

# The synergistic role of aerobic training and resveratrol consumption on the pathway of hippocampal mitochondrial biogenesis in rats with Alzheimer's disease

Ammar Rashed, Ahmad Abdi\*, Alireza Barari

Department of Physical Education and Sport Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

Corresponding author e-mail: a.abdi58@gmail.com

## Abstract

**Background and Objective:** The pathogenesis of AD shows that the imbalance between the production and clearance of amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) is the cause of the development of dementia. Exercise reduces  $A\beta$  deposition through the AMPK signaling pathway. In addition, resveratrol (RSV) has neuroprotective effects associated with cognitive decline. The aim of the present study was to investigate the effect of aerobic training and RSV consumption on the AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 pathway in the hippocampus of rats with Alzheimer's disease.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 35 male Wistar rats were divided into 5 groups: Control (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. 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.

**Results:** AD induction caused a significant decrease in the gene expression of AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 ( $p=0.0001$ ). Exercise and RSV significantly increased the gene expression of AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 in AD rats ( $p<0.05$ ). Also, a significant increase was observed in the gene expression changes of AMPK, PGC-1 $\alpha$  and SIRT1 in the ADTRSV group compared to the ADT group ( $p=0.034$ ,  $p=0.020$  and  $p=0.038$ , respectively) and ADRSV ( $p=0.026$ ,  $p=0.021$  and  $p=0.021$ ).

**Conclusion:** AD induction was associated with a decrease in AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 gene expression, and aerobic exercise and RSV consumption can reverse this process. It seems that changing the levels of these indicators following physical activity and the use of RSV can partially reduce the complications of AD.

**Keywords:** Exercise, Resveratrol, Mitochondrial biogenesis, Alzheimer's disease

Received: May 13, 2024

Revised: Jun 08, 2024

Accepted: Jun 19, 2024

**How to cite this article:** Rashed A, Abdi A, Barari A. The synergistic role of aerobic training and resveratrol consumption on the pathway of hippocampal mitochondrial biogenesis in rats with Alzheimer's disease. Daneshvar Medicine 2024; 31(2):52-62. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.19127.1494

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

## نقش هم افزایی تمرین هوازی و مصرف رزوراترول بر مسیر بیوژنز میتوکندری هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر

عمار راش، احمد عبدی\*، علیرضا براری

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

\*نویسنده مسئول: احمد عبدی Email: a.abdi58@gmail.com

### چکیده

**مقدمه و هدف:** پاتوژنز بیماری آلزایمر نشان می‌دهد که عدم تعادل بین تولید و پاکسازی آمیلوئید ( $A\beta$ ) عامل توسعه زوال عقل است. فعالیت ورزشی رسوب  $A\beta$  را از طریق مسیر سیگنال‌دهی AMPK کاهش می‌دهد. علاوه بر این، رزوراترول (RSV) دارای اثرات محافظت‌کننده عصبی مرتبط با زوال شناختی است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین هوازی و مصرف رزوراترول بر مسیر AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 هیپوکامپ موش‌های مبتلا با آلزایمر بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در پنج گروه کنترل (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. برنامه تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۸-۶ متر در دقیقه، پنج روز هفته به مدت هشت هفته اجرا شد.

**نتایج:** القای AD باعث کاهش معنی‌داری در بیان ژن AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 شد ( $p=0/0001$ ). تمرین و RSV باعث افزایش معنی‌داری بیان ژن AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 در موش‌های صحرایی AD شد ( $p<0.05$ ). همچنین افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن AMPK، PGC-1 $\alpha$  و SIRT1 در گروه ADTRSV نسبت به گروه ADT (به ترتیب  $p=0/034$ ،  $p=0/020$  و  $p=0/038$ ) و ADRSV ( $p=0/026$ ،  $p=0/021$  و  $p=0/021$ ) مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** القای AD با کاهش بیان ژن AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 همراه بود و فعالیت ورزشی هوازی و مصرف RSV قادر است این روند را معکوس کند. به نظر تغییر سطوح این شاخص‌ها به دنبال فعالیت بدنی و استفاده از RSV می‌تواند تا حدی عوارض بیماری AD را کاهش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** فعالیت ورزشی، رزوراترول، بیوژنز میتوکندری، بیماری آلزایمر

