



اثر تمرینات مقاومتی و مصرف عصاره گیاه بادرنجبویه بر بیان ژن های p53، p21 و caspase3 در بافت هیپوکامپ رت های نر مبتلا به آلزایمر القا شده

مهناز نوردی^۱، رامین شعبانی^{۲*}، شهرام غلامرضایی^۳

- ۱ - دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
 ۲ - استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
 ۳ - استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

چکیده

مقدمه: آلزایمر یکی از چالش های مهم بهداشتی در دنیای امروز است. این بیماری به تدریج باعث تخریب حافظه و عملکردهای شناختی می شود لذا پژوهش حاضر به بررسی اثر تمرین هوازی به همراه مصرف عصاره گیاه بادرنجبویه بر بیان ژن های p53, p21, caspase3 در موش های نر آلزایمری پرداخت.

مواد و روش ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۳۲ سر رت نر بالغ به صورت تصادفی به ۴ گروه کنترل، تمرینات مقاومتی، تمرینات مقاومتی و عصاره و همچنین گروه عصاره تقسیم شدند. مدل آلزایمر با تزریق آمیلوئید بتا ۱-۴۲ در هیپوکامپ ایجاد شد. تمرینات مقاومتی شامل ۳ جلسه تمرین در هفته به مدت ۸ هفته انجام شد. تعیین میزان بیان ژن های موردنظر از روش Real Time PCR استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و از آزمون تعقیبی تام هن استفاده شد.

یافته ها: نتایج نشان داد بعد از ۸ هفته تمرین هوازی بیان ژن p53 در گروه های مداخله نسبت به گروه آلزایمر کاهش معنی دار یافت ($P < 0.05$). همچنین Caspase-3 در گروه آلزایمر و ورزش هوازی و گروه آلزایمر و ورزش هوازی و عصاره نسبت به گروه آلزایمر کاهش معنی دار داشتند ($P < 0.05$). بیان ژن p21 در گروه آلزایمر و ورزش هوازی و گروه آلزایمر و ورزش هوازی و مکمل نسبت به گروه آلزایمر افزایش معنی داری را نشان دادند ($P < 0.05$). **نتیجه گیری:** به نظر می رسد تمرین مقاومتی و مصرف عصاره بادرنجبویه موجب کاهش بیان ژن های p53 و caspase3 و افزایش بیان ژن های p21 در موش های صحرایی نر آلزایمری می گردد.

کلیدواژه ها: تمرینات مقاومتی، بادرنجبویه، بیان ژن های آپوپتوز، آلزایمر

نوع مقاله: پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۴

*نویسنده مسئول: رامین شعبانی،
 گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد
 رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
 تلفن:

۰۹۱۱۲۳۲۴۷۹۶

پست الکترونیک:

dr.ramin.shabani@gmail.com



مقدمه

همزمان با کاهش میزان زاد و ولد و افزایش امید به زندگی، پیری جمعیت نیز افزایش می‌یابد و در آینده، بروز بیماری‌های مزمن گسترش یافته و به همین منوال شیوع عوارض پیری مانند زوال عقل افزایش پیدا می‌کند. رایج‌ترین شکل زوال عقل، بیماری آلزایمر است. آلزایمر یک بیماری اپیدمی است که به طور جدی بر شناخت، خلق و خو و فعالیت‌های روزانه تأثیرگذار است (۲).

علت بیماری آلزایمر ناشی از تجمع غیرطبیعی یک پروتئینی به نام آمیلوئید بتا در خارج از سلول‌های عصبی و پروتئین تائو درون این سلول‌ها است، که منجر به اختلال در ارتباطات شبکه نورونی و آسیب به نورون‌ها می‌شود. تجمع گسترده‌تر آمیلوئیدهای بتا به پلاک‌های آمیلوئیدی شناخته می‌شود، در حالی که تجمع غیرطبیعی پروتئین تائو در داخل سلول‌های عصبی به کلافه‌های نروفیبریلاری معروف است (۳ و ۴). پژوهشگران معتقدند که عواملی مانند افزایش سن، وراثت و جنسیت می‌توانند بر بروز بیماری آلزایمر تأثیر بگذارند (۵). از جمله علائم بیماری آلزایمر می‌توان به کاهش حافظه، تغییرات در شخصیت، افسردگی، اضطراب و سایر اختلالات روانی اشاره کرد (۶).

