

Research Paper

The Effect of Four Weeks of Aerobic Training with Naringenin Supplementation on Hippocampal Adiponectin Levels and Memory Impairment in Rats with Alzheimer's Disease Induced by Amyloid beta Injection

Sh.Dibae¹ , M. Salehpour², Gh. Ashabi³

1-Master of Sport Physiology,, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Science, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor of Sport Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Science, Shahid Rajaee Teacher Training University, Tehran, Iran (Corresponding author)

3- Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 2021/01/05

Accepted: 2021/11/27

Abstract

Alzheimer's disease is the most common form of dementia. Despite the lack of definitive treatment for this disease, exercise and flavonoid use have been suggested as possible non-pharmacological approaches to reduce the risk of Alzheimer's disease. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the effect of four weeks of aerobic exercise with Naringenin supplementation on hippocampal adiponectin levels and memory impairment in rats with Alzheimer's disease, induced by A β 1-42 injection. For this purpose, 32 eight-week-old male rats (weight 232 \pm 26 gr) were randomly divided into four groups: Alzheimer's disease (AD), AD + aerobic exercise group (ADET), AD + Naringenin supplementation group (AND), and AD + aerobic exercise + Naringenin supplementation group (ADETN). AD was induced by injection of A β 1-42 into the hippocampus. 10 days after surgery, aerobic exercise interventions (five times a week for four weeks) and / or Naringenin supplementation (80 mg.kg⁻¹.day⁻¹) were started. Then, the animals were subjected to behavioral tests. 48 hours after last session of exercise training, animals were anesthetized and hippocampus were removed. Western Blotting analysis was used to measure Adiponectin protein levels. The results showed that learning and spatial memory performance in ADET, ADN and ADETN groups improved significantly compared to AD group ($p < 0.001$). Also hippocampal adiponectin levels in ADET, ADN and ADETN groups increased significantly compared to AD group ($p < 0.001$). In addition, rats in the ADET group showed better spatial memory function and higher hippocampal adiponectin levels compared to the ADET and ADN groups ($p < 0.05$). In general, our data suggested that both aerobic exercise and Naringenin supplementation improved learning and spatial memory in rats with Alzheimer's disease, possibly by modulating hippocampal adiponectin levels. In addition, the combination of these factors had more effect on improving memory.

Keywords: Alzheimer's disease; Aerobic training; Naringin; Adiponectin; Cognitive function

1. Email: shima.dibae@yahoo.com

2. Email: Salehpour@sru.ac.ir

3. Email: gh-ashabi@tums.ac.ir



Extended Abstract

Background and purpose

Evidence suggests that metabolic disorders and inflammation may play an important role in pathogenesis of Alzheimer's disease (1) due to the fact that adiponectin indirectly affects Alzheimer's pathogenesis by increasing insulin sensitivity, anti-inflammatory, anti-apoptotic and antibacterial effects, as well as increasing neurogenesis in the hippocampus and boosting metabolism of A β and Tau Proteins, can be an important subject for study. On the other hand, both physical activity and Naringenin supplementation in the absence of conclusive remedy, seems to be reasonably available treatment for Alzheimer's disease (2). As we mentioned above and lack of the information about concurrent effect of Naringenin supplementation and aerobic training, the present study intends to investigate the effect of four weeks aerobic training and Naringenin supplementation on hippocampal adiponectin levels and memory performance in amyloid beta-induced Alzheimer's disease in rats.

Materials and Methods

The 32 experimental subjects in our study were eight weeks old "Wistar" rats. After adaptation to the laboratory environment, rats conditioning with treadmill exercises for one week. Then, Alzheimer's disease was induced by intra-hippocampal injection of A β 42 in rats. The rats were randomly divided into four groups: Alzheimer's disease group (n = 8; AD), Alzheimer's disease + aerobic exercise group (n = 8; ADET), Alzheimer's disease + Naringenin Supplementation group (n = 8; ADN) and Alzheimer's disease + aerobic exercise + Naringenin Supplementation group (n= 8; ADETN). After 10 days of Alzheimer's induction, exercise intervention and Naringenin supplementation began. All of them were exercised on the treadmill at 0° elevation, 5 d.wk⁻¹ for four weeks. In the first and second weeks, the treadmill speed was 10 m.min⁻¹, which was performed in two 15-minute trials with a five-minute rest between them. In the third week, the speed was increased to 15 m.min⁻¹, which was done in three 15-minute trials with two five-minute rest between them. In the fourth week, the rats exercised at 15 m.min⁻¹ in four 15-minute trials with three five-minute rest between them (3). The animals underwent the Morris Water Maze Behavioral Test 24 hours after the last training session and supplementation with Naringenin. 24 hours after the behavioral test, all rats were anesthetized, Brains were rapidly dissected out, then, The hippocampus was isolated from the rest of the brain tissue and frozen in liquid nitrogen. Adiponectin levels were analyzed by western blot method. A one-way analysis of variance (ANOVA) and post hoc test (Tukey) in



significance set at the level $p < 0.05$ was performed to determine differences among the groups.

Findings

To evaluate the success of induction in Alzheimer's disease model, 14 (out-of-study) rats (seven rats with intra-hippocampal injection of $A\beta_{42}$ and seven rats as healthy controls) accomplished behavioral tests, ten days after injection and findings indicate that there was a significant decrease in learning and spatial memory of experimental animals compared to the control group ($P < 0.001$) and confirmed the Alzheimer's disease model. There wasn't significant difference between all groups in visible platform test ($P < 0.05$). The results of analysis of variance with repeated measures showed the significance of day ($P < 0.001$, $F = 233.616$), group ($P < 0.001$, $F = 68.333$) and also the interaction of two independent variables of day and group ($P > 0.001$, $F = 8.414$) was the time spent to find the platform. The results of one-way analysis of variance test showed that between the time elapsed to find the platform in different groups on the second day ($P < 0.001$, $F = 65.601$), third day ($P < 0.001$, $F = 37.424$) and fourth day ($P < 0.001$, $F = 61.054$), there is statistically significant difference. The time spent to find the platform in the AD group on the second to fourth days was significantly longer than the other groups ($P \leq 0.001$). No significant difference was observed between ADET, ADN and ADETN groups ($P < 0.05$). The results of the probe test to evaluate the spatial memory of rats showed that the time which spent in the quadrant of the target circle was significantly different in all groups ($P \leq 0.001$, $F = 95.773$). The time spent in the quadrant of the target circle in the AD group was significantly shorter than the other groups ($p \leq 0.001$). Also, ADETN group had significantly better performance in memory test compared to ADET and ADN groups ($P \leq 0.001$). The results of one-way analysis of variance showed that there was a statistically significant difference between hippocampal adiponectin levels in different groups ($P \leq 0.001$, $F = 158.626$). Hippocampal adiponectin levels were significantly higher in ADN, ADET and ADETN groups compared to AD group ($P \leq 0.001$). Also, ADETN group showed higher adiponectin levels compared to ADET ($P \leq 0.05$) and ADN ($P \leq 0.001$) groups. In addition, hippocampal adiponectin levels in the ADET group were significantly higher than the DNA group ($P \leq 0.001$).

Conclusion

The present study showed that exercise was associated with increased adiponectin protein levels in the hippocampus of rats with Alzheimer's disease. Regulation of brain adiponectin levels seems to be one of the most important mechanisms of exercise to



exert its beneficial effects on the brain. However, the relevance between adiponectin and Alzheimer's disease is not yet fully understood and more studies are needed to carry out for better comprehensions. The results of the present study suggest that both aerobic exercise and Naringenin supplementation may improve spatial learning and memory in rats with Alzheimer's disease by modulating hippocampal adiponectin levels. Furthermore, the combination of these two factors has a double effect on improving memory, which can be considered as an effective solution to Alzheimer's disease.

Article Message

Due to aging and elderly in the community and the prevalence of Alzheimer's disease, exercise and the use of antioxidant supplements such as Naringenin can increase the amount of adiponectin as a protein that plays an important role in cognitive factors and Alzheimer's disease to prevent the disease and control its destructive effects partially.

Keywords

Alzheimer; Aerobic Exercise; Naringenin; Adiponectin; Cognitive function

References

1. Cai H, Cong W-n, Ji S, Rothman S, Maudsley S, Martin B. Metabolic dysfunction in Alzheimer's disease and related neurodegenerative disorders. *Curr Alzheimer Res.* 2012;9(1):5-17.
2. Gregory JM, Muldowney JA, Engelhardt BG, Tyree R, Marks-Shulman P, Silver HJ, et al. Aerobic exercise training improves hepatic and muscle insulin sensitivity, but reduces splanchnic glucose uptake in obese humans with type 2 diabetes. *Nutr Diabetes.* 2019;9(1):1-12.
3. Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation : behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiol Dis.* 2012;45(3):1153-62.



