۰/۰۴	< ۰/۰۱۰	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۰۱	< ۰/۰۱۰	۰/۳۴ $\pm$ ۰/۰۲	< ۰/۰۱۰
آلزایمر - رزوراترول - فیستین	۵/۳۰ $\pm$ ۰/۳۶	< ۰/۰۱۰	۰/۵۵ $\pm$ ۰/۱۴	< ۰/۰۱۰	۰/۴۷ $\pm$ ۰/۰۱	< ۰/۰۱۰
آلزایمر - تمرین هوازی	۴/۳۲ $\pm$ ۰/۳۲	< ۰/۰۱۰	۰/۶۳ $\pm$ ۰/۰۲	< ۰/۰۱۰	۰/۶۴ $\pm$ ۰/۰۲	< ۰/۰۱۰
آلزایمر - رزوراترول - فیستین + تمرین هوازی	۲/۷۳ $\pm$ ۰/۵۲	< ۰/۰۱۰	۰/۸۳ $\pm$ ۰/۰۳	< ۰/۰۱۰	۰/۸۳ $\pm$ ۰/۰۲	< ۰/۰۱۰

IGF-1: Insulin-like growth factor 1; APP: Amyloid precursor protein

جدول ۴. میانگین عملکرد شناختی در گروه‌های مورد بررسی

گروه	شیء آشنا	شیء جدید	مقدار P
نرمال	۵/۵۰ ± ۰/۹۶	۱۸/۵۰ ± ۱/۱۳	< ۰/۰۰۱
مبتلا به آلزایمر	۲۰/۶۰ ± ۱/۸۴	۱۹/۳۶ ± ۱/۲۰	< ۰/۰۱۰
آلزایمر - رزوراتول - فیستین	۱۶/۶۳ ± ۰/۶۷	۲۰/۱۲ ± ۱/۱۰	< ۰/۰۱۰
آلزایمر - تمرین هوازی	۱۴/۳۱ ± ۰/۱۳	۲۰/۳۶ ± ۱/۱۶	< ۰/۰۱۰
آلزایمر - رزوراتول - فیستین + تمرین هوازی	۱۰/۱۳ ± ۰/۲۵	۱۷/۴۳ ± ۱/۵۳	< ۰/۰۱۰

از ترکیب لاکتوباسیلوس پلانتاروم و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با ورزش هوازی از High-Intensity Interval Training (HIIT) ممکن است یک اثر محافظت‌کننده عصبی در بیماری آلزایمر داشته باشد (۱۹). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های سلولی درگیر در رشد عصب و عصب‌زایی، بیان ژن ARC است. ARC یک پروتئین پس‌سیناپسی اختصاصی نورون است که به طور انتخابی در نورون‌های مثبت پروتئین کیناز II (CaMKII) وابسته به Ca/calmodulin بیان می‌شود (۱۹). پس از فعال شدن، ARC به سمت چگالی پس‌سیناپسی خا‌های دندریتیک فعال سینپتیکی هدایت می‌شود؛ جایی که به پلی‌زوم‌ها متصل می‌شود. ARC با اندوفیلین ۳/۲ و دینامین برای کمک به تعدیل گیرنده گلوتامات آلفا-آمینو-۳-هیدروکسیل-۵-متیل-۴-ایزوکسازولپروپیونات (AMPA) با افزایش اندوسیتوز تعامل دارد (۲۰). اندوسیتوز با واسطه ARC، فعالیت شبکه عصبی را سرکوب می‌کند و تولید وابسته به فعالیت β را افزایش می‌دهد. اگر ARC و به دنبال آن تولید وابسته به فعالیت β کنترل نشود، این یک مکانیسم بازخورد مثبت ایجاد می‌کند که به موجب آن سرکوب سیناپسی، منجر به از دست دادن قابل توجه خا‌های دندریتیک و فعالیت سیناپسی و آسیب سیناپسی مشابه در بیماری آلزایمر می‌شود. ARC احتمالاً برای محدود کردن سطح تحریک عصبی مهم است؛ چرا که اندوسیتوز با واسطه ARC، باعث تضعیف فعالیت شبکه عصبی می‌شود (۲۱).

نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داده است که ورزش هوازی اثرات مفید خود را از طریق مسیرهای مختلف از جمله افزایش مصرف اکسیژن مغز، افزایش انتقال دهنده‌های عصبی مغز و افزایش تنظیم عوامل نوروتروفیک در مغز، القا می‌کند. ورزش هوازی از طریق افزایش بیان MAPK، بیان ARC را در هیپوکامپ افزایش می‌دهد (۲۲). IGF-1 عامل رشدی است که در نقش یک عامل بقای نیرومند برای نورون‌ها و الیگودندروسیت‌ها ظاهر شده است. همچنین، در رشد و تمایز نورونی در مغز شرکت می‌کند (۲۳) علاوه بر این، IGF-1 ممکن است یک واسطه بالادست برای بیان ژن BDNF، نورون‌زایی و توانایی ورزش برای حمایت از آسیب مغز باشد. گزارش شده است که IGF-1 تشکیل رگ‌های خونی جدید در مغز را از طریق تنظیم عامل رشد اندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor یا VEGF) القا می‌کند که به طور عمده در تشکیل و تکامل رگ خونی درگیر است. ورزش هوازی تولید و رهایش IGF-1 در جوندگان را افزایش می‌دهد که منجر به تشکیل رگ‌های خونی جدید می‌شود (۲۴). در مطالعه حاضر، IGF-1 پس ایتلا به بیماری آلزایمر کاهش یافت، اما با مصرف رزوراتول و فیستین همراه با تمرین هوازی، افزایش نشان داد. گزارش شده است که ورزش برداشت مغزی IGF-1 را افزایش می‌دهد؛ عاملی که تمایز نورونی سلول‌های اجدادی را افزایش می‌دهد و بیان ژن BDNF در هیپوکامپ را بالا می‌برد (۲۴). نتایج تحقیقات حیوانی نشان داده است

مقادیر APP گروه‌های مبتلا به آلزایمر ($P = ۰/۰۱۰$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد سالم داشت، اما در گروه‌های پیش‌آلزایمر + تمرین هوازی ($P = ۰/۰۱۰$)، آلزایمر + مکمل گیاهی ($P = ۰/۰۱۰$) و آلزایمر + تمرین هوازی + مکمل گیاهی ($P = ۰/۰۱۰$) نسبت به گروه مبتلا به آلزایمر کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P = ۰/۰۱۰$).

مقادیر عملکرد شناختی گروه‌های مبتلا به آلزایمر ($P = ۰/۰۱۰$) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد سالم نشان داد، اما در گروه‌های پیش‌آلزایمر + تمرین هوازی ($P = ۰/۰۱۰$)، آلزایمر + مکمل گیاهی ($P = ۰/۰۱۰$) و آلزایمر + تمرین هوازی + مکمل گیاهی ($P = ۰/۰۱۰$) نسبت به گروه مبتلا به آلزایمر افزایش معنی‌داری وجود داشت ($P = ۰/۰۱۰$) (جدول ۴).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن‌های ARC و IGF-1 نقش مهمی در نوروزن و اختلالات شناختی در موش‌های مبتلا به آلزایمر ایفا می‌کند. بیان ژن‌های ARC و IGF-1 در گروه موش‌های مبتلا به آلزایمر نسبت به سایر گروه‌ها به طور قابل توجهی کاهش یافت. علاوه بر این، انجام تمرینات هوازی و مصرف رزوراتول و فیستین، بیان ژن‌های ARC و IGF-1 را در مقایسه با گروه موش‌های مبتلا به آلزایمر افزایش داد. اثر هم‌افزایی و معنی‌دار ترکیبات تمرینات هوازی و رزوراتول و فیستین بر بیان ژن و الگوی رفتاری در گروه ترکیبات رزوراتول و فیستین + ورزش هوازی + آلزایمر نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که ترکیبات مؤثر مشتق شده از گیاهان و ماده فعال رزوراتول و فیستین، می‌تواند اختلالات شناختی را در موش‌های مبتلا به آلزایمر بهبود بخشد. در مطالعه حاضر اثر هم‌زمان ورزش هوازی و مصرف ترکیبات فعال زیستی خوراکی (رزوراتول با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، فیستین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرایی مسن مبتلا به آلزایمر مورد بررسی قرار گرفت. ناهنجاری‌های سیناپسی یکی از جنبه‌های اصلی بیماری آلزایمر است که با پیشرفت بیماری ظاهر می‌شود. نتایج تعداد زیادی از تحقیقات نشان داده است که تغییرات پاتولوژیک در مدارهای عصبی و سیناپس‌ها ممکن است پیوند مکانیکی بین آسیب‌شناسی تاو و β ایجاد کند (۱۷).

نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های مطالعات Palop و همکاران (۱۸)، شمسی‌پور و همکاران (۱۹) و قراری و همکاران (۲۰) همخوانی داشت. Palop و همکاران حساسیت سلول‌های گرانول دندانه‌دار را برای اختلال در بیان ARC در موش‌های تراریخته پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید انسانی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که کاهش ARC، منجر به کاهش عملکرد سیناپس و نقص‌های شناختی در موش‌های hAPP و احتمالاً در انسان‌های مبتلا به بیماری آلزایمر می‌شود (۱۸). نتایج تحقیق شمسی‌پور و همکاران نشان داد که استفاده هم‌زمان

بیماری آلزایمر مؤثر باشد. بنابراین، استفاده از رزوراترول و فستین توأم با تمرینات هوازی در شرایط سالمند مبتلا به آلزایمر توصیه می‌شود. با این وجود، انجام تحقیقات بیشتر و تکمیلی در این زمینه ضروری است.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از رساله دکتری تخصصی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) می‌باشد. بدین وسیله از همه عزیزانی که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

نقش نویسندگان

طراحی و ایده‌پردازی پروژه: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
جذب منابع مالی برای انجام پروژه: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
خدمات پشتیبانی و اجرایی و علمی پروژه: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
فراهم کردن تجهیزات و نمونه‌های پروژه: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
جمع‌آوری داده‌ها: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
تحلیل و تفسیر نتایج: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
خدمات تخصصی آمار: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
تنظیم دست‌نویس: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
ارزیابی تخصصی دست‌نویس از نظر مفاهیم علمی: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
تأیید دست‌نویس نهایی جهت ارسال به دفتر مجله: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان
مسئولیت حفظ یکپارچگی فرایند انجام مطالعه از آغاز تا انتشار و پاسخگویی به نظرات داوران: امیر جهانبخش، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان

منابع مالی

مطالعه حاضر برگرفته از رساله مقطع دکتری تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی- گرایش فیزیولوژی ورزشی با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1401.387، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) می‌باشد. تحقیق بدون حمایت مالی انجام گردید.

تعارض منافع

نویسندگان دارای تعارض منافع نمی‌باشند.

که ورزش از طریق افزایش برداشت IGF-1 گردش خونی به وسیله مغز از آسیب مغزی جلوگیری می‌کند. تمرین هوازی نورون‌زایی در هیپوکامپ را به احتمال زیاد از طریق تولید محیطی IGF-1 افزایش می‌دهد. همچنین، IGF-1 برای رگ‌زایی ناشی از ورزش در مغز ضروری است. IGF-1 ممکن است تشکیل رگ‌های خونی جدید را به طور غیر مستقیم از طریق VEGF القا کند (۲۵). علاوه بر این، گزارش شده است که IGF-1 و VEGF پس از ورزش هوازی افزایش می‌یابند که منجر به تشکیل رگ‌های خونی جدید در سالمندان می‌شود و در نهایت، IGF-1 اثرات BDNF را وساطت می‌کند (۲۶).