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۲/۲۴

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

## مقدمه

بیماری آلزایمر<sup>۱</sup> (AD) شایع‌ترین نوع زوال عقل است. این بیماری، بیش از ۷۵ درصد از زوال عقل در سراسر جهان را شامل شده و ده‌ها میلیون نفر که معمولاً بالای ۶۰ سال سن دارند، را تحت تاثیر قرار می‌دهد. (۱). تغییرات پاتولوژیک در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر، آتروفی مغز است که با پلاک‌های پیری<sup>۲</sup> (SP) یا پلاک‌های بتا آمیلوئید<sup>۳</sup>، گره‌های نوروفیبریلاری<sup>۴</sup> (NFT) و کاهش نورون مشخص می‌شود. هسته SP، شامل پروتئین آمیلوئید- $\beta$  (A $\beta$ ) است و جزء اصلی NFT یک پروتئین مرتبط با میکروتوبول بسیار فسفریله‌کننده، پروتئین تاو است (۲). پاتوژنز بیماری آلزایمر نشان می‌دهد که عدم تعادل بین تولید و پاکسازی A $\beta$  عامل شروع انحطاط عصبی و توسعه زوال عقل است که باعث ایجاد برخی فرآیندهای پاتولوژیک مانند هیپرفسپوریلایسیون پروتئین تاو، پاسخ التهابی و مرگ عصبی می‌شود (۲). اگرچه مکانیزم سمیت A $\beta$  برای سلول‌های عصبی مشخص نیست، با این وجود نشان داده شده که افزایش A $\beta$  منجر به اختلال در عملکرد نورون‌ها می‌شود. علاوه بر این، لیگومرهای A $\beta$  باعث افزایش آپوپتوز یا تحریک سلول‌های گلیال برای بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز<sup>۵</sup> (iNOS) بیشتر شده و افزایش مقادیر NO منجر به تخریب نورون‌ها می‌شود (۳). بر اساس شواهد موجود مبنی بر اینکه رسوب A $\beta$  نقش کلیدی در مرگ سلول‌های عصبی و آتروفی مغز دارد که در نهایت منجر به شروع و پیشرفت AD می‌شود، کاهش رسوب A $\beta$  یک هدف بالقوه امیدوارکننده برای درمان AD است. فعالیت ورزشی رسوب A $\beta$  را از طریق مسیر سیگنال‌دهی پروتئین کیناز فعال شده با AMP<sup>۶</sup> (AMPK) کاهش می‌دهد. فعالیت ورزشی مهم‌ترین فعال‌کننده فیزیولوژیکی AMPK در نظر

گرفته می‌شود. فعالیت‌بدنی اغلب یک مداخله ارزان و مفید برای درمان بسیاری از بیماری‌ها در نظر گرفته می‌شود و اثرات آن نیز به فعال‌شدن AMPK نسبت داده می‌شود (۴). گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی زوم ۱-آلفا<sup>۷</sup> (PGC-1 $\alpha$ ) و سیرتوئین<sup>۸</sup> (SIRT1) عوامل پایین دست AMPK هستند و بیان ژن آنها با فعال‌سازی AMPK همبستگی مثبت دارد، علاوه بر این در AD، AMPK و PGC-1 $\alpha$  و SIRT1 اغلب به عنوان اهداف مهم برای کاهش A $\beta$  در نظر گرفته می‌شوند. در مطالعه‌ای نشان داده شد که پس از ۳۵ جلسه تمرین روی تردمیل با شدت متوسط، اختلال یادگیری و حافظه در موش‌های AD بهبود یافته و با کاهش رسوب A $\beta$  همراه بود. فرض بر این است که به دلیل فعال‌شدن AMPK به دنبال فعالیت ورزشی بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی زوم گاما<sup>۹</sup> (PPAR $\gamma$ ) افزایش می‌یابد، که هر دو به پروموتور BACE1 متصل می‌شوند و رونویسی BACE1 را مهار می‌کنند، بنابراین تولید A $\beta$ 42 و A $\beta$ 41 را کاهش می‌دهند (۵). علاوه بر فعالیت ورزشی، برخی گیاهان نیز می‌توانند به طور مستقیم و غیر مستقیم بر سیستم عصبی تاثیر داشته باشند. رزوراترول<sup>۱۰</sup> (RSV) یک پلی فنول طبیعی است که معمولاً در پوست انگور، شراب قرمز، ریواس و چندین گیاه دیگر یافت می‌شود. RSV به دلیل پتانسیل درمانی برای بیماری‌های متابولیک، مانند مقاومت به انسولین و T2D مورد توجه قرار گرفته است (۶). علاوه بر این، RSV دارای اثرات محافظت‌کننده عصبی مرتبط با زوال شناختی است. به عنوان مثال، Moussa و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که ۵۲ هفته درمان با RSV، در بیماران مبتلا به AD خفیف تا متوسط از پیشرفت بیماری جلوگیری می‌کند (۷). در مطالعه‌ای

<sup>1</sup> Alzheimer's Disease<sup>2</sup> Senile Plaques<sup>3</sup> Amyloid Beta Plaques<sup>4</sup> Neurofibrillary Tangles<sup>5</sup> Nitric Oxide Synthase<sup>6</sup> AMP-Activated Protein Kinase<sup>7</sup> Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha<sup>8</sup> SIRT1<sup>9</sup> Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\gamma$ <sup>10</sup> Resveratrol

