

مقاله پژوهشی

تأثیر چاقی و مکمل‌یاری عصاره سیر در کنار فعالیت هوازی بر بیان ژن‌های فاکتور نورون‌زایی مشتق‌شده از مغز، تیروزین کیناز B و حافظه فضائی کوتاه مدت رت‌های نر ویستار

بهروز اسفندیاری^۱، رضا رضائی شیرازی^{۱*}، سیدجواد ضیاءالحق^۲، سعید قربانی^۱، حبیب اصغرپور^۱

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

*مسئول مکاتبات: rezaii725@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1945458.1343

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۳۰

چکیده

میزان اختلال عملکرد شناختی در چاقی چند سالی است بسیار مورد تحقیق قرار گرفته‌است. همچنین تأثیر عصاره سیر و فعالیت هوازی بر این اختلالات شناختی در افراد چاق همچنان ناشناخته است. ۴۰ سر رت نر ویستار جهت القاء چاقی به مدت ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند و در نهایت ۳۰ سر رت چاق با استفاده از شاخص Lee شناسایی شده و سپس به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، چاق، سیر، تمرین هوازی، سیر+تمرین هوازی تقسیم شدند. تمرینات هوازی شامل ۳۰ دقیقه در روز، ۸ و ۵ روز در هفته و عصاره سیر و استویا با غلظت ۲۵۰ mg/kg نیز به آب مصرفی روزانه اضافه شد. بافت مغز جهت مطالعات بیان ژن به روش real-time PCR به آزمایشگاه ارسال شد. از آزمون ANOVA یکطرفه و آزمون تعقیبی LSD جهت تعیین اختلاف بین گروه‌ها استفاده و سطح معنی‌داری ۰.۰۵ در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد در مقایسه با گروه کنترل، ۱۲ هفته تغذیه پرچرب، وزن بدن موش‌های صحرائی را افزایش داد ($p < 0/05$) و حتی در طول مداخلات عصاره‌ای ۸ هفته‌ای و تمرینات، همچنان نسبت به گروه کنترل بالاتر باقی ماند. بعلاوه مقادیر بیان ژن BDNF کاهش غیرمعنی‌دار داشته ($p > 0/05$) و مقادیر بیان ژن TrkB، نیز در ۱۲ هفته رژیم پرچرب در موش‌های صحرائی، نسبت به گروه کنترل سالم، افزایش غیرمعنی‌دار داشت ($p > 0/05$). از طرفی، در ماز Y، درصد تناوب در موش‌های صحرائی چاق به طورمعنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($p < 0/05$). القاء رژیم پرچرب در کودکی موجب تغییرات خفیف ژنی در موش‌های صحرائی نر ویستار شده و همچنین بنظر می‌رسد ترکیب فعالیت‌های بدنی هوازی و عصاره‌ای موثرتر از مداخله‌های هوازی و عصاره‌ای به تنهایی باشد.

کلمات کلیدی: چاقی، اختلال شناختی، ماز Y، فعالیت بدنی هوازی، عصاره سیر.

مقدمه

اختلالات عصبی و عملکرد حافظه می‌شود. برای مثال بیان شده‌است میزان شیوع بیماری آلزایمر و اختلالات حافظه در بزرگسالان چاق شایع‌تر است (۳). میزان اختلال عملکرد شناختی در چاقی چند سالی است که

چاقی مهمترین علت مرگ قابل پیشگیری است و با بیماری‌های متعدد از جمله قلب و عروق همراه است از جمله فشار خون بالا، دیابت نوع ۲ و سرطان. ادبیات رو به رشدی نشان می‌دهد چاقی موجب

بوقوع پیوسته است و این کاهش با القاء BDNF برون زا به حد نرمال حتی در سطح هیپوتالاموس و قشر مخ می‌رسد (۲۰). از طرفی، سیر از دیرباز بعنوان یک ضد التهاب طبیعی شناخته شده‌است که با اثرگذاری بر بسیاری از سازوکارهای سلولی نقش بارزی در کاهش التهاب سیستمی بدن دارد. بسیاری از تحقیقات اثرات سیر را وابسته به ترکیبات سولفور آن مثل آیین، آلیسین، دی سولفید آلیل پروپیل، دی آلیل تری سولفید و ... میدانند (۲۱).

سیر یا اجزای حاوی گوگرد آن دارای خواص ضد چاقی در مطالعات آزمایشگاهی، حیوانی و انسانی است. بعلاوه، آلیسین به طور بالقوه از چاقی و بیماریهای متابولیک مرتبط با افزایش بیان ژن‌های مخصوص چربی قهوه ای، جلوگیری می‌کند. در موش‌های چاق القاء شده با رژیم غذایی، مصرف خوراکی عصاره سیر تخمیر شده به مدت ۸ هفته باعث کاهش وزن بدن، چربی سوزی، تری گلیسیرید و کلسترول کل و چربی زایی را سرکوب می‌کند. در موش‌های چاق تحت درمان با روغن سیر، وزن بدن کاهش یافت و از آسیب کبدی جلوگیری شد (۳۱). علاوه براین، تاثیر سیر و عصاره ی آن بر اختلال حافظه نیز مورد بررسی قرار گرفته‌است (۳۳). برای مثال نشان داده شده‌است القاء سیر موجب افزایش ۵ هیدروکسی تریپتوفان که یکی از مهمترین اجزاء تاثیر گذار بر حافظه در سیستم عصبی مرکزی است می‌شود (۹). همچنین نشان داده شده‌است سیر موجب افزایش BDNF در سیستم عصبی مرکزی می‌شود که جزو ساختار اصلی در یادگیری و حافظه است (۱۶). بعلاوه بطور غیرقابل انکاری، مطالعات مختلف نشان می‌دهد فعالیت بدنی مختلف بالاخص هوازی بر بهبود حافظه و یادگیری در سطح سیستم عصبی مرکزی موثر است (۲۴).