در پژوهش حاضر، مصرف رزوراترول و فستین همراه با ورزش هوازی، منجر به افزایش بیان ژن‌های ARC و IGF-1 در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر شد. نتایج نشان داد که مکمل فستین عملکرد شناختی و حافظه را در موش‌های مبتلا به آلزایمر به میزان زیادی افزایش داد. همچنین، نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که فستین با فعال کردن بیان ژن‌های ARC و IGF-1 در موش‌های مدل $\beta 1-42$ ، این مسیر مهم بقای عصبی را انجام می‌دهد. مکمل فستین، آپوپتوز و تخریب عصبی ناشی از آلومینیوم را در هیپوکامپ مغز موش بالغ کاهش داد (۲۷). نتایج نشان داد که فلاونوئیدهای پلی‌فنلی مانند فستین که از منابع گیاهی طبیعی استخراج می‌شوند، نقش مهمی در پیشگیری از اختلالات عصبی مرتبط با افزایش سن مانند بیماری آلزایمر دارند. رزوراترول نیز یک پلی‌فنول طبیعی استخراج شده از شراب قرمز، دارای عملکردهای ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کننده عصبی در شرایط آزمایشگاهی است (۳۰-۲۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف رزوراترول و فستین، باعث بهبود عملکرد شناختی و افزایش بیان ژن‌های ARC و IGF-1 در هیپوکامپ موش‌های مسن مبتلا به آلزایمر شد.

محدودیت‌ها

از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری سایر شاخص‌های مرتبط با عملکرد شناختی و نوروزن مغزی اشاره کرد. استفاده از روش‌های اندازه‌گیری متفاوت مانند Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و Western Blot در پژوهش‌های آینده پیشنهاد می‌گردد.

پیشنهادها

استفاده از رزوراترول و فستین توأم با تمرینات هوازی در شرایط سالمند مبتلا به آلزایمر توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که تمرین هوازی و مصرف رزوراترول و فستین هم به تنهایی و هم به طور سینرژیستی، می‌توانند در بهبود

References

- Vieweg J, Panzer S, Schaefer S. Effects of age simulation and age on motor sequence learning: Interaction of age-related cognitive and motor decline. Human Movement Science. 2023; 1; 87: 103025.
- Bacanoui MV, Danou M. New strategies to improve the quality of life for normal aging versus pathological aging. Journal of Clinical Medicine. 2022; 20; 11(14): 4207.
- Poirier G, Ohayon A, Juranville A, Mourey F, Gaveau J. Deterioration, compensation and motor control processes in healthy aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Geriatrics. 2021; 6(1): 33.
- Khaledi S, Ahmadi S. Amyloid Beta and Tau: From Physiology to Pathology in Alzheimer's Disease. Neurosci J Shefaye