دیگر روی افراد مسن دارای اضافه وزن بیان شد که ۲۶ هفته درمان با RSV منجر به افزایش عملکرد حافظه، حفظ حافظه و بهبود عملکرد هیپوکامپ می‌شود (۸). این مطالعات RSV را به عنوان یک درمان امیدوارکننده برای بیماری‌های نورودژنراتیو برجسته می‌کنند. اثرات درمانی فعالیت ورزشی در ترکیب با RSV که هر دوی آنها قادر به محافظت از سیستم عصبی هستند، به خوبی در ادبیات گزارش نشده است. در یکی از مطالعه، گزارش شده که تمرین هوازی همراه با RSV با کاهش سمیت الیگومرهای  $A\beta$ ، سرکوب اتوفوژی عصبی، کاهش آپوپتوز در موش‌های AD همراه است (۹). با این وجود Allard و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که درمان با RSV به تنهایی تأثیر قابل توجهی بر بیان ژن APOE بافت مغز موش‌های AD ندارد، اما در ترکیب با فعالیت ورزشی موثر بود (۱۰). فعالیت ورزشی و شیوه‌های زندگی فعال، استراتژی‌های درمانی قابل قبولی برای پیشگیری یا به تاخیر انداختن بیماری AD و سایر زوال عقل‌ها هستند. علاوه بر این، شواهد رو به رشدی وجود دارد که مصرف مکمل‌های غذایی آنتی‌اکسیدانی نیز ممکن است در درمان و جلوگیری از پیشرفت بیماری AD نقش داشته باشد. فرض ما این است که ترکیب مصرف RSV و تمرین ورزشی دارای اثر هم‌افزایی بر مسیر AMPK/PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 در موش‌های AD داشته باشد.

## مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نظر هدف توسعه‌ای و با توجه به ماهیت و روش اجرای آن در زمره تحقیقات آزمایشگاهی و تجربی است. در این پژوهش همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای مؤسسه ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزن

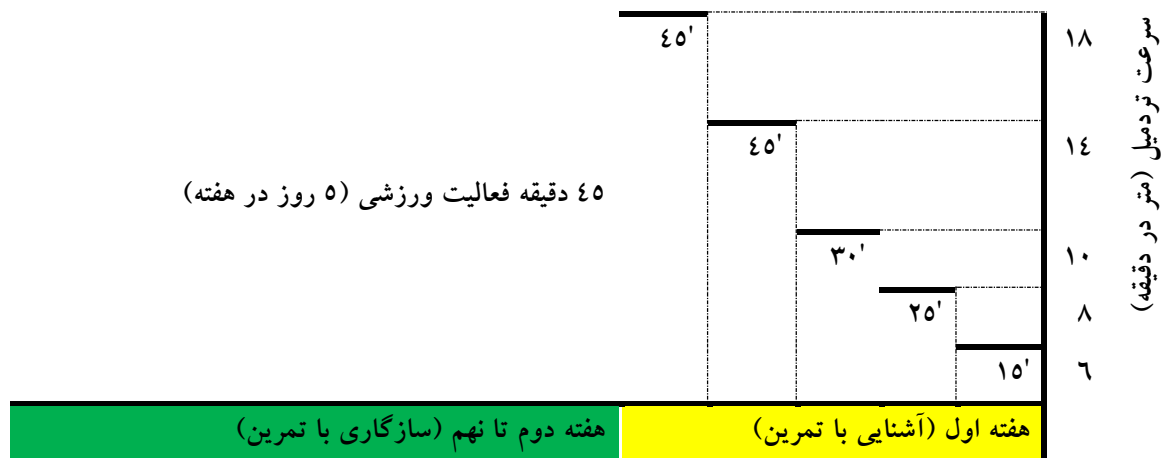
۲۲۳/۱۷±۹/۰۸ گرم از مؤسسه پاستور تهیه شد و به آزمایشگاه حیوانی منتقل شدند. دمای محیط  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش‌ها به پنج گروه هشت سری شامل ۱- کنترل (NO)، ۲-آلزامیر (AD)، ۳-آلزامیر-تمرین (ADT)، ۴-آلزامیر-رزوراترول (ADRSV)، ۵-آلزامیر-تمرین-رزوراترول (ADTRSV) قرار گرفتند.

### نحوه القای آلزامیر

برای القای آلزامیر از آمیلوئید بتای ۱-۴۲ خریداری شده از شرکت سیگما-آلدریج استفاده شد. ابتدا آمیلوئید بتای ۱-۴۲ در آب مقطر دو بار استریل شده حل و به مدت یک هفته ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد آنکوبه شد. موش‌ها با تزریق کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زیلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. موه‌های روی سر تراشیده، و درز برگما و لامبدا با یک برش ساجیتال مشخص شد. در ادامه ناحیه CA1 هیپوکامپ علامت‌گذاری شد و جمجمه به آرامی سوراخ گردید. از سرنگ همیلتون برای تزریق  $A\beta$  استفاده شد. دو میکرولیتر  $A\beta$  به صورت دو طرفه به آرامی در حدود یک دقیقه تزریق شد (۱۱).

### پروتکل تمرین

برنامه تمرین موش‌های صحرایی AD در شکل ۱ آورده شده است. تمرین ورزشی روی تردمیل 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 ۱۸-۶ 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.



شکل ۱. پروتکل تمرین

سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تاثیر آهنگ شبانه روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و ۱۱:۳۰ به اتمام رسید.