تأثیر چهار هفته تمرین هوازی همراه با مکمل گیری نارنژین بر سطح آدیپونکتین هیپوکمپ و عملکرد حافظه رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر القا شده با تزریق آمیلوئیدبتا

شیما دیبایی^۱، مجتبی صالح پور^۲، قربانگل اصحابی^۳

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران

۲- استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

۳- استادیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۶

چکیده

بیماری آلزایمر شایع‌ترین شکل زوال عقل است. با وجود نبود درمان قطعی برای این بیماری، انجام دادن فعالیت ورزشی و مصرف فلاونوئیدها به‌عنوان نگرش‌های غیردارویی محتمل برای کاهش خطر بیماری آلزایمر مطرح شده است؛ بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی همراه با مکمل گیری نارنژین بر سطح آدیپونکتین هیپوکمپی و اختلال حافظه در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر القا شده با تزریق $A\beta_{1-42}$ انجام شد؛ بر این اساس، ۳۲ سر رت نر هشت‌هفته‌ای با میانگین وزن $26 \pm$ گرم به صورت تصادفی به چهار گروه بیماری آلزایمر (AD)، گروه AD + تمرین هوازی (ADET)، گروه AD + مکمل گیری نارنژین (ADN) و گروه AD + تمرین هوازی + مکمل گیری نارنژین (ADETN) تقسیم شدند. القای AD از طریق تزریق $A\beta_{1-42}$ به درون هیپوکمپ صورت پذیرفت. ده روز پس از جراحی، مداخله‌های تمرین هوازی (پنج روز در هفته به مدت چهار هفته) و/یا مکمل دهی نارنژین به روش گاواژ (با دوز ۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت روزانه) شروع شد. سپس از حیوانات آزمون رفتاری گرفته شد. چهل و هشت ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین حیوانات بی‌هوش شدند و بافت هیپوکمپ برداشته شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین آدیپونکتین از روش وسترن بلات استفاده شد. نتایج نشان داد که عملکرد یادگیری و حافظه فضایی در گروه‌های ADET، ADN و ADETN در مقایسه با گروه AD به‌طور معناداری بهبود یافت ($P < 0.001$). میزان آدیپونکتین هیپوکمپ در گروه‌های ADET، ADN و ADETN در مقایسه با گروه AD به‌طور معناداری افزایش یافت ($P < 0.001$). به‌علاوه، رت‌های گروه ADETN عملکرد حافظه فضایی بهتر و میزان آدیپونکتین هیپوکمپی بیشتری در مقایسه با گروه‌های ADET و ADN داشتند ($P < 0.05$). به‌طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد هم تمرین هوازی و هم مکمل دهی نارنژین احتمالاً از طریق تعدیل میزان آدیپونکتین هیپوکمپ موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر می‌شوند. به‌علاوه، ترکیب این عوامل با یکدیگر اثر بیشتری بر بهبود حافظه دارد.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، تمرین هوازی، نارنژین، آدیپونکتین، عملکرد شناختی.

1. Email: shima.dibae@yahoo.com

2. Email: Salehpour@sru.ac.ir

3. Email: gh-ashabi@tums.ac.ir



مقدمه

بیماری آلزایمر بیماری تخریب عصبی مزمن همراه با کاهش آهسته و پیش‌رونده حافظه است و نیز از شایع‌ترین علل زوال عقل^۱ (دمانس) در بزرگسالان است. این بیماری از لحاظ بالینی به‌وسیله اختلال شناخت و افت حافظه مشخص می‌شود. در بیماری آلزایمر نواحی از مغز شامل هیپوکمپ، قاعده مغز قدامی و قشر مغز که به حافظه و یادگیری مربوط هستند، بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱). بیماری آلزایمر با دو آسیب عمده شناسایی می‌شود: پلاک‌های پیری خارج‌سلولی که به‌طور غالب از پپتیدهای آمیلوئیدبتا تشکیل شده‌اند و کلاف‌های عصبی که از تجمع رشته‌ای پروتئین تائوی هاپیروفسفریله تشکیل شده‌اند. افزایش رسوب پپتید آمیلوئیدبتا به‌عنوان رخداد ابتدایی در پاتوژنز بیماری آلزایمر بررسی می‌شود که موجب کاهش شمار سلول‌های عصبی و سیناپس‌ها می‌شود (۲). پپتیدهای آمیلوئیدبتا مولکول‌های کلیدی در بیماری‌زایی آلزایمر به شمار می‌روند. در بیماری آلزایمر میزان تجمع پپتیدهای آمیلوئیدبتای مغزی (عمدتاً $A\beta_{40}$ و $A\beta_{42}$) تسریع می‌یابد و موجب به‌وجود آمدن تجمعات سمی اندازه‌های متفاوتی از لیگومرهای محلول تا پلاک‌های نامحلول می‌شود (۳). به احتمال زیاد رسوب $A\beta$ در مغز به‌عنوان پلاک‌های پیری و افزایش التهاب، آبخاری از رویدادها را آغاز می‌کند که موجب شروع بیماری آلزایمر می‌شود (۴). التهاب یکی از مهم‌ترین پیامدها یا دلایل بیماری آلزایمر است که به‌تازگی توجه زیادی به آن است.

اطلاعات چند سال اخیر نشان می‌دهند که آدیپونکتین^۲، آدیپوسایتوکاینی است که موجب افزایش حساسیت به انسولین می‌شود و التهاب را سرکوب می‌کند (۵). نشان داده شده است که آدیپونکتین در برابر سمیت سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو تحت سمیت $A\beta$ در شرایط آزمایشگاهی به‌عنوان محافظت‌کننده عصبی عمل می‌کند. فرض بر این است که هیپوآدیپونکتینمی ممکن است به تجمع $A\beta$ منجر شود که می‌تواند به تخریب عصبی منجر شود. گزارش شده است که موش‌های مسن با کمبود آدیپونکتین مزمن، در موقعیت ترس، کاهش حافظه، اختلال در یادگیری مکانی، افزایش اضطراب و اختلال عملکرد دارند (۶). آدیپونکتین به‌دلیل اثرات محافظتی قوی که هم بر سیستم عصبی مرکزی و هم بر بافت محیطی دارد، هدف درمانی برای درمان سندرم‌های متابولیک در نظر گرفته شده است. درحقیقت، اختلال در عملکرد بافت چربی بیماری آلزایمر را از طریق تغییر ترشح آدیپونکتین متأثر می‌کند. نشان داده شده است که اختلال در عملکرد بافت چربی ناشی از چاقی با نبود تعادل بین مصرف انرژی و هزینه انرژی مشخص می‌شود. متعاقب آن فراخوانی ماکروفاژهای $M1^4$ ، با افزایش نسبت $M1$ به $M2$ ، اختلال در آدیپوژنز (سلول‌های چربی زرد و کوچک)، افزایش هایپرتروفی سلول‌های چربی و آپوپتوز (سلول‌های چربی سیاه و کوچک)، اختلال در رگ‌زایی با هیپوکسی متعاقب و رسوب