آپوپتوز نوعی مرگ سلولی است که از طریق فرایندهای شیمیایی پیچیده‌ای در درون سلول انجام می‌شود و یکی از مهم‌ترین مراحل آن فعال‌سازی آنزیم‌های سیتوزولی به نام کاسپازها است (۷). کاسپازها نوعی پروتئاز وابسته به سیستمین هستند که مولکول‌های هدف را در محل کربوکسیل اسپاراتات می‌شکنند. این آنزیم‌ها در سیتوپلاسم به شکل غیرفعال پروکاسپاز وجود دارند و با فرآیند پروتئولیز از حالت زیموژن به فرم فعال تبدیل می‌شوند. یکی از روش‌های کلیدی برای بررسی آپوپتوز، تحلیل تغییرات کاسپاز ۳ و پروکاسپاز است. افزایش سطح پروتئین پرو آپوپتوتیک P21، یک مکانیسم مهم در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول به شمار می‌رود. بیان بالای P21 بر روی نفوذپذیری غشای میتوکندری تأثیر می‌گذارد و باعث فعال شدن کاسپازها می‌شود که در نهایت منجر به تجزیه اجزای سلولی

می‌گردد. علاوه بر این، یکی از ژن‌های کلیدی که به تنظیم کاهشی P21 کمک می‌کند، P53 است که می‌تواند مسیر میتوکندریایی آپوپتوز را مهار کند. اگر P53 به میزان زیادی بیان شود، فعالیت کاسپازها کاهش می‌یابد و این موضوع ممکن است ارتباطی میان این عوامل ایجاد کند (۸).

مطالعات نشان می‌دهد که ورزش به میزان قابل توجهی بر افراد مبتلا به زوال عقل که در محیط‌های مختلف زندگی می‌کنند، موثر است. افزایش فعالیت مغز به‌خصوص در ناحیه هیپوکامپ می‌شود، در نتیجه آثار ثانویه بیماری آلزایمر را کاهش می‌دهد (۱۱).

در سال‌های اخیر، بیشتر پژوهشگران به کاربرد مکمل‌های گیاهی و طبیعی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند، معطوف شده‌اند (۱۲). یکی از این مکمل‌های طبیعی، بادرنجبویه است که ترکیبات و اجزای فعال موجود در آن دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌باشند (۱۳)، که نقش بسزایی در تقویت حافظه فزایی بازی می‌کند (۱۴). با توجه به اینکه رژیم غذایی سالم و فعالیت بدنی به عنوان اقداماتی کم‌هزینه و امیدبخش برای محافظت در برابر انواع بیماری‌ها، از جمله بیماری آلزایمر، شناخته می‌شوند و با توجه به فقدان مطالعات ترکیبی در این زمینه، لذا انجام پژوهشی که به‌طور همزمان به تأثیر تمرینات ورزشی و بادرنجبویه بر مسیرهای آپوپتوز در مدل حیوانی آلزایمر بپردازد، ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی و به صورت پس‌آزمون با چهار گروه انجام شد. نمونه‌های تحقیق شامل ۳۲ سر رت نر بالغ با سن ۶ تا ۷ ماه و وزنی بین ۲۶۰ تا ۲۷۰ گرم بودند که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. جامعه آماری رت‌های نر از روش نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی از طریق نرم‌افزار G POWER براساس روش آماری تحلیل واریانس و سطح خطای ۰/۵۰ و توان ۰/۸۵ برابر با ۷۲ سر رت تعیین شد.