#### طراحی و آماده‌سازی پرایمر

جدول ۱ الگوی پرایمر را نمایش می‌دهد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

#### مصرف رزوراترول

رزوراترول (۲۰ میلی‌گرم/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 گاواژ به موش‌ها تجویز شد (۱۲).

#### روش‌های آزمایشگاهی

پس از اعمال متغیر مستقل، 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

جدول ۱. الگوی پرایمر

Genes	Forward primers	Reverse primers
AMPK	5'- ACTATCAAAGACATACGAGAGCA -3'	5'- CTTGAGGGTCACCACTGTATAA -3'
PGC-1 $\alpha$	5'- CAGAAGCAGAAAGCAATTGAAGA -3'	5'- GTTTCATTGACCTGCGTAAAG -3'
SIRT1	5'- TCCTGTGGGATACCTGACTT-3'	5'- AAAGGAACCATGACACTGAATGA -3'
GAPDH	5'-AGAAGGCTGGAGAAGATGAGG-3'	5'-TTGGTGCCTCGTGTCTTCTGT-3'

گیری mRNA، 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 (Thereshold Cycle: CT)

#### انجام Real time-PCR

۲۰ میلی‌گرم 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

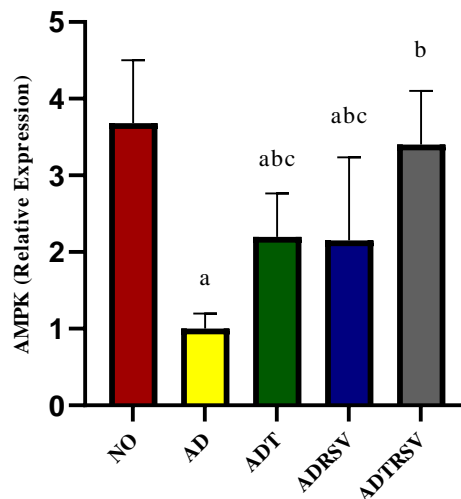
### نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن AMPK بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد ( $F=15/140$ ,  $p=0/0001$ ) (نمودار ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن AMPK در گروه‌های AD ( $p=0/0001$ )، ADT ( $p=0/006$ ) و ADRSV ( $p=0/004$ ) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ( $p=0/036$ )، ADRSV ( $p=0/047$ ) و ADTRSV ( $p=0/0001$ ) نسبت به AD؛ و ADRSV ( $p=0/026$ ) نسبت به گروه ADT ( $p=0/034$ ) و ADRSV ( $p=0/026$ ) مشاهده شد (نمودار ۱).

مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای نرمال سازی بیان ژن از فرمول (کنترل) -ct (هدف)  $\Delta ct=ct$  استفاده گردید. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن‌ها با  $\Delta ct$ ، برای کمی کردن نتیجه حاصل از تغییرات ct نمونه‌ها، این عدد در فرمول  $2^{-\Delta ct}$  وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

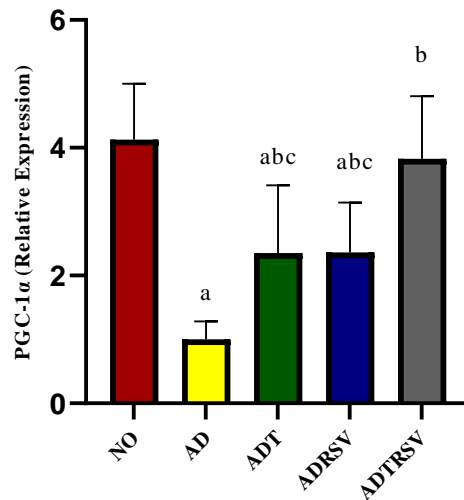
پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لون، برای تجزیه و تحلیل آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $p \geq 0/05$  در نظر گرفته شد.



نمودار ۱. مقایسه اثر تمرین و رزوراترول بر سطوح بیان ژن AMPK هیپوکامپ در در گروه‌های مختلف (در سطح  $p > 0/05$ ).  
a تفاوت با گروه NO، b تفاوت با گروه AD، c تفاوت با ADTRSV: NO، AD، آلیزیمر، ADT: آلیزیمر-تمرین، ADRSV: آلیزیمر-رزوراترول، ADTRSV: آلیزیمر-تمرین-رزوراترول

همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ( $p=0/039$ )، ADRSV ( $p=0/037$ ) و ADTRSV ( $p=0/0001$ ) نسبت به AD؛ و ADTRSV ( $p=0/021$ ) مشاهده شد (نمودار ۲).