1. Dementia
2. Amyloid Beta 40, 42
3. Adiponectin
4. M1 Macrophage



بيش از حد پروتئين هاي ماتريکس خارج سلولي به تدریج رخ می دهند. این تغییرات در سیستم ایمنی، عروقی و ترکیب ساختاری بافت چربی به نوبه خود به ترشح تغییر آدیپوکاين ها از جمله کاهش تولید آدیپونکتين منجر می شود؛ بنابراین اثرات مفید محیطی و مرکزی این آدیپوکاين مختل می شود. ویژگی های افزایش حساسیت به انسولین، ضدالتهابی، ضدآپوتوزی و آنتی باکتریال آدیپونکتين به طور غیرمستقیم و افزایش نورون زایی در هیپوکمپ و بهبود متابولیسم AB و پروتئين تائو ناشی از آن می تواند به صورت مستقیم بر بیماری زایی آلزایمر تأثیر بگذارد (۷-۹). نشان داده شده است که آدیپونکتين باعث بهبود بیماری عصبی در مدل های حیوانی از جمله بیماری آلزایمر می شود (۵، ۱۰)؛ با این حال، در تناقض با این گزارش ها نشان داده شده است که افزایش سطح آدیپونکتين پلاسمایی با بار آمیلوئیدی و میزان اختلال شناختی در سالمندان مرتبط است (۱۱). با توجه به ویژگی های افزایش حساسیت انسولین، ضدالتهابی، ضدآپوتوزی و غیره این پروتئين، پژوهشگران به دنبال افزایش مقادیر آدیپونکتين به صورت خوراکی یا دارویی هستند، اما آدیپونکتين به دلیل ماهیت پروتئينی آن نمی تواند به صورت خوراکی تجویز شود. تزریق داخل وریدی پروتئين آدیپونکتين نو ترکیب می تواند محدودیت مصرف خوراکی آن را برطرف کند، اما درمان طولانی مدت تزریق پرهزینه است. اکتشاف عوامل دارویی یا تغییر شیوه زندگی برای افزایش بیان آدیپونکتين درون زا یا فعال کردن سیگنالینگ آدیپونکتين ممکن است راه را برای درمان آینده بیماری آلزایمر هموار کند. رشتیان و همکاران (۱۲) نشان دادند که آدیپونکتين از مسیر AMPK¹ تا حدودی سبب بهبود حافظه می شود. مدتی طولانی است که تأثیر انجام دادن فعالیت های بدنی بر عملکردهای مغز، بهبود علائم روان شناختی و تأخیر در پیشرفت بیماری های عصبی گزارش شده است. افزایش سطح آدیپونکتين محیطی و حمل آدیپونکتين در جوندگان و انسان با افزایش فعالیت بدنی گزارش شده است (۱۳)؛ با وجود این، در حال حاضر، هیچ درمان مؤثری برای بیماری آلزایمر که به عنوان وضعیت انحطاط عصبی با سازوکارهای متعدد پاتوفیزیولوژیک رخ می دهد، وجود ندارد؛ بنابراین شناسایی عوامل مداخله ای چندهدفی برای مقابله با بیماری آلزایمر ضروری به نظر می رسد. در همین راستا، تمرینات ورزشی و مداخلات تغذیه ای به عنوان مهم ترین عناصر سبک زندگی توجهی ویژه را به خود جلب کرده اند.

نارنژین^۲، (نارنژین-۷-O-گلوکوزید) پلی فنولی متعلق به فلاونوئیدهاست. نارنژین ممکن است به دو شکل آگلیکون (نارنژین) یا شکل گلیکوزیدی آن (نارنژین-۷-O-گلوکوزید یا نارنژین) یافت شود. گلیکوزیدهای نارنژین بسته به نوع قند آنها از طریق پیوند گلیکوزیدی در کربن شماره هفت به فلاونوئید متصل می شوند و توسط آنزیم های ویژه ای شکسته می شوند و سپس نارنژین (آگلیکون) آزاد می شود. در انسان آنزیمی به نام «نارنژیناز» که در کبد یافت می شود، به سرعت نارنژین را به نارینژین متابولیزه می کند (۱۴). نارنژین و نارنژین در سبزیجات، خشکبار و میوه های گوناگون یافت می شود که از آن جمله می توان به گریپ فروت، پرتقال ترش،

1. AMP-Activated Protein Kinase

2. Naringin



گیلاس ترش، گوجه فرنگی، کاکائو، پونه کوهی، نعنای، لوبیا و نوشیدنی‌هایی مانند قهوه، چای و همچنین به برخی گیاهان دارویی اشاره کرد (۱۵). نارنژین به‌خاطر داشتن اثرات دارویی، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است. از جمله این اثرات می‌توان به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، تعدیل عملکرد سیستم ایمنی، محافظت‌کننده کبد، محافظت‌کننده کلیه، محافظت‌کننده عصبی، ضدسرطانی، ضدآترواسکلروز و ضددیابتی نارنژین اشاره کرد (۱۶-۱۸). گزارش شده است که استفاده از نارنژین اختلال یادگیری و حافظه فضایی را در حیوانات آزمایشگاهی مبتلا به بیماری آلزایمر از طریق تنظیم مسیر $\text{PI3K/AKT/GSK-3}\beta$ ^۱ و کاهش فسفوریلاسیون بیش از حد پروتئین تائو و همچنین بهبود پیام‌رسانی انسولین مغز کاهش می‌دهد (۱۹). مکانیسم‌های داخل سلولی مسئول فعالیت ضدآپوپتوزی و اثرات محافظت‌کننده عصبی نارنژین با مهار کاسپاز سه، فعال‌سازی PI3K/AKT و تعدیل مسیرهای پیام‌رسانی $\text{GSK}\beta$ -3 در ارتباط است (۱۳). به‌تازگی نیز نشان داده شده است که نارنژین سبب کاهش وزن، کاهش لیپیدهای پلاسمایی و افزایش آدیپونکتین در بیماران دیس لیپیدمی^۲ می‌شود (۲۰). اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدآپوپتوزی و محافظت‌کننده عصبی نارنژین آن را به گزینه امیدوارکننده‌ای برای درمان بیماری آلزایمر تبدیل کرده است (۲۱).

از سوی دیگر، نشان داده شده است که ورزش منظم باعث افزایش عملکرد مغز می‌شود. ورزش جسمانی به‌خصوص ورزش هوازی به‌عنوان یک رژیم کم‌هزینه برای مقابله با زوال شناختی شامل مهارت‌های فضایی، دیداری، عملکرد اجرایی، حافظه و سرعت پردازش اطلاعات در پیری نرمال در نظر گرفته می‌شود. افزایش تحرک بدنی باعث افزایش فعالیت مغز به‌خصوص در ناحیه هیپوکمپ می‌شود که در واقع مرکز حافظه و یادگیری است؛ در نتیجه آثار ثانویه بیماری آلزایمر را کاهش می‌دهد. فعالیت ورزشی اثرات مفیدی بر سلامت مغز و عملکرد شناختی دارد و اثرات مخرب بیماری‌های عصبی از جمله آلزایمر، پارکینسون و افسردگی را کاهش می‌دهد (۲۲). آثار مثبت فعالیت ورزشی بر مغز بیشتر در نواحی هیپوکمپ و شکنج دندانه‌ای^۳ مشاهده می‌شود و شامل افزایش جریان خون و اندازه هیپوکمپ در انسان‌ها، تغییرات مورفولوژیک در دندریت و برآمدگی‌های دندریتی^۴، افزایش پلاستیسیته سیناپسی و نورون‌زایی در حیوانات با شیوه‌های مختلف فعالیت ورزشی است (۲۳). یکی از عناصر مهمی که اثرات مفید فعالیت ورزشی را بر مغز القا می‌کند، عوامل نوروتروفیک و به‌ویژه BDNF^۵ است. در مدل‌های حیوانی فعالیت ورزشی باعث افزایش بیان BDNF در مناطق مختلف مغز به‌ویژه هیپوکمپ می‌شود. شواهد نشان می‌دهند که یکی از مسیرهای سیگنالی افزایش بیان BDNF ناشی از فعالیت ورزشی اختیاری در نورون‌های هیپوکمپ، مسیر سیگنالی $\text{BDNF/PGC-1}\alpha/\text{FNDC5}$ ^۶ است (۲۴)؛ از این‌رو فعالیت جسمانی

1. Phosphoinositide 3-Kinase/ AKT/ Glycogen Synthase Kinase-3 Pathway

2. Dyslipidemia

3. Dentate Gyrus (DG)

4. Dendritic Spines

5. Brain-Derived Neurotrophic Factor

6. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Coactivator / Fibronectin Type III Domain-Containing 5/ Brain-



به عنوان روشی بی خطر، کم هزینه و مؤثر در پیشگیری و بهبود علائم بیماری آلزایمر مطرح است. به طور کلی، شواهد فراوانی نشان می دهند که اختلالات متابولیک و التهاب می توانند نقش مهمی در پاتوژنز بیماری آلزایمر داشته باشند (۲۵). همچنین آدیپونکتین با افزایش حساسیت به انسولین، اثرات ضدالتهابی، ضدآپوپتوزی و آنتی باکتریال خود به طور غیرمستقیم و همچنین با افزایش نورون زایی در هیپوکمپ و بهبود متابولیسم $\alpha\beta$ و پروتئین تائو ناشی از آن می تواند به صورت مستقیم بر بیماری زایی آلزایمر تأثیر بگذارد؛ بنابراین، این موضوع می تواند عامل مهمی برای مطالعه و بررسی باشد. از سوی دیگر، به نظر می رسد هم فعالیت جسمانی و هم مصرف نارنژین در غیاب درمان قطعی، روش های در دسترس معقولی برای مقابله با این بیماری هستند (۲۶)؛ بنابراین با توجه به موارد بیان شده و اطلاعات اندکی که در زمینه تأثیر هم زمان تمرین ورزشی و مصرف مکمل نارنژین بر بیماری آلزایمر موجود است، در مطالعه حاضر قصد بر آن است تأثیر چهار هفته تمرین هوازی همراه با مکمل گيري نارنژين بر سطح آديپونکتين، در هیپوکمپ و عملکرد حافظه در رت های مبتلا به بیماری آلزایمر القا شده با تزریق آمیلوئیدبتا بررسی شود.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. آزمودنی های پژوهش ۳۲ سر رت نر بالغ نژاد ویستار هشت هفته ای با میانگین وزنی 26 ± 232 گرم بودند که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. رت ها در دمای محیطی 3 ± 22 درجه سانتی گراد، رطوبت حدود ۴۵ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند؛ به طوری که در دسترسی به آب و غذای استاندارد محدودیتی نداشته باشند. بعد از یک هفته آشناسازی با محیط نگهداری، تمامی رت ها به منظور آشناسازی با نوارگردان به مدت یک هفته ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و سه روز در هفته به فعالیت پرداختند. سپس القای بیماری آلزایمر در رت ها صورت پذیرفت. به دنبال توسعه بیماری آلزایمر، حیوانات به روش تصادفی ساده به چهار گروه تقسیم شدند: گروه بیماری آلزایمر (تعداد = هشت: AD)، گروه بیماری آلزایمر + تمرین هوازی (تعداد = هشت: ADET)، گروه بیماری آلزایمر + مکمل گيري نارنژين (تعداد = هشت: ADN) و گروه بیماری آلزایمر + تمرین هوازی + مکمل گيري نارنژين (تعداد = هشت: ADETn).

