

مقاله پژوهشی

اثرات ژرانیول و ورزش بر حافظه و یادگیری در موش‌های نر صحرایی آلزایمری شده

بهاره سیفی نهندی^۱، پریچهره یغمایی*^۱، شهین احمدیان^۲، مریم قبه^۱، آزاده ابراهیم حبیبی^{۳،۴}

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات بیوسنسور، پژوهشکده علوم سلولی و مولکولی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: yaghmaei_p@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2021.684788

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۰

چکیده

بیماری آلزایمر از مهمترین بیماری‌های تحلیل برنده عصبی است که به دنبال تولید رادیکال‌های آزاد و فاکتورهای التهابی بروز می‌کند. ژرانیول که یک مونوترپن طبیعی است دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ژرانیول و ورزش بر حافظه و یادگیری، میزان فعالیت SOD و سطح MDA، میزان نوروزنز و نیز تعداد پلاک‌های آمیلوئیدی در موش‌های آلزایمری شده نژاد ویستار می‌باشد. برای ایجاد مدل آلزایمری، از تزریق دو طرفه $A\beta$ 1-42 درون هیپوکامپ رت‌های نر استفاده شد. گروه‌بندی شامل: کنترل منفی، کنترل مثبت، ورزش، آلزایمری، آلزایمری + ورزش، آلزایمری + ژرانیول، آلزایمری + ژرانیول + ورزش می‌باشد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت SOD و سطح سرمی MDA در گروه‌های ورزش، درمانی و دریافت‌کننده ژرانیول توام با ورزش در مقایسه با سایر گروه‌ها به ترتیب افزایش و کاهش معناداری پیدا کردند ($P < 0/001$). نتایج تست رفتاری شاتل باکس نیز نشان داد در مدت زمان ورود به محفظه تاریک، بین گروه‌های درمانی و دریافت‌کننده ژرانیول توام با ورزش در مقایسه با گروه‌های آلزایمری و آلزایمری توام با ورزش در سطح ($P < 0/001$) افزایش معناداری وجود داشت. همچنین میزان نوروزنز در گروه‌های درمانی و ژرانیول توام با ورزش در مقایسه با گروه‌های آلزایمری و آلزایمری توام با ورزش در سطح ($P < 0/001$) افزایش معناداری یافته بود. در تعداد پلاک‌های آمیلوئیدی در گروه‌های درمانی و ژرانیول توام با ورزش در مقایسه با سایر گروه‌ها نیز در سطح ($P < 0/001$) کاهش معناداری مشاهده گردید. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق به نظر می‌رسد استفاده توام ژرانیول و ورزش می‌تواند اختلالات ایجاد شده در حافظه، میزان فعالیت SOD، سطح MDA، میزان نوروزنز و نیز پلاک‌های آمیلوئیدی ایجاد شده در بیماری آلزایمر را به طور چشمگیری بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: آلزایمر، ژرانیول، ورزش، SOD، MDA، نوروزنز، پلاک‌های آمیلوئیدی

مقدمه

بیماری آلزایمر یک اختلال تحلیل برنده سیستم عصبی پیشرفته است که به تدریج حافظه و توانایی-های ذهنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و با حضور تجمعات پروتئینی، فرایندهای التهابی و اکسیداتیو

دی‌آلدئید (MDA) نیز، یک گروه کربونیل تولید شده در طی پراکسیداسیون لیپید است. شدت آسیب اکسیداتیو را می‌توان با تخمین محصولات آلدئیدی پایدار انتهایی پراکسیداسیون لیپید از قبیل مالون‌دی-آلدئید سنجید (۳۱). از آنجایی که تعداد افراد در معرض خطر آلزایمر رو به افزایش است، این امر نیاز به تلاش بیشتر برای پیدا کردن اقدامات درمانی مؤثر دارد. گیاه درمانی یکی از کهن‌ترین شیوه‌های درمانی برای تقویت حافظه و رفع فراموشی با حداقل سمیت و اثرات ناخواسته بوده است (۳۳). یکی از این ترکیبات طبیعی مونوترپن‌ها می‌باشند که متعلق به ترپن‌ها هستند (۱۱). ژرانیول یک الکل مونوترپن ماریچی است که در اسانس‌های گیاهان و میوه‌ها یافت می‌شود. ژرانیول جز اصلی مهم در اسانس زنجبیل، لیمو، لیمو ترش، اسطوخودوس، جوز، نارنج و گل سرخ می‌باشد (۳۲). مونوترپن‌ها، لیپوفیل و بسیار محلول در خون هستند (۱۴). از سوی دیگر ورزش به عنوان یک ابزار قدرتمند بر علیه بیماری‌های متابولیک، عروق مغزی و التهاب عصبی شناخته شده است (۲۳). تمرین فیزیکی یک استراتژی غیرفارماکولوژیک برای مبارزه با کاهش شناختی و دژنراسیون هیپوکامپ در سلامت شناختی سالمندان و در افرادی که دارای خطر ژنتیکی برای AD هستند، محسوب می‌شود (۲۱).