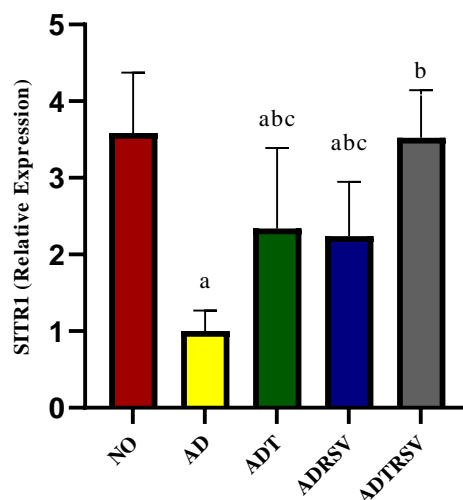
همچنین تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن PGC-1 $\alpha$  بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد ( $F=15/940$ ,  $p=0/0001$ ) (نمودار ۲). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن PGC-1 $\alpha$  در گروه‌های AD ( $p=0/0001$ )، ADT ( $p=0/004$ ) و ADRSV ( $p=0/004$ ) نسبت به NO وجود دارد.



نمودار ۲. مقایسه اثر تمرین و رزوراترول بر سطوح بیان ژن PGC-1 $\alpha$  هیپوکامپ در در گروه‌های مختلف (در سطح  $p < 0.05$ ).  
 a تفاوت با گروه NO، b تفاوت با گروه AD، c تفاوت با NO، ADTRSV: نرمال، AD: آلزایمر، ADT: آلزایمر-تمرین، ADRSV: آلزایمر-رزوراترول، ADTRSV: آلزایمر-تمرین-رزوراترول

همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ( $p = 0.015$ )، ADRSV ( $p = 0.027$ ) و ADTRSV ( $p = 0.0001$ ) نسبت به AD؛ و ADTRSV نسبت به گروه ADT ( $p = 0.038$ ) و ADRSV ( $p = 0.021$ ) مشاهده شد (نمودار ۳).

در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها تفاوت معنی‌داری را در میزان تغییرات بیان ژن SIRT1 بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف نشان داد ( $F = 14/877$ ,  $p = 0.0001$ ) (نمودار ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان ژن SIRT1 در گروه‌های AD ( $p = 0.0001$ )، ADT ( $p = 0.026$ ) و ADRSV ( $p = 0.014$ ) نسبت به NO وجود دارد.



نمودار ۳. مقایسه اثر تمرین و رزوراترول بر سطوح بیان ژن SIRT1 هیپوکامپ در در گروه‌های مختلف (در سطح  $p > 0.05$ ).  
 a تفاوت با گروه NO، b تفاوت با گروه AD، c تفاوت با NO، ADTRSV: نرمال، AD: آلزایمر، ADT: آلزایمر-تمرین، ADRSV: آلزایمر-رزوراترول، ADTRSV: آلزایمر-تمرین-رزوراترول