بسیار مورد تحقیق قرار گرفته‌است (۴). بنظر می‌رسد افراد چاق دارای اختلال در تصمیم‌گیری، حافظه فعال و برنامه‌ریزی هستند که می‌تواند آن‌ها را در اجرای یک عملکرد دچار مشکل کند (۲۲). همچنین برخی مطالعات از ارتباط منفی میان شاخص توده بدنی (BMI) و نسبت دور شکم به باسن (WHR) با وضعیت حافظه و عملکرد اجرایی گزارش کرده‌اند (۲۸).

اگرچه مطالعاتی نیز از تاثیرات کم و ناچیز از شاخص‌های آنتروپومتریک چاقی بر حافظه و یادگیری وجود دارد (۴۰). هیپوکامپ یک ساختار مغزی مهم است که مسئول یادگیری و حافظه است. اگر اندازه هیپوکامپ کاهش یابد، باعث مشکلات شناختی و زوال عقل می‌شود. چاقی با کاهش اندازه هیپوکامپ و عملکردهای اجرایی مغز مرتبط است (۲۳). همچنین مطالعات روبه رشدی از کاهش حجم مغز، هیپوکامپ، لوب پیشانی در بیماران دچار چاقی و اضافه وزن خبر می‌دهند (۳۹).

سازوکارهای متعددی تاثیر چاقی و افزایش بافت آدیپوسیت و تغییرات ساختاری بافت مغز بالاخص هیپوکامپ را توجیه می‌کنند از جمله افزایش التهاب به دلیل افزایش بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی در آدیپوسیت‌ها نظیر اینترلوکین ۶ (IL₆) و تومور نکروز دهنده آلفا (TNF- α) (۳۰)، اختلال در پروتئین آمیلوئید بتا در هیپوکامپ (۱) و همچنین نارسائی‌های بیان ژن‌های پروتئین تاو (۲۷) بیان شده‌است. بعلاوه یکی یگر از جایگاه‌های تاثیرپذیر مهم ناشی از چاقی، کاهش یا اختلال بیان عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) و گیرنده‌های آن است که بسیار متاثر از متابولیسم آدیپوسیت‌ها چه در سطح بیان ژن و چه در سطح سرمی است (۳۴). بطور شگفت‌انگیزی بیان شده‌است کاهش BDNF و TrKB، هم در نمونه‌های انسانی و هم مدل‌های حیوانی چاق

برای موش‌های صحرائی چاق اصلاح شده‌است. جدول ۱ پروتکل تمرین را نشان می‌دهد.

آماده‌سازی عصاره سیر: جهت تهیه عصاره سیر، ابتدا سیر تازه تهیه و در شرکت دارو اسانس شهرستان گرگان به عصاره سیر فراوری شد. سیر تمیز، خرد شده و به مدت ۴۸ ساعت در ۹۶ درصد اتانول تمیز و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۰۰ گرم سانتی‌فریوژ شد. پس از آن، مایع رویی قبل از تبخیر در دمای ۴۰- درجه سانتیگراد فیلتر شده و عصاره در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد نگه داشته شد. هنگامی که غلظت نهایی مورد نیاز بود، عصاره های یخ زده با نرمال سالین مجدداً آماده شدند. عصاره سیر، به مقدار ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، در آب مصرفی روزانه اضافه شد (۷).

آزمون حافظه فضائی بازشناختی در ماز Y: از آزمون ماز Y، جهت سنجش میزان حافظه کوتاه مدت از نوع بازشناختی استفاده می‌شود و این آزمون بر اساس حس کنجکاوای ذاتی جوندگان برای اکتشاف محیط‌های جدید بنا شده‌است و هیچگونه محرک مثبت یا منفی در ماز قرار نمی‌گیرد. در این آزمون میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری از طریق مشاهده و اندازه‌گیری رفتار تناوب خود به خودی حیوان در یک جلسه کاری مورد بررسی قرار گرفت. ماز مربوط به این آزمون از جنس پلگسی گلاس بود و هر بازو دارای ابعاد ۱۵*۳۰*۴۰ بوده و بازوها از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل می‌گردیدند. برای انجام آزمون هر موش در انتهای یکی از بازوهای ماز قرار می‌گرفت و اجازه داشت به صورت آزادانه در مدت ۵ دقیقه در بازوهای ماز حرکت کند. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده نمودن ثبت می‌گردید. رفتار تناوب به عنوان ورود های موفق و پشت سر هم به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه‌تایی در نظر گرفته می‌شد. بدین

سازوکارهای متعددی در تاثیر فعالیت بدنی هوازی بر حافظه برشمرده اند. برای مثال تحقیقات نشان می‌دهد فعالیت بدنی هوازی می‌تواند بیان ژن های BDNF هیپوکامپ و قشر مخ را افزایش دهد (۲۶). از طرفی شدت و مدت فعالیت‌های هوازی می‌تواند اثرات مختلفی بر بیان ژن BDNF و گیرنده‌های آن داشته باشد (۸). با توجه به تاثیرات چاقی بر حافظه و BDNF پژوهش حاضر درصدد بررسی اثرات مکمل‌یاری سیر به‌همراه فعالیت هوازی بر کاهش عوارض ناشی از چاقی در رت‌های نر ویستار است.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری: این پژوهش تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود با کد IR.IAU.SHAHROOD.REC.1399.006 در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این دانشگاه به انجام رسید. بعد از پایان ۳ هفتگی (پایان شیرخوارگی)، ۴۰ سر موش صحرائی نر ویستار در چرخه روشنایی و تاریکی ۸: ۱۶ ساعت در قفس پلی کربنات نگهداری شدند. گروه کنترل از جیره موش معمولی و در گروه‌های القاء چاقی به مدت ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب (۱۲) استفاده شد. رت‌های چاق پس از ۱۲ هفته با استفاده از شاخص لی (۳۷) شناسایی شده و سپس به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل سالم، کنترل چاق، چاق به‌همراه سیر، چاق به‌همراه تمرین و چاق به‌همراه سیر و تمرین تقسیم شدند.