کنترل شده با چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت واتسون تزریق گردید (۱۷). پس از این مراحل، موش‌ها به چهار گروه کنترل، تمرینات مقاومتی، تمرینات مقاومتی و عصاره و همچنین گروه عصاره تقسیم شدند

پروتکل تمرینی

تمرینات شامل ۳ جلسه تمرین در هفته (شنبه، دوشنبه، چهارشنبه) به مدت ۸ هفته می‌باشد که در هر نوبت ۴ بار بالا رفتن از نردبان مخصوص به ارتفاع یک متر و بیست و شش پله به فاصله ۴ سانتی متر از هم می‌باشد، که بین هر نوبت یک استراحت ۳۰ ثانیه‌ای برای رت‌ها در نظر گرفته شده‌است. پس از بستن وزنه به دم، رت وادار به صعود از نردبان عمودی می‌شود. در هفته اول وزنه‌ها به اندازه ۳۰ درصد از وزن رت‌ها بود که به تدریج این وزن از هفته دوم ۷۰ درصد و هفته سوم ۱۰۰ درصد، هفته چهارم ۱۲۰ درصد و هفته پنجم ۱۴۰ درصد و هفته ششم تا هشتم ۱۶۰ درصد وزن آن‌ها بود (۳۰). (جدول ۱)

پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه، آنها در شرایط روشنایی، دمای ۲۲ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت تقریباً ۴۵ درصد نگهداری شدند. همچنین در طول دوره پژوهش، حیوانات به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. معیار خروج از مطالعه، مرگ در خلال دوره پژوهش، عدم توانایی در اجرای پروتکل تمرینی و عدم تحمل گاوژ به دلیل مشکلات آناتومیکی بود تمام مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها بر اساس دستورالعمل‌های مؤسسه ملی سلامت انجام شد.

القاء آلزایمر

در این پژوهش، به منظور القای آلزایمر، رت‌ها ابتدا به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و تحت جراحی استریوتاکسی قرار گرفتند. سپس، آمیلوئید بتا ۱-۴۳ که از شرکت سیگما-آلدیج آمریکا تهیه شده بود، به ناحیه CA1 هیپوکامپ و با مختصات قدامی خلفی ۳/۸، جانبی ۲/۴ و پشتی ۲/۷ میلی‌متر بر اساس اطلس پاکسینوس و

هفته	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
بار (درصد وزن بدن)	۳۰	۷۰	۱۰۰	۱۲۰	۱۴۰	۱۶۰	۱۶۰	۱۶۰
تعداد ست	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴

جدول ۱. پروتکل تمرین مقاومتی

حلال جدید به تفاله گیاه اضافه می‌شد. عصاره به دست آمده با دستگاه تقطیر در خلا در دمای کمتر از ۴۰ تا حد خشک شدن تغلیظ شد. این پودر تا زمان استفاده در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور استفاده، مکمل به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن

تهیه عصاره گیاه بادرنبویه

عصاره برگ‌های گیاه *Melissa officinalis* با روش ماسراسیون با استفاده از حلال اتانول: آب ۸۰:۲۰ و بعد از نسبت گیاه به حلال ۱:۱۰ به مدت چهار روز تهیه شد گذشت هر ۲۴ ساعت مخلوط حلال و عصاره صاف شده و



بدن در دو میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس به موش‌های صحرایی به مدت هشت هفته، یک‌بار در روز در ساعت ۸ صبح از طریق گاواژ داده شد (۱۹).