القای بیماری آلزایمر از طریق تزریق داخل هیپوکمپی $A\beta_{42}$ انجام شد. به منظور آماده سازی آمیلوئیدبتا، ابتدا پپتید $A\beta_{42}$ (شرکت Abcam آلمان) در محلول بافر دی میتیل سولفید اکساید (DMSO) ۱ سه درصد (سیگمای آلمان) ۲ با غلظت پنج میکروگرم/میکرولیتر حل شد. سپس در مقادیر ۳۰ میکرولیتر به ازای هر ویال تقسیم شد و در دمای 80°C - نگهداری شد. محلول آمیلوئیدبتا به مدت هفت روز در دمای 37°C انکوبه شد تا

Derived Neurotrophic Factor Signaling Pathway

1. Dimethyl Sulfoxide
2. Sigma Aldrich Germany



Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International Public License

بتا آمیلوئید به شکل فیبریل درآید (۲۷).

حیوانات از طریق تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (۹۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس سر حیوانات در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و با ایجاد شکافی طولی در بخش خلفی جمجمه، براساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۲۸)، حفره‌هایی در موقعیت ۳/۸ عقب برگما، ۲/۲ میلی‌متر در طرفین شکاف طولی و ۲/۷ میلی‌متر پایین‌تر از سطح جمجمه ایجاد شد. سپس تزریق درون هیپوکمپ $A\beta_{1-42}$ (هر طرف یک میکرولیتر) توسط سرنگ همیلتون به صورت آهسته در مدت پنج دقیقه صورت گرفت.

ده روز بعد از جراحی و توسعه علائم بیماری آلزایمر، مداخلات ورزشی و/یا مکمل‌دهی نارنژین بین ساعت هشت تا دوازده اجرا شد. پروتکل تمرین هوازی به این صورت بود که رت‌ها روی نوارگردان با شیب صفر درجه، پنج روز در هفته به مدت چهار هفته تمرین کردند. سرعت نوارگردان در هفته‌های اول و دوم تمرین ۱۰ متر بر دقیقه بود که در دو نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه پنج دقیقه‌ای بین آن (به منظور جلوگیری از خستگی عضلانی در رت‌ها) اجرا شد. در هفته سوم، سرعت به ۱۵ متر بر دقیقه افزایش یافت که در سه نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با دو وقفه پنج دقیقه‌ای بین آن‌ها انجام شد. در هفته چهارم، رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در چهار نوبت ۱۵ دقیقه‌ای با سه وقفه پنج دقیقه‌ای بین آن‌ها فعالیت کردند (۲۹). رت‌های گروه تمرین در تمام جلسات تمرینی پیش می‌شدند و با استفاده از یک شوک الکتریکی ضعیف با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر که در حیوان استرس زیادی ایجاد نمی‌کند یا دستکاری با یک اسفنج، به ادامه دویدن تشویق شدند.

از آب مقطر به عنوان حلال نارنژین (شرکت سیگمای آلمان) استفاده شد. مکمل‌دهی نارنژین با دوز ۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن از طریق گاواژ به صورت روزانه صورت گرفت (۳۰). همچنین حیوانات گروه‌های دیگر، روزانه آب مقطر را به صورت گاواژ دریافت می‌کردند.

برای حیوانات ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و مکمل‌دهی نارنژین آزمون رفتاری اجرا شد. برای آزمون حافظه فضایی از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. روش آموزش ماز آبی موریس برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی بدین صورت بود:

الف- سازش یافتن: به منظور عادت کردن به ماز، ۲۴ ساعت قبل از آموزش، رت‌ها به مدت دو دقیقه در مخزن فاقد صفحه پلکسی گلاس شنا کردند؛

ب- مرحله یادگیری: در این مرحله رت‌های هر شش گروه به مدت چهار روز متوالی و هر روز در چهار کارآزمایی جداگانه برای یافتن سکوی پنهان که در وسط ربع سوم (جنوب شرقی) قرار داشت، آموزش داده شدند. در شروع هر کارآزمایی ابتدا به هر رت به مدت ۱۵-۲۰ ثانیه اجازه استقرار روی سکو داده می‌شد تا حیوان فرصت داشته باشد با رؤیت علایمی از قبیل پنجره، میز و قفسه، توصیفی فضایی از محیط اطراف ماز به دست آورد. سپس حیوان به طور تصادفی از یکی از چهار جهت اصلی (شمال، جنوب، شرق و غرب) به نحوی داخل آب



رها می شد که سر حیوان به سمت دیواره حوضچه قرار گیرد. در این حالت حیوان شنا می کرد تا سکوی پنهان زیر آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد. در صورتی که رت قادر به پیدا کردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود، با دست به طرف آن هدایت می شد. پس از پیدا کردن سکو، به حیوان اجازه داده می شد به مدت ۲۰ ثانیه روی آن باقی بماند. مدت زمان پیدا کردن سکو (تأخیر در رسیدن به سکو) در هر بار آموزش اندازه گیری و ثبت می شد. پس از آخرین کارآزمایی آموزش در هر روز، حیوان از حوضچه خارج می شد، با حوله خشک شد و به قفس خود بازگردانده می شد.

آزمون پروب (انتقال): یک روز بعد از آخرین روز آموزش، حافظه فضایی حیوانات ارزیابی شد. در این مرحله، رت ها در آزمونی ۶۰ ثانیه ای که در طی آن سکو از داخل آب برداشته می شد، ارزیابی شدند و مدت زمان صرف شده در ربع دایره هدف که قبلاً سکو در آن قرار داشت، اندازه گیری شد.

آزمون سکوی آشکار: به منظور بررسی هماهنگی حسی-حرکتی و انگیزه حیوان، پس از انجام شدن آزمون پروب، سکو توسط یک صفحه سفید رنگ مرئی شد و هم سطح با آب قرار گرفت تا به صورت واضح دیده شود. این سکو در وسط ربع دوم (منطقه شمال شرقی) قرار داشت و هر رت در چهار کارآزمایی به طور تصادفی از چهار جهت اصلی به داخل آب رها شد. سپس حیوان شنا می کرد تا سکوی سفید رنگ هم سطح آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد. مدت زمان پیدا کردن سکو در هر بار آزمون اندازه گیری می شد. در صورتی که حیوان در این چهار کارآزمایی قادر به پیدا کردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود، از گروه خود حذف می شد (۳۱).