با وجود تحقیقاتی که در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و آنتی‌میکروبی ژرانیول انجام گرفته است (۶)، در خصوص تاثیر ژرانیول بر حافظه و یادگیری و نیز کاهش نوروپاتولوژی و افزایش پلاک‌های آمیلوئیدی دخیل در بیماری آلزایمر صورت نگرفته است. اگرچه مطالعات بر انجام فعالیت‌های ورزشی در بهبود بیماری آلزایمر نیز تأکید دارند، اما اثر تعاملی فعالیت ورزشی همراه با مصرف ژرانیول بر بیماران آلزایمری

نابه‌جا و اختلال در انتقال عصبی مشخص می‌شود (۱۷). در بیماری آلزایمر، تجمع غیرطبیعی پروتئینی به نام آمیلوئید بتا به صورت پلاک‌های آمیلوئیدی در خارج سلول‌های عصبی و نیز تجمع پروتئین تائو به صورت کلافه‌های نوروفیبریلاری در داخل سلول‌های عصبی شکل می‌گیرد که این تجمعات سبب ایجاد اختلال در ارتباطات شبکه نوروئی و نیز تخریب نوروپاتولوژی می‌شود (۳، ۱۷).

یکی از عواملی که در پاتوژنز آلزایمر نقش ایفا می‌کند، استرس اکسیداتیو بوده که یک عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدان است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توانند به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاهای حمله کرده و در نتیجه عملکرد سلول را مختل نمایند (۱۰، ۱۵، ۳۱). اعضای اصلی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، سوپراکسیددیسموتازها (Super Oxide Dismutases) هستند، یک خانواده آنزیمی که به طور مؤثر سوپراکساید را به پراکسید هیدروژن کمتر واکنشی تبدیل می‌کند (۶).

SODs دارای یک نقش آنتی‌اکسیدانی مشخص می‌باشند که باعث حذف ROS در سلول می‌شوند (۱۵). مطالعات نشان می‌دهد که جلوگیری از تولید ROS (Reactive oxygen species) توسط SOD ها، باعث کاهش مرگ سلولی نوروپاتولوژی، شکستن سد خونی-مغزی و فعالیت سلول میکروگلیا می‌شود که ممکن است پتانسیل درمانی فوق‌العاده‌ای برای کاهش مرگ سلول‌های عصبی باشد (۱۶). مشخص شده است که فعالیت و بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث تغییر پاتولوژی بیماری‌های تحلیل برنده سیستم عصبی می‌شود (۲۷).

از سوی دیگر، آسیب اکسیداتیو در غشای نوروپاتولوژی منجر به پراکسیداسیون لیپیدی مخرب می‌گردد. مالون-

میزان ۲ میکرولیتر آمیلوئید بتا به صورت دوطرفه و به آرامی تزریق شد (۱۲). به منظور خارج نشدن و جذب کامل دارو، تزریق به مدت ۶۰ ثانیه طول کشید و پس از کامل شدن تزریق، سوزن به مدت ۲ دقیقه در محل باقی ماند. حیوانات به ۷ گروه ۶ تایی تقسیم شدند که شامل: ۱- گروه کنترل منفی که فقط آب و غذای معمولی دریافت کردند، ۲- گروه کنترل مثبت که تحت جراحی آلزایمری قرار گرفتند و آب مقطر درون هیپوکامپ مغز تزریق شد، ۳- گروه ورزش که تحت ورزش با تردمیل قرار گرفتند، ۴- گروه آلزایمری که تحت جراحی آلزایمری قرار گرفتند و بتاآمیلوئید در داخل هیپوکامپ مغز تزریق شد، ۵- گروه آلزایمری توام با ورزش که حیوانات آلزایمری تحت ورزش با تردمیل قرار گرفتند، ۶- گروه تجربی ۱ که حیوانات آلزایمری ژرانیول را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درمانی به مدت ۱۴ روز، با تزریق درون صفاقی دریافت کردند، ۷- گروه تجربی ۲ که حیوانات آلزایمری ژرانیول را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توام با ورزش تردمیل دریافت کردند. جهت ارزیابی حافظه احترازی غیرفعال از دستگاه شاتل باکس استفاده شد. روش اجتنابی مهاري در دو روز پشت سر هم انجام می‌شود. روز اول، آموزش و روز دوم، تست کردن میزان حافظه است. برای بررسی حافظه، هر حیوان همانند روز اول در بخش روشن دستگاه قرار گرفتند، درب گیوتینی بعد از ۵ ثانیه باز شده و زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش تاریک دستگاه به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته می‌شود. بیشترین مقدار تأخیر برای ورود به بخش تاریک ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود. حیوانی که به خاطر می‌آورد که در بخش تاریک دستگاه شوک گرفته است، تمایلش را برای ورود به بخش تاریک مهار می‌کند و از ورود به آن اجتناب می‌کند (روش اجتنابی مهاري). کاهش تأخیر در ورود به