- Khatam 2016; 4(4): 67-88. [In Persian].
5. Sehar U, Rawat P, Reddy AP, Kopel J, Reddy PH. Amyloid beta in aging and Alzheimer's disease. *International journal of molecular sciences*. 2022; 26; 23(21): 12924.
 6. Mandal PK, Roy RG, Samkaria A. Oxidative Stress: Glutathione and Its Potential to Protect Methionine-35 of A β Peptide from Oxidation. *Acs Omega*. 2022; 26; 7(31): 27052-61.
 7. Dorostkar MM, Zou C, Blazquez-Llorca L, Herms J. Analyzing dendritic spine pathology in Alzheimer's disease: problems and opportunities. *Acta Neuropathol*. 2015; 130(1): 1-19.
 8. Manocha GD, Floden AM, Rausch K, Kulas JA, McGregor BA, Rojanathammanee L, et al. APP regulates microglial phenotype in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 2016; 36(32): 8471-86.
 9. Zheng F, Luo Y, Wang H. Regulation of BDNF-mediated transcription of immediate early gene Arc by intracellular calcium and calmodulin. *Journal of neuroscience research*. 2009; 87(2): 380.
 10. Bramham CR, Worley PF, Moore MJ, et al. The immediate early gene Arc/Arg3.1: regulation, mechanisms, and function. *The Journal of Neuroscience* 2008; 1228(46): 11760-7.
 11. Wang Z, Tan L, Zong Y, Ma YH, Wang ZB, Wang HF, Tan L. sTREM2 and GFAP Mediated the Association of IGF-1 Signaling Biomarkers with Alzheimer's Disease Pathology. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2023 (Preprint): 1-7.
 12. Gaitán JM, Moon HY, Stremlau M, Dubal DB, Cook DB, Okonkwo OC, Van Praag H. Effects of aerobic exercise training on systemic biomarkers and cognition in late middle-aged adults at risk for Alzheimer's disease. *Frontiers in Endocrinology*. 2021; 20; 12: 660181.
 13. Yang L, Wang Y, Li Z, Wu X, Mei J, Zheng G. Brain targeted peptide-functionalized chitosan nanoparticles for resveratrol delivery: Impact on insulin resistance and gut microbiota in obesity-related Alzheimer's disease. *Carbohydrate Polymers*. 2023; 310: 120714.
 14. Mehrabi A, Gaeini A, Nouri R, Daryanoosh F. The effect of six-week HIIT swimming exercise and Resveratrol supplementation on the level of SIRT3 in frontal lobe of aged rats. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2021; 10; 9(2): 48-59.
 15. Ahmad A, Ali T, Park HY, Badshah H, Rehman SU, Kim MO. Neuroprotective effect of fisetin against amyloid-beta-induced cognitive/synaptic dysfunction, neuroinflammation, and neurodegeneration in adult mice. *Molecular Neurobiology*. 2017; 54(3): 2269-85.
 16. Elsallabi O, Patruno A, Pesce M, Cataldi A, Carradori S, Gallorini M. Fisetin as a senotherapeutic agent: biopharmaceutical properties and crosstalk between cell senescence and neuroprotection. *Molecules*. 2022; 23; 27(3): 738.
 17. Mizui T, Ishikawa Y, Kumanogoh H, Lume M, Matsumoto T, Hara T, et al. BDNF pro-peptide actions facilitate hippocampal LTD and are altered by the common BDNF polymorphism Val66Met. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(23): E3067-74
 18. Palop JJ, Chin J, Bien-Ly N, Massaro C, Yeung BZ, Yu GQ, Mucke L. Vulnerability of dentate granule cells to disruption of arc expression in human amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci Res*. 2005;19; 25(42): 9686-93
 19. Shamsipour S, Sharifi G, Taghian F. Impact of interval training with probiotic (*L. plantarum*/Bifidobacterium bifidum) on passive avoidance test, ChAT and BDNF in the hippocampus of rats with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2021; 21; 756: 135949
 20. Qarari R, Saqib Jo M, Hedayati M, Fathi, R. The effect of aerobic exercise and omega-3 consumption on brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus of male Alzheimer's rats treated with homocysteine. *Sci J Kurdistan Uni Med Sci*. 2016; 10; 21(2): 53-64
 21. Leung HW, Foo G, VanDongen A. Arc regulates transcription of genes for plasticity, excitability and Alzheimer's disease. *Biomedicines*. 2022; 11; 10(8): 1946.
 22. Kaushik M, Kaushik P, Parvez S. Memory related molecular signatures: The pivots for memory consolidation and Alzheimer's related memory decline. *Ageing Res Rev*. 2022; 29: 101577.
 23. López-Ortiz S, Lista S, Valenzuela PL, Pinto-Fraga J, Carmona R, Caraci F, Caruso G, Toschi N, Emanuele E, Gabelle A, Nisticò R. Effects of physical activity and exercise interventions on Alzheimer's disease: an umbrella review of existing meta-analyses. *J Neurol*. 2023; 270(2): 711-25
 24. Arnarson A, Gudny Geirsdóttir O, Ramel A, Jonsson PV, Thorsdóttir I. Insulin-like growth factor-1 and resistance exercise in community dwelling old adults. *The Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2015; 19(8): 856-60
 25. Farooqui T, Farooqui AA. Diet and exercise in cognitive function and neurological diseases. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2015.
 26. Maass A, Düzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *NeuroImage*. 2016; 131: 142-54.
 27. Duzel E, van Praag H, Sendtner M. Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? *Brain*. 2016; 139(3): 662-73.
 28. Bhalla S, Mehan S, Khan A, Rehman MU. Protective role of IGF-1 and GLP-1 signaling activation in neurological dysfunctions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2022: 104896.
 29. Ahmad A, Ali T, Park HY, Badshah H, Rehman SU, Kim MO. Neuroprotective effect of fisetin against amyloid-beta-induced cognitive/synaptic dysfunction, neuroinflammation, and neurodegeneration in adult mice. *Molecular neurobiology*. 2017; 54: 2269-85.
 30. Tosatti JA, Fontes AF, Caramelli P, Gomes KB. Effects of resveratrol supplementation on the cognitive function of patients with Alzheimer's disease: a systematic review of randomized controlled trials. *Drugs & Aging*. 2022; 39(4): 285-95.