## بحث

بافت هیپوکامپ موش‌ها شده و به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی بیان ژن  $PGC1-\alpha$  افزایش داشت (۱۹). در موش‌های پیر نشان داده شد که فعالیت ورزش شنا باعث بهبود مسیر  $AMPK/PGC-1\alpha/SIRT1$  بافت هیپوکامپ می‌شود و از این طریق آپوپتوز و التهاب را در مغز سرکوب می‌کند (۲۰).  $AMPK$  به عنوان حسگر متابولیسم انرژی عمل می‌کند و می‌تواند محرک‌هایی را از تغییرات نسبت  $AMP/ATP$  دریافت کند. تغییرات در سطوح  $ATP$ ،  $ADP$  و  $AMP$  باعث فعال شدن  $AMPK$  می‌شود. علاوه بر این، فعالیت ورزشی با تغییر نسبت  $NAD^+/NADH$  باعث فعال شدن  $AMPK$  می‌شود.  $AMPK$  هم سرعت تولید  $ATP$  میتوکندری را برای کنترل سرعت متابولیسم انرژی و هم فعال کردن  $SIRT1$  را برای فسفریله کردن  $PGC-1\alpha$  برای میانجیگری پویایی میتوکندری، بازیابی عملکرد میتوکندری و فعالیت میتوکندریایی افزایش می‌دهد. فعالیت مسیرهای مختلف اتوفازای میتوکندری را از طریق  $AMPK$  واسطه می‌کند. یکی از این مسیرها،  $AMPK/PGC-1\alpha/SIRT1$  است، که در آن  $AMPK$  و  $SIRT1$  ارتباط نزدیکی در تنظیم انرژی، متابولیسم و پیری دارند و می‌توانند به طور متقابل فعالیت‌های یکدیگر را تقویت کنند (۲۱).  $NAD^+$  فعالیت  $SIRT1$  را با فعال کردن  $AMPK$  افزایش می‌دهد و منجر به استیل‌زدایی  $PGC-1\alpha$  می‌شود، بنابراین مسیر سیگنالینگ  $AMPK/PGC-1\alpha/SIRT1$  را فعال می‌کند (۲۲). با توجه به این نتایج، فعالیت ورزشی می‌تواند سلامت میتوکندری را از طریق بیوژنز میتوکندری و حذف میتوکندری‌های آسیب دیده/ناکارآمد از طریق اتوفازای بهبود بخشد. همچنین بیان شده که فعالیت ورزشی باعث افزایش  $BDNF$  و گیرنده آن، تیروزین کیناز  $B$  شده و از مسیر  $MAPK-2/ERK1$  باعث فعال شدن  $PKA$  شده و در نهایت  $cAMP$  را فعال می‌کند. آزاد شدن کلسیم به دنبال انقباض عضلانی نیز باعث فعال شدن کالمودولین، کلسینورین و کالمودولین کیناز شده و در نتیجه باعث افزایش فعالیت  $SIRT1$ ،  $PGC-1\alpha$  و  $PPAR$  می‌شود (۲۳).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای  $AD$  باعث کاهش معنی‌دار در بیان ژن  $AMPK/PGC-1\alpha/SIRT1$  شد. کاهش فعالیت مسیر سیگنالینگ  $AMPK/PGC-1\alpha/SIRT1$  ارتباط نزدیکی با پاتوژنز  $AD$  دارد.  $AMPK$  می‌تواند  $SIRT1$  را با افزایش سطوح نیکوتین امید آدنین دی نوکلئوتید ( $NAD^+$ ) در سلول‌ها فعال کرده و منجر به فعال‌سازی  $PGC1\alpha$  شود (۱۳). پژوهشی نشان داده که  $A\beta_{25-35}$  از طریق تضعیف مسیر سیگنالینگ  $AMPK/PGC-1\alpha/SIRT1$  بیوژنز میتوکندریایی را در نورون‌های هیپوکامپ مهار می‌کند (۱۴). همراستا با نتایج پژوهش حاضر، Panes و همکاران (۲۰۲۰) در مدل‌های حیوانی  $AD$  نشان دادند که بیان ژن  $SIRT1/PGC-1\alpha$  کاهش یافته که نشان‌دهنده عملکرد معیوب بیوژنز میتوکندری در  $AD$  است (۱۵). Jia و همکاران (۲۰۲۳) نیز مشاهده کردند که القای  $AD$  با کاهش بیان ژن  $AMPK$ ،  $SIRT1$  و  $PGC-1\alpha$  در هیپوکامپ موش همراه است (۱۶). مطالعات اختلال در عملکرد میتوکندری در بیماری  $AD$  را نشان می‌دهد. اختلال در عملکرد میتوکندری بافت مغز بیماران  $AD$  باعث کاهش جذب گلوکز، کاهش فعالیت آنزیم‌های مربوط به چرخه اسید تری کربوکسیلیک میتوکندری و فسفوریلاسیون اکسیداتیو شده و با افزایش  $ROS$  باعث آپوپتوز می‌شود (۱۷). افزایش تجمع  $A\beta$  ناشی از  $AD$  می‌تواند فعالیت  $AMPK$  و  $CaMKK\beta$  را کاهش و فعالیت سیستم یوبیکوتین-پروتازوم را افزایش دهد. این تغییرات با تجزیه  $PGC-1\alpha$  همراه بوده و در نهایت عملکرد  $DNA$  میتوکندری نورون‌ها را مختل کرده و منجر به مرگ سلول‌های وابسته به میتوکندری می‌شود (۱۸). بنابراین بهبود هموستاز میتوکندری برای بازگرداندن عملکرد طبیعی میتوکندری برای پیشگیری یا درمان  $AD$  مفید است. یکی از روش‌های بهبود عملکرد میتوکندری در مغز  $AD$ ، فعالیت ورزشی منظم می‌باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت ورزشی بیان ژن  $AMPK/PGC-1\alpha/SIRT1$  را در هیپوکامپ موش‌های  $AD$  افزایش داد. اخیراً Azarian و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که القای  $AD$  باعث کاهش معنی‌دار در بیان ژن  $PGC1-\alpha$



اثر فعالیت ورزشی را بر این شاخص‌ها بهبود بخشیده و باعث هم‌افزایی در نتایج شود. در همین راستا Liao و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تمرین و RSV و ترکیب این دو باعث افزایش افزایش بیان ژن AMPK و SIRT1، کاهش بیان ژن P53 و نسبت Bax/Bcl-2 در موش‌های مسن می‌شود (۲۹). همچنین در پژوهشی دیگر نشان داده شد که ترکیب تمرین و RSV می‌تواند باعث فعال‌سازی سینرژیکی سیگنالینگ SIRT1 و PI3K/Akt بافت قلب موش‌های مسن شود (۳۰). از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم بررسی نسبت AMP/ATP و نسبت NAD<sup>+</sup>/NADH اشاره کرد که یکی از مهمترین عامل فعال‌شدن AMPK به دنبال فعالیت ورزشی می‌باشد. از آنجایی که بروز بیماری AD طی دوره طولانی مدت رخ می‌دهد، القای بیماری AD با استفاده از Aβ شاید نتواند نشانه‌های بیماری را به خوبی نشان دهد.