به درستی مشخص نیست. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر توام ژرانیول به همراه ورزش در موش‌های مدل آلزایمری و مقایسه نتایج با هر یک از موارد مجزا صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، ۵۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در دمای حدود 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۵۰ درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعته نگهداری شدند. برای القاء آلزایمر از آمیلوئید بتا ۴۲-۱ خریداری شده از شرکت سیگما-آلدریچ آمریکا (Sigma-Aldrich, USA) استفاده شد که در آب مقطر دوبار استریل حل شده و به مدت یک هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده بود (۹). ژرانیول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۰/۵ سی‌سی آب مقطر دو بار استریل، با سرنگ انسولینی به صورت درون صفاقی به رت‌ها تزریق شد (۴). سطح سرمی MDA و میزان فعالیت SOD توسط کیت‌های خریداری شده از شرکت ZELLBIO آلمان مطابق با پروتوکل موجود در کیت مورد سنجش قرار گرفت. جهت بیهوشی از تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده شد و حیوانات درون دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. پس از تراشیدن موهای روی سر و ایجاد یک برش ساجیتال، درز برگما و لامبدا کاملاً مشخص شد. با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون مشخصات ناحیه CA1 هیپوکامپ با مختصات قدامی- خلفی ۳/۸ و طرفی ۲/۴ و پشتی ۲/۷ میلی‌متر علامتگذاری شد و سپس مجموعه به آرامی با مته سوراخ شد. برای تزریق آمیلوئید بتا به وسیله سرنگ همیلتون از طریق سوراخ‌های ایجاد شده درون مغز و با عمق محاسبه شده، به

بخش تاریک، نشان دهنده تضعیف حافظه است و افزایش زمان تاخیر نشان دهنده بهبود حافظه است (۱۲).

برای تمرین هوازی دستگاه تردمیل مسطح با ۸ لاین برای رت‌ها استفاده شد. ورزش با تردمیل با سرعت ۱۷ متر بر دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه در روز (۷ روز در هفته) به مدت ۲۱ روز انجام گرفت (۲).

پس از مراحل تثبیت، آبگیری، شفاف‌سازی و قالب‌گیری مغز، با استفاده از میکروتوم برش‌هایی با ضخامت ۶ میکرون تهیه شد. نمونه‌ها روی لام قرار گرفتند و سپس با همتوکسیلین-ئوزین برای مشاهده سلول‌های پیرامیدال ناحیه هیپوکامپ بافت مغز رنگ آمیزی شدند (۱۳). به منظور شمارش نورون‌ها و پلاک‌ها از نرم افزار Image J استفاده شد.

در این تحقیق از نرم افزار SPSS V.21 استفاده شده و برای بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از آزمون واریانس ANOVA و TUKEY استفاده شد. داده‌ها به صورت $MEAN \pm SEM$ با سطوح معنی‌دار $p < 0/05$ ، $p < 0/01$ و $p < 0/001$ برای گروه‌ها در تمام مراحل در نظر گرفته شد.

نتایج

پس از پایان دوره تجربیات، نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم SOD در گروه درمانی دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژرانیول در مقایسه با گروه‌های کنترل منفی، ورزش، آلزایمری و آلزایمری توام با ورزش در سطح (۰/۰۰۱) $p <$ افزایش معناداری داشت (جدول ۱). در گروه تجربی که دوز ۱۰۰ ژرانیول را توام با ورزش دریافت کرده بود، در مقایسه با گروه‌های کنترل، افزایش معناداری در میزان فعالیت SOD مشاهده شد (۰/۰۰۱) $P <$. در بررسی سطح سرمی MDA، در گروه درمانی دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

ژرانیول در مقایسه با گروه‌های کنترل منفی، ورزش، آلزایمری و آلزایمری توام با ورزش کاهش معناداری در سطح (۰/۰۰۱) $P <$ در سطح سرمی MDA وجود دارد. در گروه تجربی که دوز ۱۰۰ ژرانیول را توام با ورزش دریافت کرده بود، در مقایسه با گروه‌های کنترل، کاهش معناداری در سطح (۰/۰۰۱) $P <$ در سطح سرمی MDA مشاهده شد (جدول ۱). بررسی نتایج تست رفتاری شاتل باکس نشان داد، در مدت زمان ورود به محفظه تاریک، بین گروه‌های تجربی درمانی و گروه دریافت‌کننده دارو (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژرانیول) توام با ورزش در مقایسه با گروه‌های آلزایمری و آلزایمری توام با ورزش در سطح (۰/۰۰۱) $P <$ افزایش معناداری وجود داشت، در حالیکه بین گروه‌های تجربی و سایر گروه‌های کنترل منفی و ورزش تفاوت معناداری مشاهده نشد (جدول ۱). یافته دیگر مطالعه حاضر نشان داد که میزان شمارش نورون‌ها در گروه‌های تجربی درمانی و گروه ژرانیول توام با ورزش در مقایسه با گروه‌های کنترل آلزایمری، آلزایمری توام با ورزش در سطح (۰/۰۰۱) $P <$ افزایش معناداری یافته بود، در حالیکه در مقایسه با سایر گروه‌های کنترل منفی و ورزش کاهش معناداری در سطح (۰/۰۰۱) $P <$ مشاهده شد (جدول ۱). این موضوع نشان دهنده تاثیر مثبت دریافت ژرانیول و ژرانیول توام با ورزش بر میزان نورون‌ها در گروه‌های آلزایمری بوده، اگر چه این اثر مثبت، نتوانسته است نورون‌ها را در سطح گروه سالم و گروه ورزش با تردمیل افزایش دهد. در بررسی شمارش پلاک‌ها در گروه‌های تجربی درمانی و دارو توام با ورزش که ژرانیول را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت می‌کردند، در مقایسه با گروه‌های کنترل آلزایمری، آلزایمری توام با ورزش در سطح (۰/۰۰۱) $P <$ کاهش معناداری در تعداد پلاک‌ها مشاهده می‌شود، در مقابل، نسبت به سایر گروه‌های