پروتکل تمرین: تمرینات هوازی (۳۰ دقیقه در روز، ۸ متر بر دقیقه و ۵ روز در هفته) بر روی تردمیل جوندگان در موش‌هایی که رژیم غذایی پرچربی داشتند انجام شد. با توجه به ظرفیت عملکرد حرکتی موش‌های صحرائی چاق و همچنین احتمال آسیب به حیوانات، پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط انتخاب شد (۳). لازم به ذکر است پروتکل حاضر

دستگاه Applied BioSystem DNA Analyzer، طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت (۳۵). به منظور طراحی پرایمرها، توالی‌های مربوطه از سایت NCBI گرفته شده است. پرایمر ژن‌های مدنظر و بتا اکتین توسط نرم‌افزارهای Genrunner و Oligo طراحی و بررسی شد. اختصاصی بودن پرایمرها برای ژن‌های هدف به وسیله‌ی برنامه‌ی BLAST بررسی شد. در این مطالعه از ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده شده‌است. توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول ۲ نشان داده شده‌است.

تجزیه و تحلیل آماری: جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده در گروه‌ها بعد از تعیین نرمال بودن جامعه توسط آزمون کلوموگروف-اسمیرنوف و همچنین آزمون برابری واریانس‌ها (لوین)، از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی LSD جهت تعیین اختلاف بین گروه‌ها در متغیر وزن و مسافت دویدن بر روی تردمیل جواندگان استفاده شد. بعلاوه سطح معنی‌داری در این پژوهش ۵ درصد ($p < 0.05$) در نظر گرفته شد.

ترتیب درصد رفتار تناوبی که میزان حافظه فضایی را در حیوان مشخص می‌کند، عبارت است از تعداد بازوهای تریادهای غیر تکراری تقسیم بر کل بازوهای تریادهای منهای ۲ و چون به صورت درصد بیان می‌شود کل داده‌ها در عدد یکصد ضرب خواهد شد (۱۸).

آماده‌سازی بافتی برای بیان ژن: بعد از ۲۴ ساعت از آزمون حافظه فضایی کوتاه مدت، رت‌ها ۱۲ ساعت ناشتا با دسترسی آزاد به آب نگهداری شده و در نهایت فاصله زمانی ساعت ۹ تا ۱۱ صبح با رعایت پروتکل‌های کمیته اخلاق با داروی بیهوشی کتامین و زایلازین بصورت درون صفاقی بیهوش و آماده نمونه گیری شدند. بعد از خارج کردن خون از قلب، استخوان جمجمه برداشته شده و مغز رت‌ها بلافاصله در میکروتیوب حاوی RNAsHield قرار گرفته و در نیتروژن مایع جهت انجام مطالعات بیان ژن به آزمایشگاه مربوطه فرستاده شد. اندازه گیری بیان ژن-های BDNF و TrKB با تکنیک Real time-PCR، سنجش و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش-PCR، با استفاده RealQ Plus 2x Master Mix Green در

جدول ۱- پروتکل تمرین هوازی در موش‌های صحرائی چاق

سرعت (m/min)	زمان (min)	شیب (%)	تکرار (day/week)
۸	۵	۰	۵
۱۱	۵		
۱۵	۲۰		
۸	۱۰		

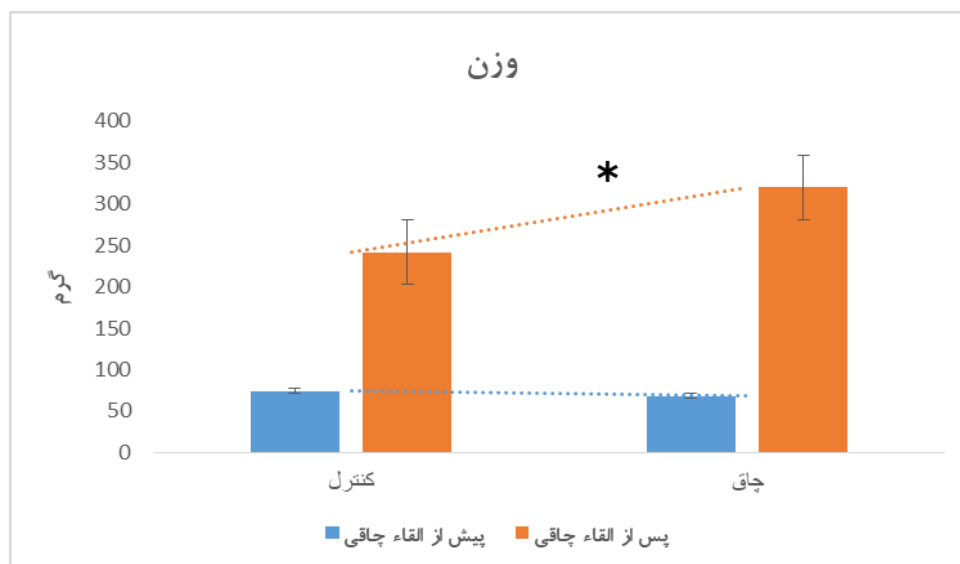
جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده

اندازه محصول (bp)	توالی	نام ژن
۱۷۵	F: GGGTGAACAAAGTGGCTGT R: ATGTTGTCAAACGGCACAAA	BDNF
۱۷۰	F: TTCCGGACTGTCTGTTACCC R: CATGGAGCTTGGAGAGAAGG	TrKB
۱۸۳	F: GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG R: ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA	GAPDH (Housekeeping)