The Effect of Eight Weeks of Taking a Combined Supplement with Aerobic Exercise on Hippocampal ARC and IGF-1 Gene Expression and Cognitive Performance in Rats with Alzheimer's Diseases: An Experimental Study

Amir Jahanbakhsh¹  , Khosro Jalali-Dehkordi²  ,
Farzaneh Taghian³  

Abstract

Original Article

Introduction: ARC and IGF-1 are important molecular markers for brain neurogenesis, which are significantly reduced in brain tissue in various conditions such as Alzheimer's. The aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of consuming combined supplement in conjunction with aerobic exercise on hippocampal ARC and IGF-1 gene expression and cognitive function in elderly rats with Alzheimer's disease.

Materials and Methods: In this experimental study, 25 male c57 mice with Alzheimer's (age: 14-16 weeks, weight: 30-35 grams), were randomly divided into healthy control groups, Alzheimer's, Alzheimer's + aerobic exercise, Alzheimer's + combined supplement, Alzheimer's + aerobic exercise + combined supplement. Alzheimer's induction was performed by injecting amyloid beta-42 (A β 1) into the hippocampus. The aerobic exercise protocol was five days per week for eight weeks before and after Alzheimer's induction. Kibi's supplement of resveratrol with a concentration of 25 mg/kg and fisetin with a concentration of 20 mg/kg was used for eight weeks. To analyze the data, one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used at a significance level of 0.05.

Results: Alzheimer's induction caused a significant decrease in the expression of ARC and IGF-1 gene ($P = 0.001$), a significant increase in the expression of the APP gene in the hippocampus ($P = 0.001$) and a significant decrease in the cognitive function of the hippocampus ($P = 0.001$). Aerobic exercise and combined supplement use separately and simultaneously caused significant improvement of all the above changes ($P = 0.001$).

Conclusion: It seems that aerobic exercise and taking a combined supplement can probably help to increase brain neurogenesis and improve cognitive function in elderly people with Alzheimer's through increasing the expression of ARC and IGF-1 in the hippocampus.

Keywords: Aerobic exercise; APP; ARC; IGF-1; Alzheimer

Citation: Jahanbakhsh A, Jalali-Dehkordi K, Taghian F. **The Effect of Eight Weeks of Taking a Combined Supplement with Aerobic Exercise on Hippocampal ARC and IGF-1 Gene Expression and Cognitive Performance in Rats with Alzheimer's Diseases: An Experimental Study.** J Res Rehabil Sci 2023; 19.

Received date: 30.01.2023

Accept date: 11.03.2023

Published: 04.04.2023

1- PhD Student, Department of Exercise Physiology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Professor, Department of Exercise Physiology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Khosro Jalali-Dehkordi; Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran; Email: khosrojalali@iau.ac.ir