می‌شود، کاهش تعداد سلول‌های پیرامیدال در گروه-های آلزایمری و آلزایمری توام با ورزش، که آمیلوئید بتا دریافت کرده بودند کاملاً مشهود است. در بررسی میکروسکوپی بافت‌ها، در گروه تجربی درمانی که دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژرانیول را دریافت می‌کردند، با توجه به تصاویر (i ، h)، مشخص شد که تعداد سلول‌های پیرامیدال تا حد زیادی به حالت نرمال و طبیعی بازگشته است ولی نسبت به گروه کنترل سالم کمتر است. در بررسی بافت‌شناسی گروه تجربی دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژرانیول توام با ورزش، افزایش تعداد سلول‌های پیرامیدال نسبت به گروه‌های آلزایمری کاملاً به چشم می‌خورد. (تصویر (j))، (شکل ۱)

کنترل منفی و ورزش افزایش معناداری نشان داده شد ($P < 0/001$) (جدول ۱). این موضوع نشان دهنده و بیانگر عدم وجود پلاک‌های آمیلوئیدی در گروه سالم که آب و غذای معمولی دریافت می‌کردند و همچنین در گروهی که به مدت ۶۰ دقیقه در روز با تردمیل ورزش می‌کردند، می‌باشد.

بافت‌شناسی: بررسی‌های بافت‌شناسی ناحیه هیپوکامپ بافت مغز در گروه کنترل منفی در شکل ۱ تصویر (a) قابل رویت می‌باشد. بررسی‌های بافت-شناسی ناحیه CA1 هیپوکامپ بافت مغز نشان داد که گروه‌های کنترل منفی، کنترل مثبت، ورزش دارای تعداد زیادی سلول‌های پیرامیدال نرمال و طبیعی می‌باشند که در تصاویر (b ، c ، d) مشاهده می‌شود. در مقابل همانطور که در تصاویر (e ، f ، g) دیده

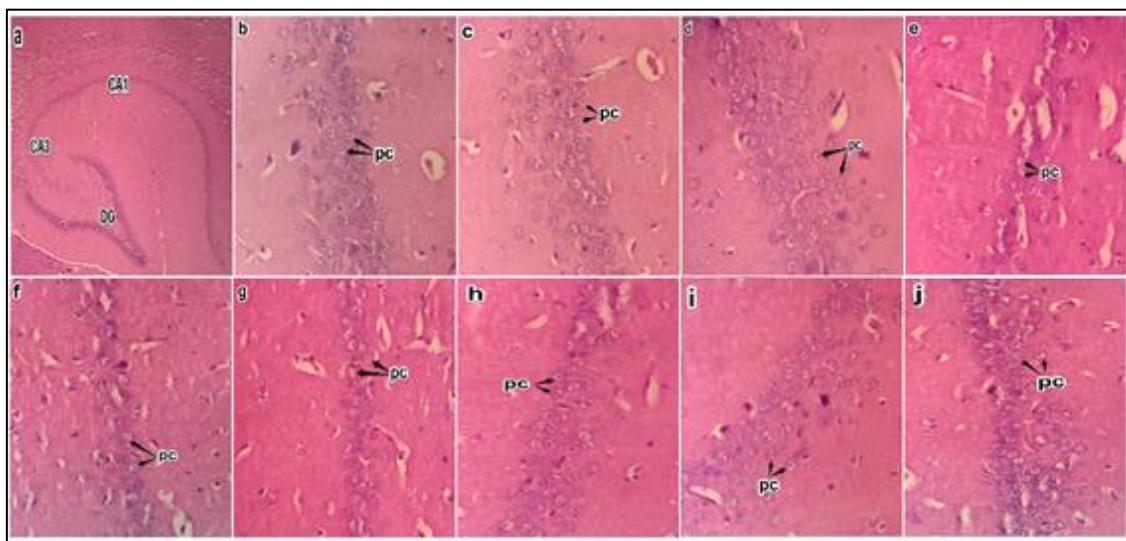
جدول ۱- مقایسه Mean±SEM فاکتورهای SOD، MDA، تست رفتاری، نورونز و تعداد پلاک در گروه‌های تحت آزمایش

گروه/ فاکتور	سوپراکسیددیسموتاز (واحد بین المللی بر گرم پروتئین)	مالون‌دی‌آلدئید (میکرومول بر گرم پروتئین)	زمان ورود به محفظه تاریک (ثانیه)	میزان نورونز (تعداد نورونها)	تعداد پلاک‌های آمیلوئیدی
کنترل منفی	۷/۷۷±۰/۱۸	۱۲/۸۷±۰/۲۵	۲۹۲/۶۷±۲/۱۹	۷۶/۶۷±۲/۴۷	۱/۵۰±۰/۲۲
کنترل مثبت	۶/۹۲±۰/۳۳	۱۵/۵۰±۰/۲۶	۲۸۸/۶۷±۲/۱۹	۶۹/۱۷±۲/۳۹	۵/۳۳±۰/۶۱
ورزش	۱۰/۰۳±۰/۲۹	۱۲/۱۳±۰/۳۲	۲۹۳/۳۳±۲/۱۱	۸۴/۵۰±۱/۸۹	۱/۵۰±۰/۲۲
آلزایمری	۴/۷۰±۰/۲۳	۱۸/۶۲±۰/۲۶	۳۷/۶۷±۲/۱۱	۱۹/۳۳±۱/۳۸	۲۱۵/۰±۱/۸۳
آلزایمری+ ورزش	۵/۷۵±۰/۳۶	۱۵/۷۵±۰/۲۱	۸۴/۱۷±۲/۰۱	۲۱/۰۰±۰/۹۷	۱۵۷/۰±۲/۵۸
آلزایمری+ ژرانیول	۲۴/۲۳±۰/۲۰	۷/۷۲±۰/۱۸	۲۸۶/۰±۲/۱۴	۴۹/۳۳±۲/۶۸	۶۵/۸۳±۱/۷۲
آلزایمری+ ژرانیول+ورزش	۲۵/۹۳±۰/۲۷	۴/۸۷±۰/۱۹	۲۹۱/۳۳±۲/۲۰	۵۰/۵۰±۱/۶۱	۵۵/۵۰±۲/۲۸

* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل منفی و # اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل مثبت، \$ اختلاف معنی‌دار با گروه ورزش، + اختلاف

معنی‌دار با گروه آلزایمری و Θ اختلاف معنی‌دار با گروه آلزایمری + ورزش.

(***: $p < 0/001$) و (###: $p < 0/001$) و (\$\$\$: $p < 0/001$) و (++++: $p < 0/001$) و (+: $p < 0/05$) و (ΘΘΘ: $p < 0/001$).



شکل ۱- فوتومیکروگراف از بخش CA1 (Cortex Area 1) ناحیه هیپوکامپ بافت مغز با رنگ‌آمیزی H&E. با بزرگنمایی (×400). فلش‌های مشکی رنگ (pc) نشان‌دهنده برخی از سلول‌های پیرامیدال در بافت می‌باشند. a: گروه کنترل منفی (بزرگنمایی ×40)، b: گروه کنترل منفی (بزرگنمایی ×400)، c: گروه کنترل مثبت، d: گروه ورزش، e: گروه آلزایمری، f: تصویری دیگر از گروه آلزایمری، g: گروه آلزایمری توام با ورزش، h: گروه آلزایمری + دوز ۱۰۰ ژرانیول، i: تصویری دیگر از گروه آلزایمری + دوز ۱۰۰ ژرانیول، j: گروه آلزایمری + دوز ۱۰۰ ژرانیول و تحت ورزش

بحث

در بررسی سطح سرمی MDA در این تحقیق، در گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژرانیول و نیز ژرانیول توام با ورزش در سطح سرمی MDA در مقایسه با گروه ورزش به تنهایی، کاهش معناداری مشاهده شد. در این خصوص به نظر می‌رسد دریافت دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژرانیول به تنهایی و نیز توام با ورزش تاثیر بیشتری در کاهش سطح سرمی MDA داشته است. مطالعات دیگر نیز حاکی از آن است که ژرانیول باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید شده و آزادسازی NO و تولید ROS را مهار می‌نماید (۱۸). مطابق با نتایج مطالعات پیشین و پژوهش حاضر، در بیماری آلزایمر پراکسیداسیون لیپید که باعث تولید و آزادسازی ROS می‌شود، افزایش می‌یابد که موجب آسیب بافتی و مرگ سلولی می‌شود. به نظر می‌رسد مونوترپن ژرانیول به دلیل گروه هیدروکسیلی که در ساختمان

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده توام ژرانیول و ورزش می‌تواند اختلالات ایجاد شده در حافظه، میزان فعالیت SOD، سطح MDA، میزان نوروترنز و نیز پلاک‌های آمیلوئیدی ایجاد شده در بیماری آلزایمر را به طور چشمگیری بهبود بخشد. در بیماران مبتلا به آلزایمر، فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی مانند SOD کاهش چشمگیری دارد (۲۶). طبق تحقیق حاضر، دریافت دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژرانیول و نیز توام با ورزش در مقایسه با ورزش به تنهایی، موجب افزایش فعالیت SOD به طور معناداری می‌گردد. در همین راستا، محققان بیان کردند که ژرانیول قابلیت زیستن سلول را افزایش می‌دهد که خود باعث افزایش ۴۵ درصدی در فعالیت SOD می‌شود (۳۵). لینالول با ساختاری مشابه ژرانیول باعث تغییر سطح فعالیت SOD در موش‌های آلزایمری می‌شود (۵).

حافظه و یادگیری در رت آلزایمری شود (۵، ۱۹، ۲۰، ۲۴).

در بررسی‌های حاصل از شمارش نورون‌ها نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز نشان داد که دریافت ژرانیول به تنهایی و دریافت ژرانیول توام با ورزش توانسته‌اند به طور معناداری باعث نوروژنایی گردد. مشخص گردیده است که ژرانیول قادر به افزایش نوروژنراسیون در بیماری پارکینسون نیز می‌باشد (۲۸). در همین راستا گزارش کردند ورزش با تردمیل، تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی و تمایز آنها به نورون‌ها و بهبود عملکرد حافظه و یادگیری را تسهیل می‌کند (۳۰) و همچنین موجب کاهش انباشتگی $A\beta$ می‌شود، در نتیجه باعث بهبود حفاظت نورونی، التهاب، استرس شبکه آندوپلاسمی، سیگنالینگ انسولین و عملکرد شناختی می‌شود، که این کاهش انباشتگی $A\beta$ توسط ورزش جسمانی، همراه با تنزل آنزیم‌های $A\beta$ ، انعطاف‌پذیری سیناپسی، نوروژن و فاکتورهای آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۳۶). با توجه به نتایج تحقیقات پیشین و پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد تاثیر ژرانیول، با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی که دارد، به همراه ورزش بیشتر می‌گردد و احتمالاً از طریق کاهش انباشتگی $A\beta$ ، کاهش آنزیم‌های آمیلوید بتا، افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی و تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی و تمایز آنها به نورون‌ها باعث افزایش نوروژن و بازگرداندن ساختار نورونی تخریب شده در نواحی CA1 هیپوکامپ و بهبود عملکرد حافظه و یادگیری شود (۲۸، ۳۰، ۳۶).