بیست و چهار ساعت پس از آزمون رفتاری، تمامی رت ها از طریق قرار گرفتن در ظرف حاوی کلروفورم بی هوش شدند. بلافاصله پس از آن، سر حیوان توسط دستگاه گیوتین جدا شد و مغز به طور کامل خارج شد. سپس با احتیاط هیپوکمپ روی یخ از بقیه بافت مغز جدا شد و در نیتروژن مایع منجمد شد. اندازه گیری سطوح آدیپونکتین با روش وسترن بلات صورت گرفت. به طور خلاصه، نمونه ها در بافر (RIPA) (Cell Signaling) حاوی مهارکننده های پروتئاز (Sigma Aldrich) لیز شدند. غلظت پروتئین به روش برادفورد اندازه گیری شد. مقدار ۳۰ میکروگرم پروتئین از هر نمونه روی چاهک های ژل پلی اکریلامید (SDS-PAGE) (۱۰^۲) درصد بارگذاری شد و به غشاهای پلیوینیلیدین دیفلوئورید (PVDF) منتقل شد. به دنبال بلوکه کردن در کیت ECL[®] (Amersham Bioscience, USA)، غشاها به مدت یک شب در دمای چهار درجه سانتی گراد با یکی از آنتی بادی های اولیه آدیپونکتین (شرکت Abcam آلمان) با غلظت ۱:۱۰۰۰ یا بتا اکتین^۵ (شرکت Abcam آلمان) با غلظت ۱:۱۰۰۰ انکوبه شدند. پس از شست و شو، غشاها به مدت دو ساعت در دمای محیط

1. Radio-Immunoprecipitation Assay lysis Buffer
2. Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
3. Polyvinylidene Fluoride Membrane
4. Enhanced Chemiluminescence Detection Reagent
5. -Actin



با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه شده با HRP^۱ در محلول تریس بافر سالین توین^۲ (TBST) انکوبه شدند. باندهای پروتئینی منفرد با استفاده از نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شدند و داده‌ها نسبت به بتا اکتین نشان داده شدند. برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک^۳ استفاده شد. همچنین آزمون لون^۴ برای بررسی همسان بودن واریانس‌ها به کار رفت. به‌منظور تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده از شاخص یادگیری فضایی در مرحله اکتساب، از تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (گروه * روزهای یادگیری) و برای تحلیل داده‌های یادگیری فضایی هر روز به‌صورت جداگانه، حافظه فضایی در آزمون پروب و همچنین سطوح آدیپونکتین، از تحلیل واریانس یک‌طرفه و از آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $P \leq 0.05$ استفاده شد. شایان ذکر است همه مراحل پژوهش با رعایت دستورالعمل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و زیر نظر کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی انجام شد (کد اخلاق شماره IR.SSRC.REC.1398.087).

نتایج

برای بررسی موفق بودن القای مدل بیماری آلزایمر، ۱۴ سررت خارج از مطالعه (هفت سررت با تزریق داخل هیپوکمپی $AB\beta_{pp}$ و هفت سررت به‌عنوان کنترل سالم)، ۱۰ روز به‌دنبال تزریق تحت آزمون رفتاری قرار گرفتند. یافته‌ها حاکی از کاهش معنادار یادگیری و حافظه فضایی حیوانات بیمار در مقایسه با گروه کنترل ($P \leq 0.001$) و تأییدکننده مدل بیماری آلزایمر بود.

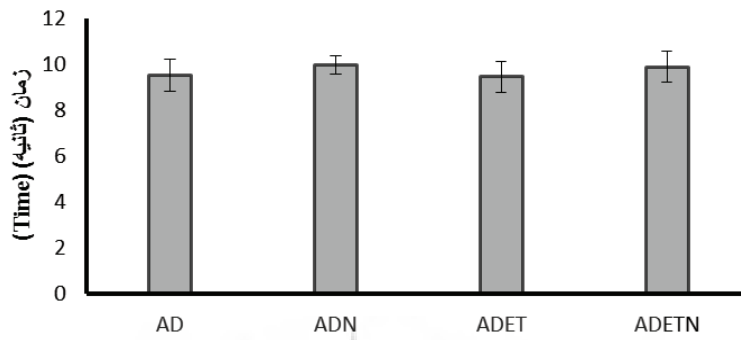
بین گروه‌های مطالعه‌شده، در اجرای آزمون سکوی آشکار تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (شکل شماره یک، قسمت‌های الف و ب). نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر نشان‌دهنده معنادار بودن روز ($F = 233.616, P < 0.001$)، گروه ($F = 68.333, P < 0.001$) و همچنین تعامل دو متغیر مستقل روز و گروه ($F = 8.414, P < 0.001$) بر زمان سپری‌شده برای یافتن سکو بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین زمان سپری‌شده برای یافتن سکو در گروه‌های مختلف در روز دوم ($F = 65.601, P < 0.001$)، روز سوم ($F = 37.424, P < 0.001$) و روز چهارم ($F = 61.054, P < 0.001$) تفاوت آماری معنادار وجود داشت. مدت زمان سپری‌شده برای یافتن سکو در گروه AD در روزهای دوم تا چهارم به‌طور معناداری بیشتر از گروه‌های دیگر بود ($P \leq 0.001$). بین گروه‌های ADET، ADN و ADET^N تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (شکل شماره یک، قسمت ج).

نتایج آزمون پروب برای بررسی حافظه فضایی رت‌ها نشان داد که زمان صرف‌شده در ربع دایره هدف برای گروه‌های مختلف به‌طور معناداری متفاوت بود ($F = 95.773, P \leq 0.001$). مدت زمان سپری‌شده در ربع دایره هدف در گروه AD به‌طور معناداری کمتر از گروه‌های دیگر بود ($p \leq 0.001$). همچنین گروه ADET^N

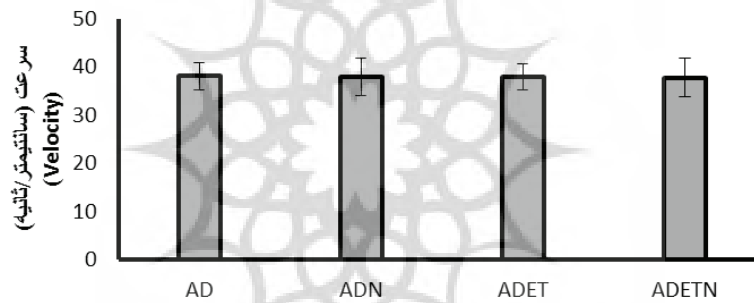
1. Horseradish Peroxidase
2. Tris-Buffered Saline Tween
3. Shapiro-Wilk
4. Leven



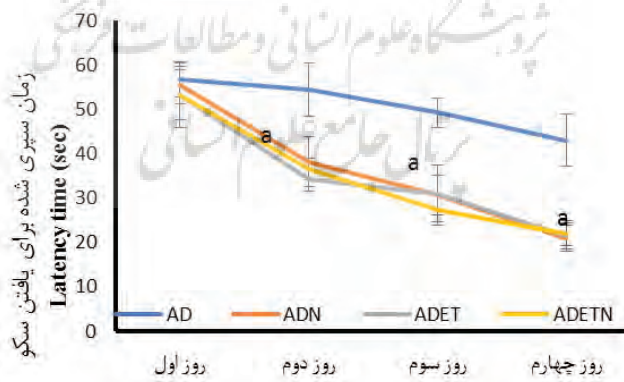
در مقایسه با گروه‌های ADET و ADN به‌طور معنادار عملکرد بهتری در آزمون حافظه داشتند ($P \leq 0.001$) (شکل شماره یک، قسمت د).



الف

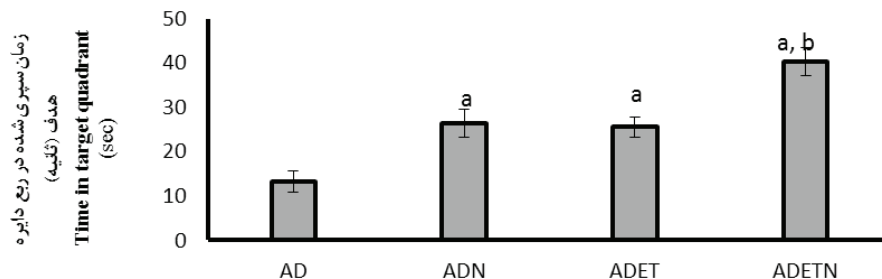


ب.



ج





د

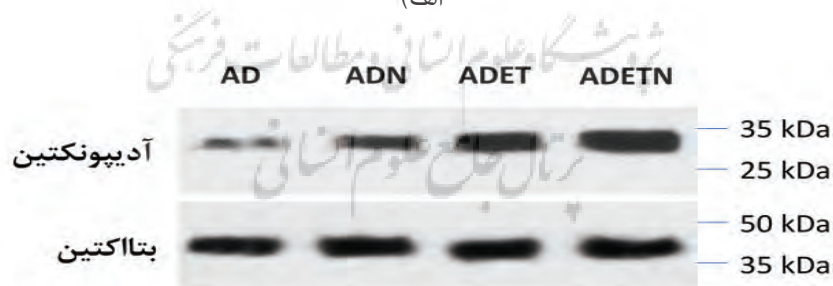
شکل ۱- الف. میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در آزمون سکوی آشکار، ب. میانگین سرعت در آزمون سکوی آشکار، ج. میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در مرحله یادگیری، د. مدت زمان سپری شده در ربع دایره هدف در آزمون پروب. $P \leq 0.001$ a:

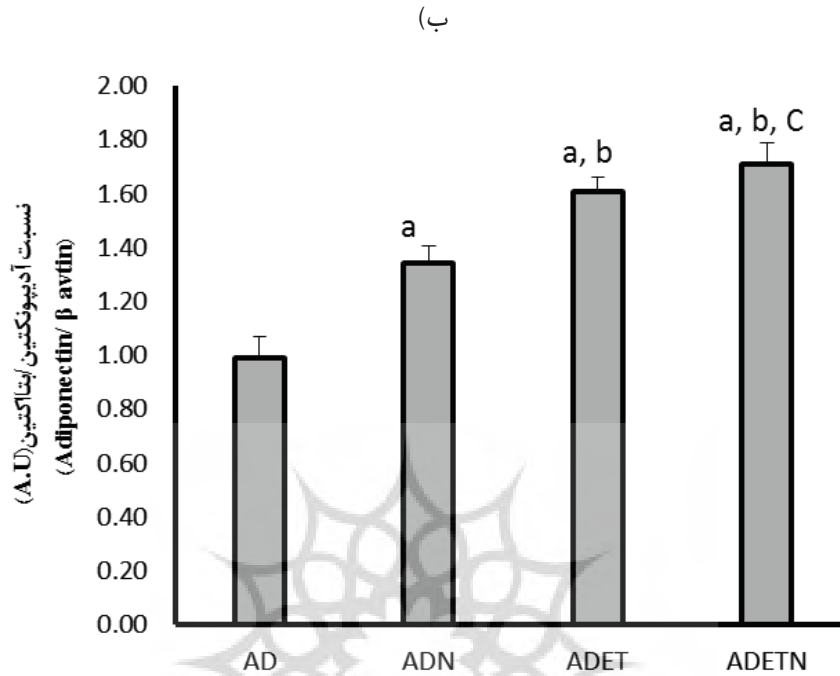
تفاوت معنادار با گروه‌های ADN و ADET $P \leq 0.001$ b:

Figure 1- a. The average time required to find the platform in the explicit platform test, b. The average speed in the explicit platform test, C. Latency time (sec) in the learning phase, D. Time in target quadrant in the probe test. a: $P \leq 0.001$ Significant difference with AD group, $P \leq 0.001$ Significant difference with ADN and ADET groups

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطوح آدیپونکتین هیپوکمپ در گروه‌های مختلف تفاوت آماری معناداری وجود داشت ($F=158.626$, $P \leq 0.001$)؛ به این صورت که سطح آدیپونکتین هیپوکمپ در گروه‌های ADN، ADET و ADETN در مقایسه با گروه AD به طور معناداری بالاتر بود ($P \leq 0.001$). همچنین گروه ADETN در مقایسه با گروه‌های ADET ($P \leq 0.05$) و ADN ($P \leq 0.001$) سطوح آدیپونکتین بالاتری را نشان داد. به علاوه، میزان آدیپونکتین هیپوکمپ در گروه ADET در مقایسه با گروه ADN به طور معناداری بیشتر بود ($P \leq 0.001$) (شکل شماره دو).

الف





شکل ۲- الف. بلات میزان آدیپونکتین در بافت هیپوکمپ. ب. میزان آدیپونکتین در بافت هیپوکمپ. a: $P \leq 0.001$ تفاوت معنادار با گروه AD. b: $P \leq 0.001$ تفاوت معنادار با گروه ADN. c: $P \leq 0.05$ تفاوت معنی دار با گروه ADET

Figure 2- a. Western blot images of adiponectin expression in hippocampal tissue, b. amounts of adiponectin in hippocampal tissue. a : $P \leq 0.001$ Significant difference with AD group, $P \leq 0.001$ Significant difference with ADN group, $P \leq 0.05$ Significant difference with ADET group

بحث و نتیجه گیری

بیماری آلزایمر شایع ترین شکل دمانس است که شیوع بالایی به ویژه در بین سالمندان دارد. با وجود نبود درمان قطعی برای این بیماری، انجام دادن فعالیت ورزشی و مصرف فلاونوئیدها به عنوان نگرش های غیردارویی محتمل برای کاهش خطر بیماری آلزایمر مطرح شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی همراه با مکمل گیری نارنژین بر سطح آدیپونکتین هیپوکمپ و اختلال حافظه در رت های مبتلا به بیماری آلزایمر القاشده با تزریق آمیلوئیدبتا انجام شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که یادگیری هر چهار گروه پژوهش در طی روزهای آموزش ماز آبی با کاهش زمان صرف شده برای رسیدن به سکو افزایش یافت؛ با این حال، روند یادگیری بین این گروه ها تفاوت داشت. با اینکه گروه ها در زمان سپری شده برای رسیدن به سکو در روز اول تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند، گروه AD کمترین میزان یادگیری را در روزهای دوم تا چهارم نشان داد، اما گروه های ADN و ADET، ADETn در مقایسه با گروه AD عملکرد بهتری در یادگیری داشتند؛ به عبارت دیگر، مداخله های ورزشی و تغذیه ای توانستند روند یادگیری فضایی در مرحله اکتساب را



بهبود بخشند. همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، بهبود یادگیری فضایی در اثر تمرین ورزشی در موش‌های پیر (۳۲) و مبتلا به AD (۳۳-۳۵) و همچنین به دنبال استفاده از نارنژین در وضعیت بیماری آلزایمر (۱۹) گزارش شده است. قاسمی و همکاران (۳۴) نشان دادند چهار هفته تمرین هوازی تأثیر بسزایی بر بهبود یادگیری و حافظه فضایی و کاهش TNF- α هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری آلزایمر القا شده با آمیلوئید بتا دارد. همچنین خدامرادی و همکاران (۳۵) گزارش کردند تمرین هوازی از طریق فعال سازی مسیر پیام‌رسانی TrkB- PKC- AKT به بهبود حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر مبتلا به بیماری آلزایمر کمک می‌کند. از سوی دیگر، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هم تمرین هوازی و هم مکمل دهی نارنژین حافظه فضایی را در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر بهبود می‌بخشد. اثرات سودمند تمرین ورزشی (۳۶، ۳۷) و مکمل دهی نارنژین (۱۹) بر حافظه فضایی نیز پیش‌تر گزارش شده است. نکته درخور تأمل اینکه مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد حیواناتی که هر دو مداخله ورزشی و مصرف نارنژین را دریافت کردند، به‌طور چشمگیری نتایج بهتری در عملکرد حافظه فضایی کسب کردند. سازوکارهای مختلفی برای بهبود عملکرد شناختی به دنبال تمرینات هوازی و همچنین مصرف نارنژین پیشنهاد شده است. شواهد نشان می‌دهند که آنزیم برش‌دهنده پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید^۱ (BACE1)، استیل‌کولین‌استراز^۲ (AChE) و بوتیریل‌کولین‌استراز^۳ (BChE) به عنوان آنزیم‌های کلیدی بالقوه در پاتوژنز بیماری آلزایمر در نظر گرفته می‌شوند. نارنژین اثرات ضد بیماری آلزایمر خود را از طریق کاهش فعالیت BACE1، AChE و BChE در وضعیت آزمایشگاهی نشان می‌دهد (۳۸). از سوی دیگر، یکی از عناصر مهمی که اثرات مفید فعالیت ورزشی را بر مغز القا می‌کند، عوامل نوروتروفیک و به‌ویژه BDNF است. در مدل‌های حیوانی فعالیت ورزشی باعث افزایش بیان BDNF در مناطق مختلف مغز به‌ویژه هیپوکمپ شد. BDNF در بهبود بسیاری از جنبه‌های توسعه مغزی شامل نجات سلولی، تمایز نورونی، مهاجرت نورون‌های عصبی، شاخه‌ای شدن دندریتی و سیناپس‌زایی نقش دارد. علاوه بر این، وجود BDNF برای پلاستیسیته سیناپسی، عملکرد هیپوکمپ و یادگیری ضروری است. یکی از مسیرهای سیگنالی افزایش بیان BDNF ناشی از فعالیت ورزشی اختیاری در نورون‌های هیپوکمپ مسیر سیگنالی PGC-/BDNF 1α /FNDC5 است. وانگ همکاران^۴ (۲۴) نشان دادند ۳۰ روز فعالیت ورزشی اختیاری روی نوارگردان در موش‌های نر شش هفته‌ای به افزایش بیان ژن‌های BDNF/ 1α /FNDC5/ PGC-۱۰ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی منجر شد؛ با وجود این، مطالعه حاضر بر تغییرات آدیونکتین هیپوکمپ تمرکز دارد که به‌تازگی به ارتباط آن با بیماری آلزایمر توجه زیادی شده است.