بافت‌برداری

۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله، تمامی موش‌های صحرایی به مدت ۱۰ الی ۸ ساعت ناشتا نگه‌داشته شدند و قبل از شروع فرآیند بافت‌برداری، وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس بیهوشی به صورت استنشاقی با استفاده از ماده کلروفورم انجام گرفت. بعد از بیهوش شدن کامل و انجام تست درد به منظور اطمینان از عدم هوشیاری، سر حیوان با استفاده از دستگاه گیوتین جدا شد و مغز به‌طور کامل خارج گردید. در مرحله بعد، هیپوکامپ با احتیاط از سایر اجزای مغز تفکیک شد و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نیتروژن منجمد گردید و برای ارزیابی‌های آینده در فریزر در دمای منفی ۸۰ درجه سلسیوس نگهداری شد.

اندازه‌گیری بیان ژن‌های P21، P53 و کاسپاز ۳ در هیپوکامپ به روش Real Time PCR جهت بررسی بیان ژن، استخراج RNA در تمامی گروه‌ها، مطابق با پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام شد. مراحل سنتز cDNA پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌ها انجام گرفت. سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. از روش کمی RealTime_PCR برای اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌ها استفاده شد. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های فوق در بانک ژنی NCBI انجام شد. از ژن گلیسرید آلدهید-۳ فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. با استفاده از روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (CT: Cycle Threshold)، نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، ارزیابی شدند. (۳۱) (جدول ۲)

نام ژن	نوع پرایمر	توالی پرایمر	طول قطعه تکثیر
P53	Forward	TCCCTCCTTTCTTGCCATT	150nt
	Reverse	CAGAGACCCAGCAACTACCA	
P21	Forward	AGAAGGGAACGGGTACACAG	155nt
	Reverse	ACCACCACATACCACACACA	
Caspas3	Forward	GTTAACACGAGTGAGGATGTG	132nt
	Reverse	TACCCTGAAATGGGCTTGTGT	
GAPDH	Forward	CAAGTTCAAGGGCACAGTCA	102nt
	Reverse	CCCCATTTGATGTTAGCGGG	

جدول ۲. توالی پرایمرها

روش‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها و ترسیم نمودارها با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ صورت گرفت. برای توصیف داده‌ها از میانگین و انحراف معیار بهره‌گیری شد. همچنین برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده

گردید و سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد. در صورتی که نتایج معنی‌دار بودند، از آزمون تعقیبی تام‌هان بهره گرفته شد.



یافته‌ها

واریانس ۲ راهه به شرط برابری خطای واریانس‌ها در این راستا و در جهت بررسی برابری واریانس از آزمون Levene استفاده شد و نتایج آن بیانگر نابرابری واریانس‌ها بود. از آزمون Wilch جهت بررسی داده‌ها استفاده شد (جدول ۳).

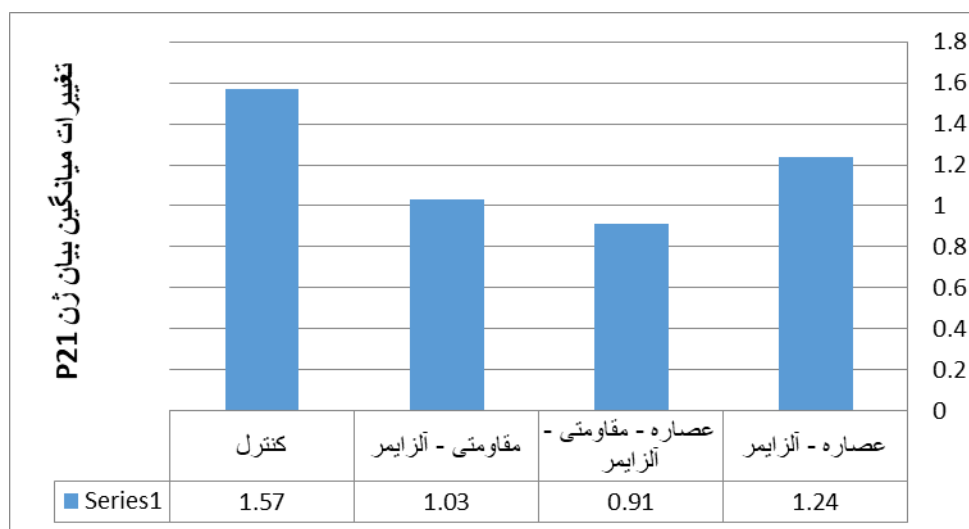
در ابتدا جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده و باتوجه به توزیع طبیعی تمامی متغیرها از آزمون آنالیز واریانس برای بررسی فرضیه‌ها با پیش فرضیه‌ها با پیش فرض کاربرد آزمون آنالیز