از سوی دیگر، به نظر می‌رسد ژرانیول، مانند لینالول، با دارا بودن خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، سرکوب کننده استرس و فاکتور نکروز تومور از طریق مسیرهای انتقال سیگنال NF-K β باعث کاهش مرگ سلولی گردد (۱).

شیمیایی خود دارد، باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید و تخریب رادیکال‌های آزاد می‌شود، و بدین گونه اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌نماید (۱۸).

در بررسی‌های حاصل از تست رفتاری نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که دریافت ژرانیول و ورزش هر یک به طور مجزا توانسته است در بهبود یادگیری و حافظه مختل شده در آلزایمر نقش بهبودی چشمگیری اعمال نماید. در پژوهشی، پتانسیل فعالیت مهاری بالای استیل‌کولین‌استراز در مورد مونوترپن‌های ژرانیول و لینالول گزارش شد (۱۹). لینالول با ساختاری مشابه ژرانیول باعث برگشت نقص شناختی و تغییر سطح فعالیت آنتی‌اکسیدان در موش تزریق شده توسط $A\beta$ می‌شود (۵). در توافق با نتایج مطالعه ما، در مدل موش ترانس ژنیک، نشان داده شد که Geniposide نیز باعث بهبود حافظه و یادگیری همراه با اثرات ضدالتهابی می‌شود (۲۰). مطابق با نتایج ما، محققین گزارش کردند که ورزش با تردمیل باعث بهبود عملکرد حافظه و یادگیری فضایی در موش ترانس ژنیک مدل آلزایمری می‌شود (۲۴). بر اساس نتایج مطالعات گذشته، لینالول که به لحاظ ساختار بیوشیمیایی به ژرانیول شباهت دارند، از طریق مهار مسیر سیگنالینگ NF-K β و P38MAPK اثرات ضدالتهابی خود را اعمال نموده و با مهار این مسیر، باعث کاهش TNF- α ، IL-6، INOS و بیان COX-2 ناحیه هیپوکامپ می‌شود. به نظر می‌رسد ژرانیول به همراه ورزش از طریق تغییر در سطوح آنتی‌اکسیدان‌های مختلف مانند SOD و کاهش سطوح $A\beta$ مغز که در پژوهش ما نیز مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین تغییر در فعالیت مسیر کولینرژیک (افزایش بیان کولین‌استیل‌ترانسفراز و مهار AchE) توانسته است اثرات مفیدی بر اختلالات نوروژنراتیو مانند AD داشته باشد و موجب بهبود نقص شناختی و رفتارهای

امر نیازمند تحقیقات گسترده‌تری در مورد نوع ورزش و نیز ترکیبات طبیعی متفاوت می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه افزایش سطح معنی‌دار SOD و همچنین کاهش معنی‌دار سطح MDA در گروه‌های درمانی و توام با ورزش مشخص شد. همچنین نتیجه مثبت عملکرد ژرانیول در آزمون رفتاری مشخص شد. همچنین در گزارشات پاتولوژی روند مثبتی در افزایش تعداد نوروها و همچنین کاهش تعداد پلاک‌های آمیلوئیدی در گروه‌های درمانی و توام با ورزش نسبت به گروه‌های آلیزایمری شده دیده می‌شود. در این مطالعه مشخص شد ورزش کوتاه مدت دارای اثرات مثبت بر شاخص‌های یادگیری و حافظه و نوروژنز و شاخص‌های بیوشیمیایی می‌باشد. با توجه به گزارشاتی که بیان شد ژرانیول، می‌تواند با مهار فاکتورها و مسیرهای التهابی سبب بهبود رت آلیزایمری شوند. همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ژرانیول می‌تواند باعث کاهش رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو شود که در نهایت می‌تواند منجر به بهبودی رت‌های آلیزایمری شود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش، حاصل پایان‌نامه مقطع دکترای تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران بود و با حمایت‌های معنوی و مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران به انجام رسیده است. بدین وسیله از کمک و مساعدت این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

1. Abe S., Maruyama N., Hayama K., Ishibashi H., Inoue S., Oshima H., Yamaguchi H. 2003. Suppression of tumor necrosis factor-alpha-induced neutrophil