بیان ژن آدیونکتین به‌طور گسترده‌ای در قشر مغز و هیپوکمپ رخ می‌دهد و اثرات محافظتی بر شاخه‌شاخه شدن

1. Amyloid Precursor Protein (APP) Cleaving Enzyme 1
2. Acetylcholinesterase
3. Butyrylcholinesterase
4. Wong



دندریتی^۱، سیناپس زایی و نورون زایی برآمدگی های شکنج دنداندار^۲ هیپوکمپ دارد (۳۷). جیان^۳ و همکاران (۳۹) نشان دادند که آدیونکتین پاسخ های التهابی میکروگلیاها به ایگومرهای آمیلوئیدتا را کاهش می دهد و نقص آدیونکتین می تواند التهاب ایجاد شده به واسطه میکروگلیاها را در موش های مبتلا به بیماری آلزایمر شدیدتر کند. یاو^۴ و همکاران (۴۰) نشان دادند که اثرات سودمند تمرین ورزشی بر رفتارهای شبیه به افسردگی و نورون زایی در بافت هیپوکمپ موش های فاقد آدیونکتین به طور چشمگیری کاهش می یابد. همسو با این گزارش ها، مطالعه حاضر نیز نشان داد که تمرین ورزشی با افزایش میزان پروتئین آدیونکتین در هیپوکمپ رت های مبتلا به بیماری آلزایمر همراه است. به نظر می رسد تنظیم سطوح آدیونکتین مغز یکی از سازوکارهای مهم ورزش برای اعمال اثرات سودمند خود بر مغز است.

سانگ^۵ و همکاران گزارش کردند که آدیونکتین التهاب عصبی را از طریق کاهش رسوب آمیلوئیدتا در مغز به صورت منفی تنظیم می کند (۴۱). نشان داده شده است که آدیونکتین رهایی سیگنال های پیش التهابی نظیر اینترلوکین-شش و عامل نکروز تومور- α (TNF α) از سلول های اندوتلیال سد خونی-مغزی را مهار می کند و به طور غیرمستقیم سیگنالینگ التهابی را از طریق سد خونی-مغزی تعدیل می کند (۴۲). ماکروفاژها اهداف اصلی آدیونکتین برای اعمال اثرات ضد التهابی هستند. در واقع، آدیونکتین با سرکوب تمایز ماکروفاژها، تعدیل عملکرد ماکروفاژ یا تغییر فنوتیپ آن ها از حالت M1 پیش التهابی به حالت M2 ضد التهابی، کاهش بیان گیرنده شبه Toll چهار^۶ و تنظیم پاسخ های التهابی این کار را انجام می دهد (۴۳). همچنین تزریق درون بطنی آدیونکتین می تواند فعالیت پیام رسانی انسولین در مغز موش های دیابتی را بهبود بخشد و هومئوستاز گلوکز را تنظیم کند (۴۴). از آنجا که دمانس و به ویژه آلزایمر نوعی بیماری های سوخت و سازی در نظر گرفته می شوند (۴۵)، این یافته می تواند مهم تلقی شود؛ با این حال، بسیاری از مطالعات نشان داده اند آدیونکتین به طور مستقیم یا غیرمستقیم اثرات ضد مقاومت به انسولین از خود نشان می دهد، سوخت و ساز گلیکوژن، لیپیدها و اسیدهای چرب را تنظیم می کند و استرس اکسیداتیو را در مغز و محیط کاهش می دهد (۴۶) و این تغییرات می تواند به بهبود علائم بیماری آلزایمر منجر شود، اما در مقابل، برخی مطالعات تأثیر نداشتن و حتی اثرات مخرب آن را در وضعیت بیماری آلزایمر مطرح کرده اند (۱۱، ۵). این تناقض ها بیانگر آن است که ارتباط آدیونکتین و بیماری آلزایمر هنوز به طور کامل شناخته نشده است و برای درک بهتر آن به مطالعات بیشتری نیاز است.

1. Dendritic Arborization
2. Dentate Gyrus
3. Jian
4. Yau
5. Song
6. Tumor Necrosis Factor Alpha
7. Toll-Like Receptor 4 (TLR4)



افزایش سطوح آدیپونکتین به واسطه نارنژین در مطالعات کشت سلولی (۴۷) و موش‌های دیابتی (۴۸) در سلول‌های بافت چربی نشان داده شده است، اما براساس جست‌وجوهای انجام‌شده تاکنون تغییرات ناشی از مصرف نارنژین در آدیپونکتین مغز گزارش نشده است. مطالعه حاضر نشان داد که مصرف نارنژین با حفظ یا افزایش پروتئین آدیپونکتین در بافت هیپوکمپ رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر همراه است. به نظر می‌رسد همانند تمرین هوازی، آدیپونکتین نیز به‌عنوان یکی از سازوکارهای محافظت عصبی نارنژین در شرایط بیماری آلزایمر درگیر می‌شود. همچنین بیشتر بودن میزان آدیپونکتین در گروه ADET در مقایسه با گروه ADN به‌رغم نبود تفاوت در عملکرد شناختی بین دو گروه در مطالعه حاضر، نشان داد که تعدیل میزان آدیپونکتین سازوکار محافظتی مهم‌تری برای ورزش هوازی در مقایسه با نارنژین در شرایط بیماری آلزایمر است. احتمالاً سازوکارهای دیگری نیز در بهبودی عملکرد شناختی ناشی از مصرف نارنژین درگیر می‌شوند؛ با این حال، برای تأیید این یافته‌ها به مطالعات بیشتری نیاز هست تا با هدف دستکاری و حذف آدیپونکتین انجام شوند. به‌طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هم تمرین هوازی و هم مکمل‌دهی نارنژین احتمالاً از طریق تعدیل میزان آدیپونکتین هیپوکمپ موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی در رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر می‌شوند. به‌علاوه، ترکیب این دو عامل یا یکدیگر اثری مضاعف بر بهبود حافظه دارد که می‌تواند راهکاری مؤثر برای مقابله با بیماری آلزایمر در نظر گرفته شود.

پیام مقاله

با توجه به افزایش سن افراد در جامعه و شیوع بیماری آلزایمر، فعالیت ورزشی و مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند نارنژین احتمالاً بتواند با افزایش میزان آدیپونکتین به‌عنوان پروتئینی که نقش مهمی در عوامل شناختی و بیماری آلزایمر دارد، تاحدی از بروز این بیماری پیشگیری کند و اثرات مخرب آن را تاحدی کنترل کند.

منابع

1. Feng G, Wang W, Qian Y, Jin HJ, Anti A. Antibodies induced by A β -HBc virus-like particles prevent A β aggregation and protect PC12 cells against toxicity of A β 1-40. *J Neurosci Methods*. 2013;218:48-54.
2. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002;297(5580):353-6.
3. Jan A, Hartley DM, Lashuel HA. Preparation and characterization of toxic A β aggregates for structural and functional studies in Alzheimer's disease research. *Nat Protoc*. 2010;5(6):1186-209.
4. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2006;368(9533):387-403.
5. Waragai M, Ho G, Takamatsu Y, Sekiyama K, Sugama S, Takenouchi T, et al. Importance of adiponectin activity in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol*. 2017;4(8):591-600.
6. Chan K-H, Lam KS-L, Cheng O-Y, Kwan JS-C, Ho PW-L, Cheng KK-Y, et al. Adiponectin is protective against oxidative stress induced cytotoxicity in amyloid-beta neurotoxicity. *PLoS One*.



- 2012;7(12):e52354.
7. Letra L, Rodrigues T, Matafome P, Santana I. 2019. Adiponectin and sporadic Alzheimer's disease: clinical and molecular links. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2019;52:1-11.
 8. Samant NP, Gupta GL. Adiponectin: a potential target for obesity-associated Alzheimer's disease. *Metabolic Brain Disease*;2021:1-8.
 9. Liu B, Liu J, Wang J-g, Liu C-l, Yan H-j. AdipoRon improves cognitive dysfunction of Alzheimer's disease and rescues impaired neural stem cell proliferation through AdipoR1/AMPK pathway. *Experimental Neurology*. 2020;327:113249.
 10. Sekiyama K, Waragai M, Akatsu H, Sugama S, Takenouchi T, Takamatsu Y, et al. Disease modifying effect of adiponectin in model of α -synucleinopathies. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1(7):479-89.
 11. Wennberg A, Gustafson D, Hagen CE, Roberts RO, Knopman D, Jack Jr C, et al. Serum adiponectin levels, neuroimaging, and cognition in the mayo clinic study of aging. *J Alzheimers Dis*. 2016;53(2):573-81.
 12. Rashtiani S, Goudarzi I, Jafari A, Rohampour K. Adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK) is essential for the memory improving effect of adiponectin. *Neuroscience Letters*. 2021;749:135721.
 13. Ng RC, Cheng OY, Kwan JSC, Ho PW-L, Cheng KK-Y, Yeung P K K, et al. Chronic adiponectin deficiency leads to Alzheimer's disease-like cognitive impairments through AMPK inactivation and cerebral insulin resistance in aged mice. *Mol Neurodegen*. 2016;11:71.
 14. Hernández-Aquino, E.; Muriel, P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms. *World J Gastroenterol*. 2018;24:1679-1707.
 15. Nouri Z, Fakhri S, El-Senduny FF, Sanadgol N, Abd-ElGhani GE, Farzaei MH, Chen JT. On the Neuroprotective Effects of Naringenin: pharmacological targets, signaling pathways, molecular mechanisms, and clinical perspective. *Biomolecules*. 2019;9:690.
 16. E Orhan I, F Nabavi S, Daglia M, C Tenore G, Mansouri K, M Nabavi S. Naringenin and atherosclerosis: a review of literature. *Curr Pharm Biotechnol*. 2015;16(3):245-51.
 17. Zaidun NH, Thent ZC, Abd Latiff A. Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life Sci*. 2018;208:111-22.
 18. Zeng W, Jin L, Zhang F, Zhang C, Liang W. Naringenin as a potential immunomodulator in therapeutics. *Pharmacol Res*. 2018;135:122-6.
 19. Yang W, Ma J, Liu Z, Lu Y, Hu B, Yu H. Effect of naringenin on brain insulin signaling and cognitive functions in ICV-STZ induced dementia model of rats. *Neurol Sci*. 2014;35(5):741-51.
 20. Barajas-Vega JL, Raffoul-Orozco AK, Hernandez-Molina D, Ávila-González AE, García-Cobian TA, Rubio-Arellano ED, et al. Naringin reduces body weight, plasma lipids and increases adiponectin levels in patients with dyslipidemia. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2020
 21. Fakhri S, Abbaszadeh F, Dargahi L, Jorjani M. Astaxanthin: A mechanistic review on its biological activities and Health benefits. *Pharmacol Res*. 2018;136:1-20.
 22. Cotman CW, Berchtold NC, Christie L-A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*. 2007;30(9):464-72.