ANOVA (نتایج آزمون Wilch)	آزمون	درجه آزادی ۱	درجه آزادی ۲	معنی داری آزمون
P53	۹/۲۹	۷	۱۴/۴۴	۰/۰۰۱*
P21	۳۴/۸۰	۷	۱۴/۱۳	۰/۰۰۲*
Caspase- 3	۶۱/۷۶	۷	۱۴/۳۰	۰/۰۰۰*

جدول ۳. نتایج آزمون آنالیز واریانس آزمون ولچ برای متغیرهای تحقیق

گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان دادند که برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تام هن در حالت نابرابری واریانس‌ها استفاده شد ($P < 0/05$) (شکل ۱).

نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد بیان ژن P21 در همه گروه‌ها نسبت به گروه آلزایمر کاهش یافت و این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود همچنین تغییرات P21 در همه



شکل ۱. مقادیر نتایج بیان ژن P21 در بافت هیپوکامپ گروه‌های مختلف پژوهش



آماري معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همچنین گروه آلزایمر و مکمل نسبت به گروه آلزایمر و ورزش مقاومتی و مکمل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۲).

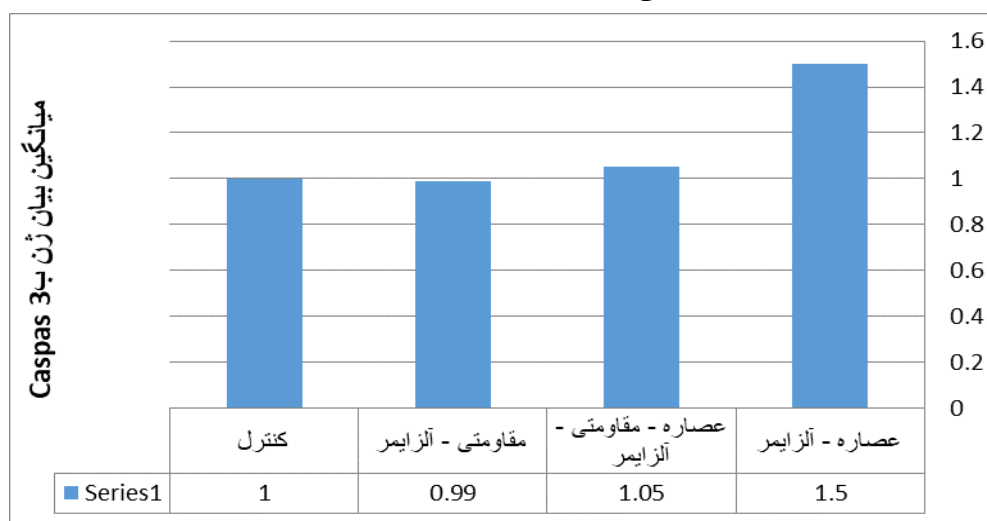
نتایج تجزیه و تحلیل آماری کاهش معنی‌داری را در بیان ژن P53 در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و ورزش مقاومتی نشان داد ($P < 0.05$) گروه آلزایمر و گروه آلزایمر و مکمل نسبت به گروه کنترل کاهش یافت و این کاهش از نظر



شکل ۲. مقادیر نتایج بیان ژن P53 در بافت هیپوکامپ گروه‌های مختلف پژوهش

رت‌هایی که تمرین مقاومتی به همراه مصرف عصاره گیاه بادرنجبویه وجود دارد و با گروه رت‌های مبتلا به آلزایمر که فقط مکمل مصرف کرده بودند اختلاف معنی‌داری نمی‌باشد. (شکل ۳).

نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد بیان ژن Caspase-3 در گروه‌های مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری در بین گروه رت‌های مبتلا به آلزایمر که هیچ‌گونه فعالیتی نداشتند با گروه رت‌های مبتلا به آلزایمر که تمرینات مقاومتی و گروه



شکل ۳. مقادیر نتایج بیان ژن Caspase 3 در بافت هیپوکامپ گروه‌های مختلف پژوهش



بحث

می‌شود و ممکن است در اجرای آپوپتوز به دنبال فعال‌سازی کاسپاز نقش داشته‌باشد (۳۱) و بنابراین هر عاملی که سبب تغییر نسبت P53 به P21 و یا بلعکس گردد محیط را به سمت آپوپتوز یا ضد آپوپتوز سوق می‌دهد (۳۲). در حالت طبیعی، بین عوامل مهم و محرک‌های آپوپتوز تعادل برقرار است، اما همواره در موقعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی این تعادل به هم می‌خورد، که یکی از این موقعیت‌ها فعالیت بدنی می‌باشد و احتمال می‌رود، که فعالیت بدنی و ورزش با اثرگذاری بر این ژن‌ها بر فرایند آپوپتوز تأثیر و باعث کاهش این فرایند گردد (۳۱، ۳۲). در همین راستا قجری و همکاران، اثرات ۸ هفته تمرینات ورزشی باعث افزایش بیان ژن P53 و کاهش بیان ژن P21 می‌گردد (۳۰).

همچنین صدیقی و همکاران در مطالعه‌ای اثرات تمرینات هوازی به برخی شاخص‌های آپوپتوزی را مورد بررسی قرار دادند آنها در نتایج خود گزارش کردند که به نظر می‌رسد، تمرینات ورزشی با شدت متوسط می‌تواند باعث تعدیل برخی از عوامل موثر بر آپوپتوز گردد (۳۱). هوشمند مقدم و همکاران در مطالعه‌ای بیان کردند که تمرینات مقاومتی، باعث کاهش بیان ژن Caspas 3 در مردان سالمند می‌شود که می‌تواند در بهبود عوامل مرتبط با آپوپتوز موثر واقع شود و باعث کند شدن روند فرایند آلزایمر می‌گردد.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که عصاره گیاه بادرنجبویه خاصیت پاد اکسایشی قوی دارد و قابلیت پاکسازی رادیکال‌های آزاد آنیون سوپراکسید و نیتریک اکساید را می‌باشد. خاصیت پاد اکسایشی این گیاه به ترکیبات فنلی آن نسبت داده می‌شود. ترکیبات فنلی موجود در این گیاه از مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها می‌باشند. بیشترین ترکیب شناخته شده در این گیاه روزمارنیک اسید و بعد از آن کوماریک اسید و کافئیک اسید می‌باشد ترکیبات فلاونوئیدی گیاه شامل، hesperidin, naringin, naringenin،