مطالعات نشان داده است که تزریق $A\beta_{1-42}$ که در آب مقطر دو بار و استریل حل شده بود، پلاک‌های آمیلوئیدی ایجاد می‌نماید (۷). تحقیق حاضر نشان داد که مصرف ژرانیول و نیز ژرانیول توام با ورزش توانسته است به طور چشمگیری از تعداد پلاک‌های آمیلوئیدی شکل گرفته در مغز آلیزایمری شده بکاهد. در مطالعه‌ای بیان کردند که لینالول نیز قادر به کاهش شامل پلاک‌های آمیلوئیدی همراه با بهبود ارزیابی رفتاری یادگیری و حافظه می‌باشد (۲۹). همگام با نتایج بدست آمده در این پژوهش، نشان دادند که مونوترپن‌ها می‌توانند سیتوتوکسیتی نوروها را که توسط $A\beta_{42}$ میانجیگری شده را مهار نمایند (۳۷). به نظر می‌رسد ژرانیول باعث مهار سیتوتوکسیتی القا شده توسط $A\beta$ می‌شود و احتمالاً این عمل را از طریق مسیر آمیلوئیدوزنیک که مهارکننده آنزیم سکرنازها می‌باشد انجام می‌دهد و باعث کاهش تجمع $A\beta$ در پلاک‌های آمیلوئیدی می‌شود (۲۲، ۲۵، ۳۷). این کاهش تجمع $A\beta$ در پلاک‌های آمیلوئیدی توسط ژرانیول هنگامیکه با ورزش که باعث کاهش پلاک‌های آمیلوئیدی شده و از القا مرگ سلولی توسط $A\beta$ جلوگیری می‌کند توام می‌شود (۱، ۷، ۸) افزایش می‌یابد. اثر حفاظتی ورزش به طور منظم در میانسالی در برابر ایجاد زوال عقل و بیماری آلیزایمر مشخص شده است (۱، ۷، ۸). تحقیق حاضر نشان داد که مصرف مونوترپن ژرانیول هنگامیکه با ورزش منظم همراه می‌شود اثر بهتری بر بهبود اختلالات ایجاد شده در حافظه، میزان فعالیت SOD، سطح MDA، میزان نوروژنز و نیز پلاک‌های آمیلوئیدی ایجاد شده در بیماری آلیزایمر در مقایسه با مصرف ژرانیول به تنهایی و نیز ورزش مجزا، داشته است. بنابراین، یافته حاضر حاکی از آن است تعامل ورزش و استفاده از ترکیبات طبیعی می‌تواند اثر بخشی بهتری بر روند درمانی اختلالات درگیر در بیماری آلیزایمر داشته باشد که این

- induced cognitive deficits in mice. *Experimental Neurology*, 203(1): 241-245.
10. Dhama K., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S. 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *Biomedical Research International*, 2014: 761264.
11. Dinda B., Chowdhury D.R., Mohanta B.C. 2009. Naturally occurring iridoids, secoiridoids and their bioactivity. An updated review, part 3. *Chemistry and Pharmacology Bulletin (Tokyo)*, 57(8): 765-96.
12. Eslimi Esfehani D., Oryan SH., Khosravi M., Valizadegan F. 2019. 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*, 27(1): 1-12. [In Persian]
13. Eslimi Esfahani D., Oryan SH., Nabiuni M., Karimian Peiro M. 2017. The role of cholestasis in brain hippocampus trauma in male Wistar rat. *Nova Biologica Rep*, 4(2): 128-136. [In Persian]
14. Falk A.A., Hagberg M.T., Lof A.E., Wigaeus-Hjelm E.M., Zhiping W. 1990. Uptake, distribution and elimination of alphapinene in man after exposure by inhalation. *Scandinavian Journal of Work Environment Health*, 16(5): 372-378.
15. He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. 2017. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiology and Biochemistry*, 44(2): 532-553.
16. Janyou A., Wicha P., Jittiwat J., Suksamrarn A., Tocharus C., Tocharus J. 2017. Dihydrocapsaicin Attenuates Blood Brain Barrier and Cerebral Damage in Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion via Oxidative Stress and Inflammatory. *Scientific Reports*, 7(1): 1-11.
17. Jucker M., Walker L.C. 2011. Pathogenic protein seeding in Alzheimer adherence responses by essential oils. *Mediators Inflammation*, 12(6): 323-328.
2. Alaei H., Moloudi R., Sarkaki A.R. 2008. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. *Journal of Bodywork Movement Therapy*, 12(1): 72-5.
3. Amenta F., Tayebati S.K. 2008. Pathways of acetylcholine synthesis, transport and release as targets for treatment of adult-onset cognitive dysfunction. *Current Medicinal Chemistry*, 15(5): 488-498.
4. Aydın E., Türkez H., Sait Keleş M. 2013. The effect of carvacrol on healthy neurons and N2a cancer cells: some biochemical, anticarcinogenicity and genotoxicity studies. *Cytotechnology*, 66(1): 149-157.
5. Beier R.C., Byrd J.A., Kubena L.F., Hume M.E., McReynolds J.L., Anderson R.C., Nisbet D.J. 2014. Evaluation of linalool, a natural antimicrobial and insecticidal essential oil from basil: effects on poultry. *Poultry Science*, 93(2): 267-272.
6. Chen W., Viljoen A.M. 2010. Geraniol-a review of a commercially important fragrance material. *South African Journal of Botany*, 76(4): 643-651.
7. Colaianna M., Tucci P., Zotti M., Morgese M.G., Schiavone S., Govoni S., Cuomo V., Trabace L. 2010. Soluble beta-amyloid(1-42): a critical player in producing behavioural and biochemical changes evoking depressive-related state? *British Journal of Pharmacology*, 159(8): 1704-1715.
8. Cooper C., Moon H.Y., van Praag H. 2018. On the Run for Hippocampal Plasticity. *Cold Spring Harb Perspective Medicine*, 8(4): 1-30.
9. Dall'Igna O.P., Fett P., Gomes M.W., Souza D.O., Cunha R.A., Lara D.R. 2007. Caffeine and adenosine A(2a) receptor antagonists prevent β -amyloid (25-35)-