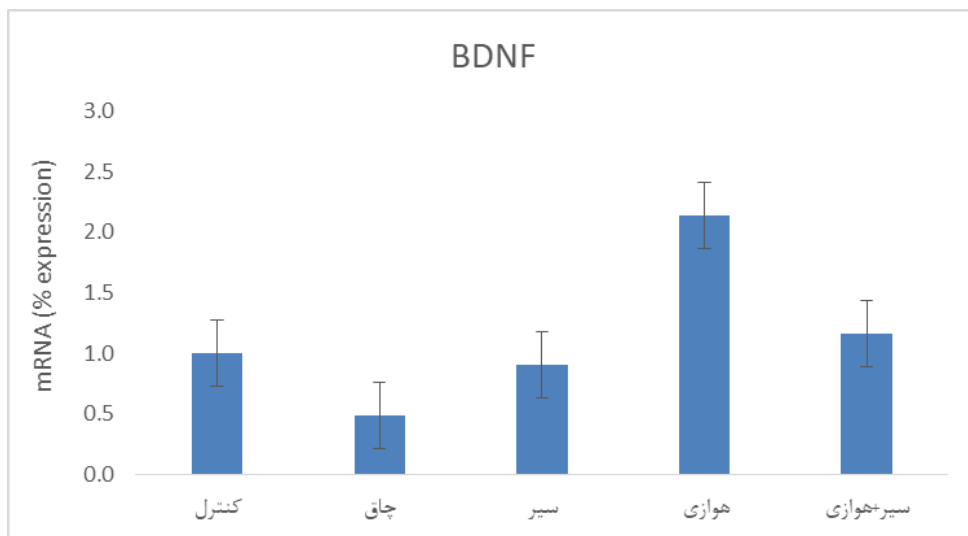
نتایج

در مقایسه با گروه کنترل، ۱۲ هفته تغذیه پرچرب، وزن بدن موش‌های صحرائی را افزایش داد ($p = 0/013$) و حتی در طول مداخلات عصاره‌ای ۸ هفته‌ای و تمرینات، همچنان نسبت به گروه کنترل بالاتر باقی ماند (شکل ۱). نتایج بیان ژن در Real-time PCR، نشان داد مقادیر بیان ژن BDNF در نتیجه ۱۲ هفته رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل که رژیم استاندارد دریافت کرده بودند، کاهش غیرمعنی‌دار داشت ($p = 0/723$). از طرفی در مواجهه با مداخلات ۸ هفته‌ای تمرینی و عصاره‌ای، اگرچه افزایش ژن حتی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد اما این تغییرات به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (شکل ۲). بعلاوه، اگرچه مقادیر بیان ژن TrkB، در ۱۲ هفته رژیم پرچرب در موش‌های صحرائی، نسبت به گروه کنترل سالم، افزایش داشت، اما این میزان از لحاظ آماری معنی‌دار نبود و تفاوتی میان دو گروه وجود نداشت ($p = 0/385$).

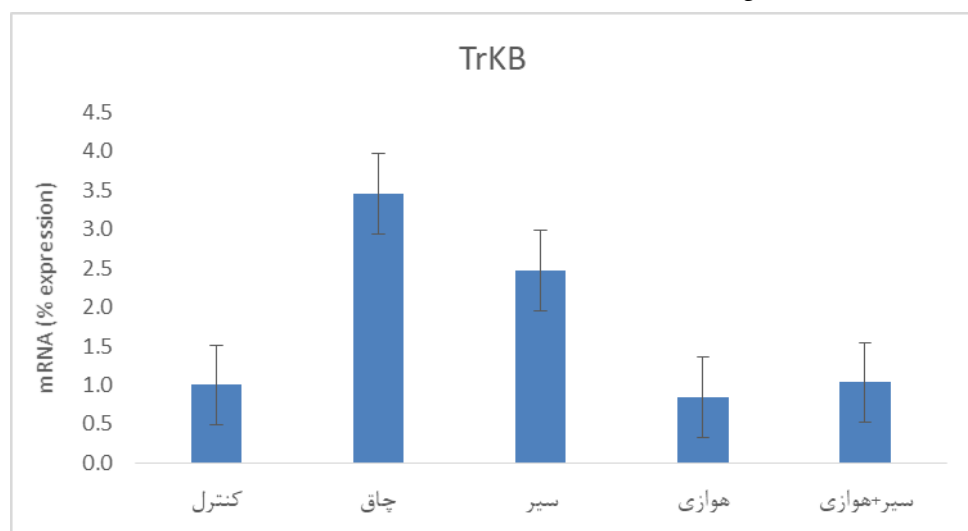
در گروه‌های مداخله نیز اگرچه این گیرنده‌ها به اندازه گروه کنترل نزدیک شده بودند اما بلحاظ آماری معنی‌دار نبودند (شکل ۳). نتایج آزمون ماز Y نشان داد که درصد تناوب در موش‌های صحرائی چاق به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل است ($p = 0/034$) (شکل ۴). حتی در گروه‌های مداخله عصاره سیر ($p = 0/004$) و فعالیت هوازی ($p = 0/022$) نیز نسبت به گروه کنترل کمتر است. فقط در گروه‌های دریافت‌کننده سیر به همراه فعالیت هوازی ($p = 0/581$) درصد تناوب تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت (شکل ۵). همچنین میزان حافظه فضائی در گروه دریافت‌کننده عصاره سیر به همراه فعالیت بدنی نسبت به موش‌های صحرائی چاق دریافت‌کننده عصاره سیر ($p = 0/014$) افزایش معنی‌داری را نشان داد.