23. Intlekofer KA, Cotman CW. Exercise counteracts declining hippocampal function in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2013;57:47-55.
24. Wong J. Neurotrophin signaling and Alzheimer's Disease neurodegeneration-Focus on BDNF/TrkB signaling.trends in cell signaling pathways in neuronal fate decision. 2013 Mar 27;7:181-94.
25. Cai H, Cong W-n, Ji S, Rothman S, Maudsley S, Martin B. Metabolic dysfunction in Alzheimer's disease and related neurodegenerative disorders. *Curr Alzheimer Res.* 2012;9(1):5-17.
26. Gregory JM, Muldowney JA, Engelhardt BG, Tyree R, Marks-Shulman P, Silver HJ, et al. Aerobic exercise training improves hepatic and muscle insulin sensitivity, but reduces splanchnic glucose uptake in obese humans with type 2 diabetes. *Nutr Diabetes.* 2019;9(1):1-12.
27. Khodadadi D, Gharakhanlou R, Naghdi N, Salimi M, Azimi SM, Shahed A. The effect of 4 weeks of exercise preconditioning on soluble amyloid beta level and memory impairment in rats with Alzheimer's disease induced by A β 1-42 injection. *Razi Journal of Medical Sciences.* 2018;24(165):74-84.
28. Paxinos George Wc. Paxinos and Watson, s the rat brain in stereotaxic coordinates. Vol. Academic Press is an imprint of Elsevier; 2014.
29. Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation : behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiol Dis.* 2012;45(3):1153-62.
30. Kandhare AD, Ghosh P, Bodhankar SL. Naringin, a flavanone glycoside, promotes angiogenesis and inhibits endothelial apoptosis through modulation of inflammatory and growth factor expression in diabetic foot ulcer in rats. *Chem Biol Interact.* 2014;219:101-12.
31. Khorshidahmad T, Tabrizian K, Vakilzadeh G, Nikbin P, Moradi S, Hosseini-Sharifabad A, et al. Interactive effects of a protein kinase AII inhibitor and testosterone on spatial learning in the Morris water maze. *Behav Brain Res.* 2012;228(2):432-9
32. He X-f, Liu D-x, Zhang Q, Liang F-y, Dai G-y, Zeng J-s, et al. Voluntary exercise promotes glymphatic clearance of amyloid beta and reduces the activation of astrocytes and microglia in aged mice. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:144.
33. Parachikova A, Nichol K, Cotman C. Short-term exercise in aged Tg2576 mice alters neuroinflammation and improves cognition. *Neurobiol Dis.* 2008;30(1):121-9.
34. Ghasemi P, Gharakhanlou R, Molanouri Shamsi M, Khodadadi D. The effect of 4 weeks aerobic exercise on gene expression of glial cell_ derived neurotrophic factor, TNF- α and cognition in rat's hippocampus with Alzheimer's disease induced by amyloid beta. *Sport Physiology.* 2021;13(49):169-98. (In Persian).
35. Khodamoradi A, Kordi MR, Nori R. Effect of four weeks aerobic training on Trk-B, PKC and AKT in hippocampus of male rats with Alzheimer's disease. *Sport Physiology.* 2021;13(50):39-58. (In Persian).
36. Berchtold NC, Castello N, Cotman CW. Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience.* 2010;167(3):588-97.
37. Zhang D, Wang X, Lu X-Y. Adiponectin exerts neurotrophic effects on dendritic arborization, spinogenesis, and neurogenesis of the dentate gyrus of male mice. *Endocrinology.* 2016;157(7):2853-69.
38. Lee S, Youn K, Lim G, Lee J, Jun M. In silico docking and in vitro approaches towards BACE1 and



- cholinesterases inhibitory effect of citrus flavanones. *Molecules*. 2018;23(7):1509.
39. Jian M, Kwan JS-C, Bunting M, Ng RC-L, Chan KH. Adiponectin suppresses amyloid- β oligomer (A β O)-induced inflammatory response of microglia via AdipoR1-AMPK-NF- κ B signaling pathway. *J Neuroinflammation*. 2019;16(1):1-19.
40. Yau SY, Li A, Hoo RL, Ching YP, Christie BR, Lee TM, et al. Physical exercise-induced hippocampal neurogenesis and antidepressant effects are mediated by the adipocyte hormone adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(44):15810-5.
41. Song J, Choi S-M, Whitcomb DJ, Kim BC. Adiponectin controls the apoptosis and the expression of tight junction proteins in brain endothelial cells through AdipoR1 under beta amyloid toxicity. *Cell Death Dis*. 2017;8(10):e3102-e.
42. Spranger J, Verma S, Göhring I, Bobbert T, Seifert J, Sindler AL, et al. Adiponectin does not cross the blood-brain barrier but modifies cytokine expression of brain endothelial cells. *Diabetes*. 2006;55(1):141-7.
43. Gordon S, Martinez FO. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity*. 2010;32(5):593-604.
44. Park S, Kim D, Kwon D, Yang H. Long-term central infusion of adiponectin improves energy and glucose homeostasis by decreasing fat storage and suppressing hepatic gluconeogenesis without changing food intake. *J Neuroendocrinol*. 2011;23(8):687-98.
45. Ferreira ST, Clarke JR, Bomfim TR, De Felice FG. Inflammation, defective insulin signaling, and neuronal dysfunction in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*. 2014;10:S76-S83.
46. Chen R, Shu Y, Zeng Y. Links between adiponectin and dementia: from risk factors to pathophysiology. *Front Aging Neurosci*. 2020;11:356.
47. Rebello CJ, Greenway FL, Lau FH, Lin Y, Stephens JM, Johnson WD, et al. Naringenin promotes thermogenic gene expression in human white adipose tissue. *Obesity*. 2019;27(1):103-11.
48. Ahmed OM, Hassan MA, Abdel-Twab SM, Azeem MNA. Navel orange peel hydroethanolic extract, naringin and naringenin have anti-diabetic potentials in type 2 diabetic rats. *Biomed Pharmacother*. 2017;94:197-205.



ارجاع دهی

Dibae, Sh. , Salehpour, M. , Ashabi, Gh. (2022) The Effect of Four Weeks of Aerobic Training with Naringin Supplementation on Hippocampal Adiponectin Levels and Memory Impairment in Rats with Alzheimer's Disease Induced by Amyloid beta Injection. *Sport Physiology*, 13 (52): 39-60 (Persian)

DOI: 10.22089/SPJ.2021.9583.2080

دیباچی، شیماء؛ صالح‌پور، مجتبی؛ اصحابی، قربانگل. (۱۴۰۰). تأثیر چهار هفته تمرین هوازی همراه با مکمل‌گیری نارنژین بر سطح آدیپونکتین هیپوکامپ و عملکرد حافظه رت‌های مبتلا به بیماری آلزایمر القا شده با تزریق آمیلوئیدبتا. *فیزیولوژی ورزشی*، ۱۳ (۵۲): ۳۹-۶۰

شناسه دیجیتال : 10.22089/SPJ.2021.9583.2080

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