- Cirrito J.R., Yuede C.M., Zimmerman S.D., Timson B.F. 2016. A spectrum of exercise training reduces soluble A β in a dose-dependent manner in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 85: 218-24.
25. Omar S.H., Scott C.J., Hamlin A.S., Obied H.K. 2018. Biophenols: Enzymes (β -secretase, Cholinesterases, histone deacetylase and tyrosinase) inhibitors from olive (*Olea europaea* L.). *Fitoterapia*, 128: 118-129.
26. Pappolla M.A., Omar R.A., Kim K.S., Robakis N.K., 1992. Immunohistochemical evidence of oxidative [corrected] stress in Alzheimer's disease. *American Journal of Pathology*, 140(3): 621-628.
27. Pocernich C.B., Lange M.L.B., Sultana R., Butterfield D.A., 2011. Nutritional approaches to modulate oxidative stress in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, 8(5): 452-469.
28. Rekha K.R., Selvakumar G.P., Santha K., InmozhiSivakamasundari R., 2013. Geraniol attenuates α -synuclein expression and neuromuscular impairment through increase dopamine content in MPTP intoxicated mice by dose dependent manner. *Biochemistry and Biophysics Research Community*, 440(4): 664-670.
29. Sabogal-Guáqueta A.M., Osorio E., Cardona-Gómez G.P., 2016. Linalool reverses neuropathological and behavioral impairments in old triple transgenic Alzheimer's mice. *Neuropharmacology*, 102: 111-120.
30. Sarkaki A., Amani R., Badavi M., Moghaddam A.Z., Aligholi H., Safahani M., Haghhighizadeh M.H., 2008. Pre-treatment effect of different doses of soy flavones on spatial learning and memory in an ovariectomized animal model of Alzheimer's disease. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(8): 1114-1119.
31. Sharma R.K., Agarwal A., 1996. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*, 48(6): 835-850.
- disease and other neurodegenerative disorders. *Annals of Neurology*, 70(4): 532-540.
18. Katsukawa M., Nakata R., Koeji S., Hori K., Takahashi S., Inoue H. 2011. Citronellol and geraniol, components of rose oil, activate peroxisome proliferator-activated receptor α and γ and suppress cyclooxygenase-2 expression. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 75(5): 1010-1012.
19. Lopez M.D., Pascual-Villalobos M.J. 2010. Mode of inhibition acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Indian Crop Production*, 31(2): 284-288.
20. Lv C., Wang L., Liu X., Yan S., Yan S.S., Wang Y., Zhang W. 2015. Multi-faced neuroprotective effects of geniposide depending on the RAGE-mediated signaling in an Alzheimer mouse model. *Neuropharmacology*, 89: 175-184.
21. Maass A., Duzel S., Brigadski T., Goerke M., Becke A., Sobieray U., Neumann K., Lövdén M., Lindenberger U., Bäckman L., Braun-Dullaeus R., Ahrens D., Heinze H.J., Müller N.G., Lessmann V., Sendtner M., Düzel E. 2015. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *Neuroimage*, 131: 142-154.
22. Marumoto S., Yoshiharu O., Mitsuo M. 2017. Inhibition of β -Secretase Activity by Monoterpenes, Sesquiterpenes, and C13 Norisoprenoids. *Journal of Oleo Science*, 66(8): 851-855.
23. Middleton L.E., Corbett D., Brooks D., Sage M.D., Macintosh B.J., McIlroy W.E., Black S.E. 2013. Physical activity in the prevention of ischemic stroke and improvement of outcomes: a narrative review. *Neuroscience and Biobehavior Review*, 37(2): 133-137.
24. Moore K.M., Girens R.E., Larson S.K., Jones M.R., Restivo J.L., Holtzman D.M.,

camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidative stress. *Toxicology In Vitro*, 23(2): 295-301.

36. Um H.S., Kang E.B., Koo J.H., Kim H.T., Jin L., Kim E.J., Yang C.H., An G.Y., Cho I.H., Cho J.Y. 2011. Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroscience Research*, 69(2): 161-173.

37. Yin F., Zhang Y., Guo L., Kong S., Liu J. 2012. Geniposide regulates insulin-degrading enzyme expression to inhibit the cytotoxicity of Aβ₁₋₄₂ in cortical neurons. *CNS Neurological Disorders and Drug Targets*, 11(8): 1045-1051.

32. Solorzano-Santos F., Miranda-Novales M.G., 2012. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2): 136-141.

33. Samsamshariat S.H., Moattar F., 2004. Treatment with plant. Tehran: Roozbahan Pub. 13-17.

34. Sunday O.P., Adekunle M.F., Temitope O.T., Richard A.A., Samuel A.A., Olufunminyi A.J., Elizabeth O.O. 2014. Alteration in antioxidants level and lipid peroxidation of patients with neurodegenerative diseases {Alzheimer's disease and Parkinson disease}. *International Journal of Nutrition Pharmacology and Neurological Disorders*, 4(3): 146-152.

35. Tiwari M., Kakkar P. 2009. Plant derived antioxidants - geraniol and