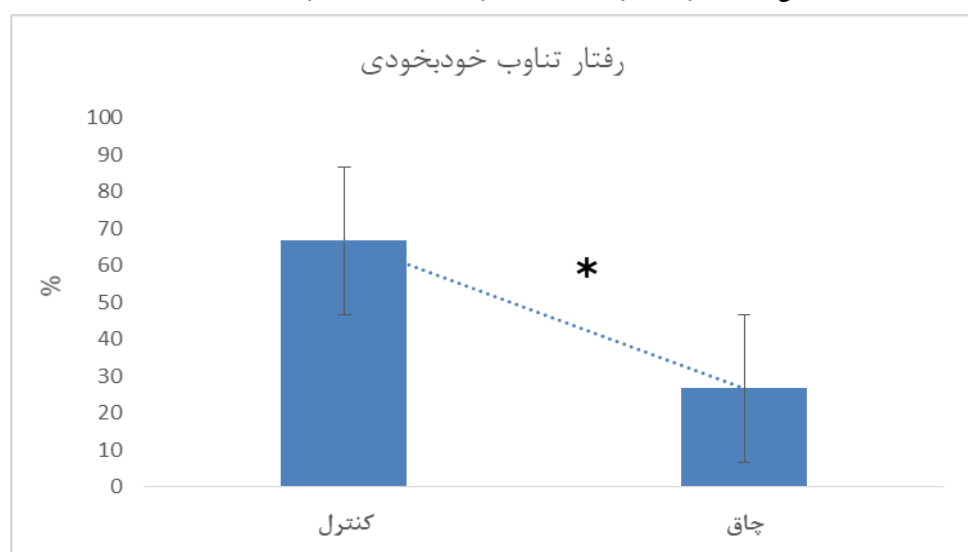
شکل ۱- تغییرات وزن قبل و بعد از رژیم پرچرب $p < 0/05$ *



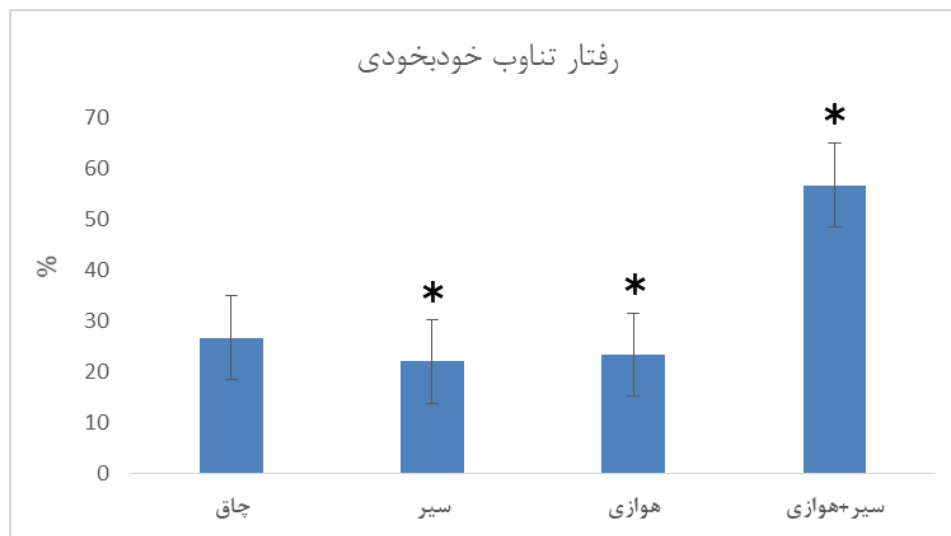
شکل ۲- تغییرات میزان بیان ژن BDNF در گروه‌های مختلف



شکل ۳- تغییرات میزان بیان ژن گیرنده BDNF در گروه‌های مختلف



شکل ۴- تغییرات حافظه فضائی در گروه‌های مختلف ($p < 0.05$)



شکل ۵- تغییرات حافظه فضائی در گروه‌های مختلف ($p < 0/05$)

بحث

نشان داده شده‌است سطح BDNF چه در سطح سرم و چه در سطح بیان ژن در اثر چاقی القاء شده با رژیم غذایی کاهش می‌یابد (۴۲) و با نتیجه پژوهش حاضر همسو هستند. دلایل متعددی در این زمینه ذکر شده‌است از جمله افزایش ترشح سایتوکاین‌های التهابی نظیر اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز دهنده الفا (۳۰) که اثرگذاری بر هیپوکامپ و حتی قشر مخ از بیان BDNF جلوگیری می‌کند. از طرفی اختلال در پروتئین آمیلوئید بتا در هیپوکامپ (۱) و همچنین نارسائی‌های بیان ژن‌های پروتئین تاو (۲۷) از دیگر سازوکارهای تاثیر چاقی بر کاهش BDNF ذکر شده‌است. بطور شگفت‌انگیزی بیان شده‌است کاهش BDNF و گیرنده‌های آن هم در نمونه‌های انسانی و هم مدل‌های حیوانی چاق بوقوع پیوسته است و این کاهش با القاء BDNF برون‌زا به حد نرمال حتی در سطح هیپوتالاموس و قشر مخ می‌رسد (۲۰). تحقیقات نشان می‌دهد فعالیت بدنی هوازی می‌تواند بیان ژن‌های BDNF هیپوکامپ و قشر مخ را افزایش دهد (۲۶). از طرفی شدت و مدت فعالیت‌های هوازی می‌تواند اثرات مختلفی بر بیان ژن BDNF و گیرنده‌های آن داشته باشد (۸). همچنین از تمرینات هوازی

پژوهش حاضر به بررسی تاثیر القاء چاقی در سنین پایین بر عوامل موثر بر حافظه و همچنین اثر مکمل‌یاری عصاره سیر به همراه فعالیت بدنی هوازی بر کاهش این عوارض پرداخته است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد میزان بیان ژن فاکتور نرون زائی مشتق شده از مغز (BDNF)، در اثر القاء رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل کاهش مختصر داشته و مداخلات عصاره‌ای و مخصوصاً تمرینی موجب افزایش بیان این ژن شده‌است. همچنین میزان بیان گیرنده اختصاصی فاکتور نرون زائی مشتق شده از مغز یعنی تیروزین کیناز B (TrKB)، نسبت به گروه کنترل در موش‌های صحرائی چاق افزایش یافته بود که در اثر مداخلات عصاره‌ای مخصوصاً ترکیب عصاره سیر و فعالیت هوازی و فعالیت هوازی به تنهایی، این کاهش بیشتر بود. از طرفی، در آزمون ماز Y که حافظه کاری و فضائی را مورد سنجش قرار می‌دهد، این فاکتور در موش‌های صحرائی چاق کاهش معنی‌دار نشان داد. بعلاوه در ترکیب عصاره سیر و فعالیت هوازی بیشترین مقدار حافظه فضائی مورد مشاهده قرار گرفت.