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای AD بیان ژن AMPK/PGC-1α/SIRT1 را کاهش داد. تمرین هوایی میزان بیان ژن این شاخص‌ها در هیپوکامپ موش‌های AD بهبود بخشید. همچنین RSV نیز اثر مثبتی بر این مسیر سیگنالینگ داشت. با این وجود تاثیر همزمان تمرین و RSV بر این مسیر بیشتر از اثر هر یک به تنهایی بود که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی تمرین و مکمل بود. بنابراین با توجه به نتایج پژوهش حاضر و پژوهش‌های قبلی که در این زمینه انجام شده، توصیه می‌شود در بیماری AD از هر دو متغیر تمرین و مکمل RSV برای بهبود عملکرد میتوکندری و وضعیت متابولیسمی استفاده شده تا با بهبود عملکرد سلولی سیستم عصبی مرکزی مشکلات ناشی از AD کاهش یافته و یا به تاخیر افتد.

از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش بیان ژن AMPK، PGC-1α و SIRT1 به دنبال مصرف RSV در موش‌های AD بود. محققان اثر محافظتی عصبی RSV را با استفاده از مدل‌های تجربی مختلف در شرایط *in vitro* و *in vivo* در نمونه‌های AD بررسی کردند. نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داد که اختلالات ناشی از AD به طور قابل توجهی توسط RSV از طریق تعدیل مکانیسم‌های زیربنایی و سیگنالینگ مختلف بهبود می‌یابد و می‌تواند شروع و پیشرفت AD را کندتر کند. همچنین نشان داده شد که پیش‌درمانی با RSV باعث بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش SIRT1 در بیماران مبتلا به AD می‌شود (۲۴). در پژوهشی دیگر نشان داده شد که RSV توانایی بهبود عملکرد میتوکندری را با تعدیل فعال‌سازی و بیان ژن PGC-1α که مسئول بیوژنز میتوکندری است، دارد (۲۵). همان‌طور که پیش‌تر بیان شد فعال‌سازی PGC-1α به AMPK نسبت داده می‌شود. به نظر می‌رسد بیوژنز میتوکندری توسط SIRT1 با دخالت AMPK القا می‌شود. در موش‌های که SIRT آن‌ها مهار شد، نشان داده شد که مصرف روزانه ۲۵ و ۲۱۵ میلی‌گرم RSV تاثیر معنی‌داری بر افزایش AMPK و محتوای mtDNA، تنفس میتوکندری و PGC-1α نداشت (۲۶). این نتیجه نشان می‌دهد که اثر محافظتی RSV بر SIRT1 واسطه می‌شود. علاوه بر این اثر محافظتی عصبی RSV در سلول‌های عصبی از طریق تحریک SIRT1 حمایت شد. RSV سیگنالینگ NF-κB را در سلول‌های عصبی مهار کرد و این سلول‌ها را در برابر سمیت Aβ وابسته به میکروگلیا محافظت می‌کند (۲۷). Ma و همکاران (۲۰۱۹) مطالعه‌ای را با تجویز RSV با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در موش‌های دیابتی و استار مدل AD انجام دادند. نتایج نشان داد که RSV قادر به افزایش میزان SIRT1 است (۲۸). از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش بیان ژن AMPK، PGC-1α و SIRT1 در گروه ترکیب تمرین و RSV نسبت به دیگر گروه‌های تجربی بود. همان‌طور که اشاره شد هم تمرین ورزشی و هم RSV می‌تواند باعث افزایش بیان ژن AMPK، PGC-1α و SIRT1 در مدل‌های مختلف موش‌ها (AD، پیر و دیابت) شوند. به نظر می‌رسد RSV توانست

## ملاحظات اخلاقی

این مطالعه حاصل یک طرح پایان نامه است با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله املی با کد اخلاق IR.IAU.AMOL.REC.1402.112 به ثبت رسیده است.