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرینات مقاومتی باعث کاهش بیان ژن P53 می‌شود. این ژن یک پروتئین سرکوبگر تومور حاوی دامنه‌های فعال‌سازی رونویسی، اتصال DNA و الیگومریزاسیون را کد می‌کند. پروتئین کدگذاری شده به تنش‌های سلولی مختلف پاسخ می‌دهد تا بیان ژن‌های هدف را تنظیم کند، در نتیجه باعث توقف چرخه سلولی، آپوپتوز، پیری، ترمیم DNA یا تغییر در متابولیسم می‌شود (۲۲). و افزایش معنی‌داری بیان ژن P21 و کاهش Caspas3 شد. افزایش بیان P21 و کاهش بیان P53 در بیماری آلزایمر مشاهده شده است (۲۴، ۲۳). در مطالعه حاضر، بیان ژن P53 و caspas3 کاهش یافت. ورزش مقاومتی بیان P53 را سرکوب کرد و بیان P21 را افزایش داد. این نتایج همچنین نشان داد که تمرینات مقاومتی مرگ سلول آپوپتوز ناشی از بیماری آلزایمر را مهار می‌کند (۲۵). براساس پژوهش‌های موجود P21 نقش موثری در تعدیل یا سرعت فرایند آپوپتوز بازی می‌کند این ژن یک مهارکننده قوی کیناز وابسته به سیکلین را کد می‌کند. پروتئین کدگذاری شده به کمپلکس‌های کیناز ۲ وابسته به سیکلین کیناز ۴ وابسته به سیکلین متصل می‌شود و آن را مهار می‌کند و بنابراین به عنوان تنظیم‌کننده پیشرفت چرخه سلولی در G1 عمل می‌کند. بیان این ژن به شدت توسط پروتئین p53 سرکوبگر تومور کنترل می‌شود، که از طریق آن این پروتئین توقف فاز G1 چرخه سلولی وابسته به p53 را در پاسخ به انواع محرک‌های استرس واسطه می‌کند. این پروتئین می‌تواند با آنتی‌ژن هسته‌ای سلولی در حال تکثیر، یک فاکتور کمکی DNA پلیمرز، تعامل داشته‌باشد و نقش تنظیم‌کننده‌ای در تکثیر DNA فاز S و ترمیم آسیب DNA ایفا می‌کند. گزارش شده است که این پروتئین به طور خاص توسط کاسپازها مانند CASP3 شکافته می‌شود، که بنابراین منجر به فعال شدن چشمگیر کیناز ۲ وابسته به سیکلین



P53 و caspas 3 و افزایش در P21 می‌شود. با توجه به این اثرات، ممکن است ورزش همراه با مصرف مکمل بادرنجبویه به عنوان یک استراژی مفید در بیماری آلزایمر پیشنهاد شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد که توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت باکد (IR.IAU.RASHT.REC.1402.043) به تصویب رسیده است.

بدین وسیله از همه اساتید دانشمندم که در اجرای این طرح مرا یاری رساندند تقدیر و تشکر می‌کنم.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

hesperetin می‌باشند برای همه این ترکیبات خاصیت پاداکسایشی ذکر شده است (۳۴ و ۳۳). برای عصاره این گیاه علاوه بر اثر پاد اکسایشی خواص دیگری ذکر شده است که می‌توانند در اثرات نروپروتکتیو این گیاه نقش داشته باشند. عصاره به دست آمده از سر شاخه هوایی این گیاه دارای خصوصیات مهارکنندگی آنزیم استیلکولین می‌باشد (۲۹) علاوه بر این پژوهشگران معتقدند ورزش همراه با مصرف آنتی اکسیدان‌هایی چون مکمل بادرنجبویه اثرات تعاملی در کاهش آسیب‌های اکسایشی در ناحیه پیش حرکتی مغز موش‌های صحرایی متعاقب یک جلسه فعالیت ورزشی شدید دارد (۲۹).

نتیجه‌گیری

نتایج حاضر نشان داد که ورزش مقاومتی همراه با مصرف مکمل بادرنجبویه از طریق سرکوب آپوپتوز، باعث کاهش در