در رابطه با حافظه کوتاه مدت فضائی که در آزمون ماز Y به انجام رسید، پژوهش‌ها نشان می‌دهد الفاء رژیم پرچرب موجب نارسائی های شناختی و حافظه- ای هم در مدل‌های انسانی و هم حیوانی می‌شود (۳۸) و همسو با یافته‌های این پژوهش است. یافته‌های اخیر شواهدی را ارائه کرده‌اند که آشفتگی در بیان پایه ژن- های مرتبط با حافظه در داخل هیپوکامپ جایگاهی برای بروز این اختلالات است (۲۹).

اختلال متیلاسیون DNA یکی دیگر از سازوکارهای اختلال در تنظیم ژن هیپوکامپ مرتبط با چاقی است و شواهد قابل توجهی مبنی بر این سازوکار وجود دارد (۳۶).

یکی دیگر از جایگاه‌های اثرگذار بر نوروهای هیپوکامپ استرس اکسایشی و اثرتخریبی رادیکال های آزاد و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی است که موجب اختلال در حافظه کاری و یادگیری می‌شود (۱۰). عصاره سیر از چند سازوکار ممکن است بر حافظه و یادگیری اثرگذار باشد. ترکیبات فلانوییدی سیر یکی از مهم ترین ترکیبات اثرگذار بر نرون های سیستم عصبی مرکز است. فلانوییدها و سایر ترکیبات فنولی سیر موجب کاهش رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی است و می‌تواند قوام و ساختار نرون های هیپوکامپ را برقرار سازد (۵). اگرچه بنظر می‌رسد دوز دریافتی سیر در پژوهش فوق برای اثرگذاری به تنهایی عصاره سیر در موش‌های صحرائی چاق کم بوده است اما با مشاهده تغییرات رفتار تناوب در گروه ترکیب عصاره سیر و فعالیت هوازی بنظر می‌رسد این اثرات دچار هم افزایی شده و میزان تناوب ها افزایش معنی‌دار داشته است که همسو با پژوهش‌های بسیاری است (۱۷).

نتیجه‌گیری

جهت افزایش بیان ژن‌های BDNF در سیستم عصبی مرکزی نام برده شده‌است و بنظر می‌رسد این پروتکل‌های تمرینی باتوجه به وضعیت بالینی نمونه- های انسانی و حیوانی چاق بسیار موثرتر باشد (۲۵). در پژوهش حاضر نیز همسو با نتایج فوق موش‌های صحرائی چاق در گروه تمرین هوازی بیشترین افزایش بیان ژن BDNF را حتی فراتر از گروه کنترل نشان دادند که بیانگر سودمندی این تمرینات است. اگرچه ترکیب فعالیت هوازی به‌همراه عصاره سیر هم افزایی ناچیزی در افزایش بیان این ژن داشته است که بنظر می‌رسد دوزهای بالاتری از عصاره سیر جهت اثربخشی برای افزایش بیان BDNF نیاز است.

همچنین پژوهش‌ها نشان می‌دهد تیروزین کیناز B بعنوان گیرنده BDNF هم در متابولیسم انرژی و هم در سازوکارهای رفتاری نقش آفرین است (۳۲). نکته بسیار مهم در این زمینه رفتار دوگانه گیرنده‌های سیستم عصبی مرکزی از جمله TrkB است. پژوهش- ها نشان می‌دهند گیرنده‌های تیروزین کیناز B بصورت پاسخ اولیه در اثر افزایش بیان ژن BDNF، تنظیم افزایشی می‌شوند. ازطرفی، بر اثر کاهش مقادیر سرمی BDNF، این گیرنده بطور چندبرابری مجدداً افزایش یافته تا کمبود BDNF سرمی را جبران نماید و حساسیت به BDNF را افزایش دهد (۱۴).

بنظر می‌رسد افزایش TrkB در پژوهش حاضر به دلیل فقدان BDNF سرمی افزایش داشته است که با نتایج فوق همسوست. همچنین بنظر می‌رسد مداخلات عصاره‌ای و تمرینی مخصوصاً موش‌های صحرائی چاق در گروه ترکیب عصاره سیر و فعالیت هوازی، کاهش این گیرنده‌ها را حتی کمتر از گروه کنترل تجربه کردند که بنظر می‌رسد به دلیل افزایش تولید BDNF و ترشح در گردش خون بیشتر در نتیجه فعالیت هوازی (۶) و عصاره سیر (۱۶) باشد.

عصاره‌ای موثر تر از مداخله‌های هوازی و عصاره‌ای به تنهایی باشد.

القاء رژیم پرچرب در کودکی موجب تغییرات خفیف ژنی در موش‌های صحرایی نر ویستار شده و همچنین بنظر می‌رسد ترکیب فعالیت‌های بدنی هوازی و