## منابع

- تعارض و منافع**
- نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.
1. Ngolab J, Honma P, Rissman RA. Reflections on the utility of the retina as a biomarker for Alzheimer's disease: a literature review. *Neurology and Therapy* 2019;8:57-72.
  2. Ju Y, Tam KY. Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research* 2022;17(3):543.
  3. Cioffi F, Adam RHI, Broersen K. Molecular mechanisms and genetics of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2019;72(4):981-1017.
  4. Kjøbsted R, Hingst JR, Fentz J, Foretz M, Sanz M-N, Pehmøller C, et al. AMPK in skeletal muscle function and metabolism. *The FASEB Journal* 2018;32(4):1741.
  5. Koo J-H, Kang E-B, Oh Y-S, Yang D-S, Cho J-Y. Treadmill exercise decreases amyloid- $\beta$  burden possibly via activation of SIRT-1 signaling in a mouse model of Alzheimer's disease. *Experimental Neurology* 2017;288:142-52.
  6. Engels M, Van der Flier W, Stam C, Hillebrand A, Scheltens P, Van Straaten E. Alzheimer's disease: the state of the art in resting-state magnetoencephalography. *Clinical Neurophysiology* 2017;128(8):1426-37.
  7. Moussa C, Hebron M, Huang X, Ahn J, Rissman RA, Aisen PS, et al. Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation* 2017;14:1-10.
  8. Witte AV, Kerti L, Margulies DS, Flöel A. Effects of resveratrol on memory performance, hippocampal functional connectivity, and glucose metabolism in healthy older adults. *Journal of Neuroscience* 2014;34(23):7862-70.
  9. 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.
  10. Allard J, Graham-Hyatt S, Mulgrave V, Alsayegh A. Exercise-induced upregulation of APOE expression is attenuated by dietary supplementation with resveratrol. *Physiology* 2023;38(S1):5735198.
  11. 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. *Journal of Ilam University of Medical Sciences* 2019; 27 (1) :1-12.
  12. 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.
  13. Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, Lagouge M, Noriega L, Milne JC, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD<sup>+</sup> metabolism and SIRT1 activity. *Nature* 2009;458(7241):1056-60.
  14. Dong W, Wang F, Guo W, Zheng X, Chen Y, Zhang W, et al. A $\beta$ 25-35 suppresses mitochondrial biogenesis in primary hippocampal neurons. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2016;36:83-91.
  15. Panes JD, Godoy PA, Silva-Grecchi T, Celis MT, Ramirez-Molina O, Gavilan J, et al. Changes in PGC-1 $\alpha$ /SIRT1 signaling impact on mitochondrial homeostasis in amyloid-beta peptide toxicity model. *Frontiers in Pharmacology* 2020;11:709.
  16. Jia J, Yin J, Zhang Y, Xu G, Wang M, Jiang H, et al. Thioredoxin-1 Promotes Mitochondrial Biogenesis Through Regulating AMPK/Sirt1/PGC1 $\alpha$  Pathway in Alzheimer's Disease. *ASN neuro*. 2023;15:17590914231159226.
  17. Walia V, Kaushik D, Mittal V, Kumar K, Verma R, Parashar J, et al. Delineation of neuroprotective effects and possible benefits of antioxidant therapy for the treatment of Alzheimer's diseases by targeting mitochondrial-derived reactive oxygen species: bench to bedside. *Molecular Neurobiology* 2021;59(1):657-680.
  18. Silva P, Vauzour D. Wine polyphenols and neurodegenerative diseases: An update on the molecular mechanisms underpinning their protective effects. *Beverages*. 2018;4(4):96.
  19. Azarian F, Farsi S, Hosseini SA, Azarbayjani MA. Effect of endurance training with saffron consumption on PGC1- $\alpha$  gene expression in hippocampus tissue of rats with Alzheimer's disease. *Annals of Military and Health Sciences Research* 2020;18(1).
  20. Lin J-Y, Kuo W-W, Baskaran R, Kuo C-H, Chen Y-A, Chen WS-T, et al. Swimming exercise stimulates IGF1/PI3K/Akt and AMPK/SIRT1/PGC1 $\alpha$  survival signaling to suppress apoptosis and inflammation in aging hippocampus. *Aging* 2020;12(8):6852.

21. Sung B, Chung JW, Bae HR, Choi JS, Kim CM, Kim ND. Humulus japonicus extract exhibits antioxidative and anti-aging effects via modulation of the AMPK-SIRT1 pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2015;9(5):1819-26.
22. Gerhart-Hines Z, Rodgers J, Bare O, Lerin C, Kim S, Mostoslavsky R. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1a. *EMBO Journal* 1923;26:1913.
23. Ghasemi E, Afzalpour ME, Zarban A. The effects of 10 weeks of high-intensity interval training and green tea supplementation on serum levels of sirtuin 1 and catalase in overweight women. *Sport Physiology* 2016;8(32):169-84.
24. Cosín-Tomás M, Senserrich J, Arumí-Planas M, Alquézar C, Pallàs M, Martín-Requero Á, et al. Role of resveratrol and selenium on oxidative stress and expression of antioxidant and anti-aging genes in immortalized lymphocytes from Alzheimer's disease patients. *Nutrients*. 2019;11(8):1764.
25. Scarpulla RC. Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 2011;1813(7):1269-78.
26. Price NL, Gomes AP, Ling AJ, Duarte FV, Martin-Montalvo A, North BJ, et al. SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metabolism* 2012;15(5):675-90.
27. Maugeri A, Barchitta M, Mazzone MG, Giuliano F, Basile G, Agodi A. Resveratrol modulates SIRT1 and DNMT functions and restores LINE-1 methylation levels in ARPE-19 cells under oxidative stress and inflammation. *International Journal of Molecular Sciences* 2018;19(7):2118.
28. Ma X, Sun Z, Han X, Li S, Jiang X, Chen S, et al. Neuroprotective effect of resveratrol via activation of Sirt1 signaling in a rat model of combined diabetes and Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience* 2020;13:1400.
29. Liao Z-Y, Chen J-L, Xiao M-H, Sun Y, Zhao Y-X, Pu D, et al. The effect of exercise, resveratrol or their combination on Sarcopenia in aged rats via regulation of AMPK/Sirt1 pathway. *Experimental Gerontology* 2017;98:177-83.
30. Lin C-H, Lin C-C, Ting W-J, Pai P-Y, Kuo C-H, Ho T-J, et al. Resveratrol enhanced FOXO3 phosphorylation via synergetic activation of SIRT1 and PI3K/Akt signaling to improve the effects of exercise in elderly rat hearts. *Age* 2014;36:1-10.