منابع

- extract on levels of urea and uric acid in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 3(2): 52-52.
8. Fanaei, H. 2018. Effect of Resistance and Aerobic Exercises with Different Intensities on BDNF and TrkB Receptor Gene Expression in Ovariectomized Mice. *Complementary Medicine Journal*, 8(2): 2304-2316.
9. Gdula-Argasińska, J., Paško, P., Sułkowska-Ziaja, K., Kała, K., Muszyńska, B. 2017. Anti-inflammatory activities of garlic sprouts, a source of α -linolenic acid and 5-hydroxy-L-tryptophan, in RAW 264.7 cells. *Acta Biochimica Polonica*, 64(3): 551-559.
10. Ghasemi, S., Hosseini, M., Feizpour, A., Alipour, F., Sadeghi, A., Vafae, F., Beheshti, F. 2017. Beneficial effects of garlic on learning and memory deficits and brain tissue damages induced by lead exposure during juvenile rat growth is comparable to the effect of ascorbic acid. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(2): 206-214.
11. Ghyasi, R., Mohaddes, G., Naderi, R. 2019. Combination effect of voluntary exercise and garlic (*Allium sativum*) on oxidative stress, cholesterol level and histopathology of heart tissue in type 1 diabetic rats. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*, 11(1): 61.
12. Giles, E.D., Jackman, M.R., MacLean, P.S. 2016. Modeling diet-induced obesity with obesity-prone rats: implications for studies in females. *Frontiers in Nutrition*, 3: 50.
13. Hamer, M., Batty, G.D. 2019. Association of body mass index and waist-
1. An, Y. A., Crewe, C., Asterholm, I. W., Sun, K., Chen, S., Zhang, F., Scherer, P. E. 2019. Dysregulation of amyloid precursor protein impairs adipose tissue mitochondrial function and promotes obesity. *Nature Metabolism*, 1(12): 1243-1257.
2. Cheke, L.G., Bonnici, H. M., Clayton, N. S., Simons, J.S. 2017. Obesity and insulin resistance are associated with reduced activity in core memory regions of the brain. *Neuropsychologia*, 96: 137-149.
3. Choi, D.H., Kwon, I.S., Koo, J.H., Jang, Y.C., Kang, E.B., Byun, J.E., Cho, J.Y. 2014. The effect of treadmill exercise on inflammatory responses in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. *Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry*, 18(2): 225.
4. Coppin, G., Nolan-Poupart, S., Jones-Gotman, M., Small, D. M. 2014. Working memory and reward association learning impairments in obesity. *Neuropsychologia*, 65: 146-155.
5. Daliri, E. B.M., Kim, S.H., Park, B.J., Kim, H.S., Kim, J.M., Kim, H.S., Oh, D.H. 2019. Effects of different processing methods on the antioxidant and immune stimulating abilities of garlic. *Food Science and Nutrition*, 7(4): 1222-1229.
6. de Almeida, A. A., Gomes da Silva, S., Lopim, G.M., Vannucci Campos, D., Fernandes, J., Cabral, F.R., Arida, R.M. 2018. Physical exercise alters the activation of downstream proteins related to BDNF-TrkB signaling in male Wistar rats with epilepsy. *Journal of Neuroscience Research*, 96(5): 911-920.
7. Eidi, A., Eidi, M., Oryan, S., Esmaeili, A. 2004. Effect of garlic (*Allium sativum*)

- minireview. *Autonomic Neuroscience*, 126: 30-38.
21. Lee, C. G., Rhee, D. K., Kim, B.O., Um, S.H., Pyo, S. 2019. Allicin induces beige-like adipocytes via KLF15 signal cascade. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 64: 13-24.
22. Liang, J., Matheson, B.E., Kaye, W.H., & Boutelle, K.N. 2014. Neurocognitive correlates of obesity and obesity-related behaviors in children and adolescents. *International Journal of Obesity*, 38(4): 494-506.
23. Livingston, G., Huntley, J., Sommerlad, A., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., Mukadam, N. 2020. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet*, 396(10248): 413-446.
24. Loprinzi, P.D., Moore, D., Loenneke, J.P. 2020. Does Aerobic and Resistance Exercise Influence Episodic Memory through Unique Mechanisms?. *Brain Sciences*, 10(12): 913.
25. Luo, L., Li, C., Du, X., Shi, Q., Huang, Q., Xu, X., & Wang, Q. 2019. Effect of aerobic exercise on BDNF/proBDNF expression in the ischemic hippocampus and depression recovery of rats after stroke. *Behavioural Brain Research*, 362: 323-331.
26. Parrini, M., Ghezzi, D., Deidda, G., Medrihan, L., Castroflorio, E., Alberti, M., Contestabile, A. 2017. Aerobic exercise and a BDNF-mimetic therapy rescue learning and memory in a mouse model of Down syndrome. *Scientific Reports*, 7(1): 1-22.
27. Picone, P., Di Carlo, M., Nuzzo, D. 2020. Obesity and Alzheimer's disease: Molecular bases. *European Journal of Neuroscience*, 52(8): 3944-3950.
28. Prickett, C., Brennan, L., Stolwyk, R. 2015. Examining the relationship between obesity and cognitive function: a systematic literature review. *Obesity research and clinical practice*, 9(2): 93-113.
- to-hip ratio with brain structure: UK Biobank study. *Neurology*, 92(6): 594-600.
14. Hashimoto, K. 2020. Brain-derived neurotrophic factor-TrkB signaling and the mechanism of antidepressant activity by ketamine in mood disorders. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 270(2): 137-138.
15. Hashimoto, M., Nakai, T., Masutani, T., Unno, K., Akao, Y. 2020. Improvement of Learning and Memory in Senescence-Accelerated Mice by S-Allylcysteine in Mature Garlic Extract. *Nutrients*, 12(6): 1834.
16. Huang, Y.J., Lu, K.H., Lin, Y.E., Panyod, S., Wu, H.Y., Chang, W.T., Sheen, L.Y. 2019. Garlic essential oil mediates acute and chronic mild stress-induced depression in rats via modulation of monoaminergic neurotransmission and brain-derived neurotrophic factor levels. *Food and Function*, 10(12): 8094-8105.
17. Khoobkhahi, N., Delavar, R., Nayebifar, S.H. 2019. The combinatory effects of combined training (endurance-resistance) and garlic supplementation on oxidative stress and antioxidant adaptations in untrained boys. *Science and Sports*, 34(6): 410-e1.
18. Kraeuter, A.K., Guest, P.C., Sarnyai, Z. 2019. The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice. *Methods in Molecular Biology*, 1916: 105-111.
19. Kuo, H. K., Jones, R. N., Milberg, W.P., Tennstedt, S., Talbot, L., Morris, J.N., Lipsitz, L.A. 2006. Cognitive function in normal-weight, overweight, and obese older adults: an analysis of the advanced cognitive training for independent and vital elderly cohort. *Journal of the American Geriatrics Society*, 54(1): 97-103.
20. Lebrun, B., Bariohay, B., Moyse, E., Jean, A. 2006. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: a

- Ganella, C., Marrugat, J., Elosua, R. 2017. DNA methylation and obesity traits: An epigenome-wide association study. The regicor study. *Epigenetics*, 12(10): 909-916.
37. Soares, T.S., Andreolla, A.P., Miranda, C.A., Klöppel, E., Rodrigues, L.S., Moraes-Souza, R.Q., Campos, K.E. 2018. Effect of the induction of transgenerational obesity on maternal-fetal parameters. *Systems biology in Reproductive Medicine*, 64(1): 51-59.
38. Takase, K., Tsuneoka, Y., Oda, S., Kuroda, M., Funato, H. 2016. High-fat diet feeding alters olfactory-, social-, and reward-related behaviors of mice independent of obesity. *Obesity*, 24(4): 886-894.
39. Tanaka, H., Gourley, D.D., Dekhtyar, M., Haley, A.P. 2020. Cognition, brain structure, and brain function in individuals with obesity and related disorders. *Current Obesity Reports*, 9(4):544-549.
40. van Boxtel, M.P.J., Baars, L., Jolles, J. 2007. Obesity, blood pressure and cognitive function: a reply to Waldstein and Katzel. *International Journal of Obesity*, 31(7): 1186-1186.
41. Vilela, T.C., Muller, A.P., Damiani, A.P., Macan, T.P., da Silva, S., Canteiro, P.B., de Pinho, R.A. 2017. Strength and aerobic exercises improve spatial memory in aging rats through stimulating distinct neuroplasticity mechanisms. *Molecular Neurobiology*, 54(10): 7928-7937.
42. Zhao, Z., Yao, M., Wei, L., Ge, S. 2020. Obesity caused by a high-fat diet regulates the Sirt1/PGC-1 α /FNDC5/BDNF pathway to exacerbate isoflurane-induced postoperative cognitive dysfunction in older mice. *Nutritional Neuroscience*, 23(12): 971-982.
29. Reichelt, A.C., Maniam, J., Westbrook, R.F., Morris, M.J. 2015. Dietary-induced obesity disrupts trace fear conditioning and decreases hippocampal reelin expression. *Brain, Behavior, and Immunity*, 43: 68-75.
30. Rhea, E. M., Salameh, T. S., Logsdon, A. F., Hanson, A. J., Erickson, M. A., Banks, W. A. 2017. Blood-brain barriers in obesity. *The AAPS journal*, 19(4): 921-930.
31. Ryu, J.H., Kang, D. 2017. Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: A review. *Molecules*, 22(6): 919.
32. Sahu, M.P., Pazos-Boubeta, Y., Steinzeig, A., Kaurinkoski, K., Palmisano, M., Borowicki, O., Castrén, E. 2021. Depletion of TrkB receptors from adult serotonergic neurons increases brain serotonin levels, enhances energy metabolism and impairs learning and memory. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14: 616178.
33. Salehi, I., Komaki, A., Karimi, S.A., Sarihi, A., Zarei, M. 2018. Effect of garlic powder on hippocampal long-term potentiation in rats fed high fat diet: an in vivo study. *Metabolic Brain Disease*, 33(3): 725-731.
34. Sandrini, L., Di Minno, A., Amadio, P., Ieraci, A., Tremoli, E., Barbieri, S. S. 2018. Association between obesity and circulating brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels: systematic review of literature and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8): 2281.
35. Saunders, N.A., Lee, M.A. (Eds.). 2013. *Real-time PCR: advanced technologies and applications*. Horizon Scientific Press.
36. Sayols-Baixeras, S., Subirana, I., Fernández-Sanlés, A., Sentí, M., Lluís-

The Effect of Obesity and Supplementation of Garlic Extract along with Aerobic Activity on the Expression of Brain-derived Neurogenic Factor Genes, Tyrosine Kinase B and Short-term Memory of Male Wistar Rats

Behrouz Esfandiari¹, Reza Rezaei Shirazi^{1*}, Seyed Javad Ziaulhaq², Saeed Ghorbani¹, Habib Asgharpour¹

1- Department of Physical Education and Sports Sciences, Aliabad Katul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katul, Iran

2-Department of Physical Education and Sports Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

Abstract

The extent of cognitive impairment in obesity has been extensively researched for several years. However, the effect of garlic extract and aerobic activity on these cognitive disorders in obese people is still unknown. Forty male Wistar rats were exposed to a high-fat diet for 12 weeks to induce obesity, and finally 30 obese rats were identified using the Lee index and then randomly assigned to five groups: control, obesity, garlic, aerobic exercise, garlic, + aerobic exercise. Aerobic exercise including 30 minutes per day, 8 m/min 5 days a week and garlic and stevia extract at a concentration of 250 mg / kg were added to the daily water intake. Brain tissue was sent to the laboratory to study gene expression by real-time PCR. One-way ANOVA and LSD post hoc test were used to determine the differences between groups and a significance level of 0.05 was considered. The results showed that compared to the control group, 12 weeks of high-fat diet increased the body weight of rats ($p < 0.05$) and even during 8-week extract interventions and training, remained higher than the control group. In addition, BDNF gene expression levels decreased significantly ($P < 0.05$); TrkB gene expression levels also increased significantly in 12 weeks of high-fat rats compared to the healthy control group ($p < 0.05$). On the other hand, in the Y maze, the percentage of rotation in obese rats was significantly lower than the control group ($p < 0.05$). Induction of a high-fat diet in childhood causes mild genetic changes in male Wistar rats, and the combination of aerobic and extractive physical activity appears to be more effective than aerobic and extractive interventions alone.

Keywords: Obesity, Cognitive Impairment, Y Maze, Aerobic Physical Activity, Garlic Extract