References

1. AKHOUNZADEH, S., Et AL. (2002). "MELISSA OFFICINALIS L. EXTRACT IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH MILD TO MODERATE ALZHEIMERS DISEASE: A DOUBLE BLIND, RANDOMIZED AND PLACEBO-CONTROLLED TRIAL."
2. Winchester J, Dick MB, Gillen D, Reed B, Miller B, Tinklenberg J, Et AL. Walking Stabilizes Cognitive Functioning In Alzheimer's Disease (AD) Across One Year. Arch Gerontol Geriatr. 2013;56(1):96-103
3. Alipour, F., Et AL. (2015). "The Neuroprotective Effect Of A Triazine Derivative In An Alzheimer's Rat Model." Acta Medica Iranica: 8-16.
4. Anand, R., Et AL. (2014). "Therapeutics Of Alzheimer's Disease: Past, Present And Future." Neuropharmacology 76: 27-50.
5. Aydın, E., Et AL. (2014). "The Effect Of Carvacrol On Healthy Neurons And N2a Cancer Cells: Some Biochemical, Anticancerogenicity And Genotoxicity Studies." Cytotechnology 66: 149-157.
6. Bazayr, F., Et AL. (2023). "The Effects Of Endurance Training And Saffron Extract On The Expression Of Bax, Bcl-2, And Caspase-3 Genes In The Hippocampal Tissue Of Alzheimer's Male Rats." Journal Of Jiroft University Of Medical Sciences 9(4): 1151-1159.
7. Blennow, K., Et AL. (2006). "Alzheimer's Disease." The Lancet 368(9533): 387-403.
8. Bradford, M. M. (1976). "A Rapid And Sensitive Method For The Quantitation Of Microgram Quantities Of Protein Utilizing The Principle Of Protein-Dye Binding." Analytical Biochemistry 72(1-2): 248-254.
9. Breitner, J. C., Et AL. (1994). "Inverse Association Of Anti-Inflammatory Treatments And Alzheimer's Disease: Initial Results Of A Co-Twin Control Study." Neurology 44(2): 227-227.
10. Butterfield, D. A. (1997). "B-Amyloid-Associated Free Radical Oxidative Stress And Neurotoxicity: Implications For Alzheimer's Disease." Chemical Research In Toxicology 10(5): 495-506.



11. Duzel E, Van Praag H, Sendtner M. Can Physical Exercise In Old Age Improve Memory And Hippocampal Function?. *Brain*. 2016;139(Pt 3):662-73
12. Dall'Igna, O. P., Et AL. (2007). "Caffeine And Adenosine A2a Receptor Antagonists Prevent B-Amyloid (25–35)-Induced Cognitive Deficits In Mice." *Experimental Neurology* 203(1): 241-245.
13. Dastmalchi, K., Et AL. (2008). "Chemical Composition And In Vitro Antioxidative Activity Of A Lemon Balm (*Melissa Officinalis* L.) Extract." *LWT-Food Science And Technology* 41(3): 391-400.
14. Feng, D., Et AL. (2023). "Survival Efficacy Of MDS/AML Patients With TP53 Abnormal Received Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation." *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi= Zhonghua Xueyexue Zazhi* 44(3): 222-229.
15. Ge, Y.-S., Et AL. (2009). "Protective Effect Of Cyclophilin A Against Alzheimer's Amyloid Beta-Peptide (25-35)-Induced Oxidative Stress In PC12 Cells." *Chinese Medical Journal* 122(06): 716-724.
16. Hardy, J. And D. J. Selkoe (2002). "The Amyloid Hypothesis Of Alzheimer's Disease: Progress And Problems On The Road To Therapeutics." *Science* 297(5580): 353-356.
17. Jones, G., Et AL. (1992). "Effects Of Acute Subcutaneous Nicotine On Attention, Information Processing And Short-Term Memory In Alzheimer's Disease." *Psychopharmacology* 108: 485-494.
18. Kihara, T., Et AL. (1997). "Nicotinic Receptor Stimulation Protects Neurons Against B-Amyloid Toxicity." *Annals Of Neurology: Official Journal Of The American Neurological Association And The Child Neurology Society* 42(2): 159-163.
19. Larson, E. B., Et AL. (2006). "Exercise Is Associated With Reduced Risk For Incident Dementia Among Persons 65 Years Of Age And Older." *Annals Of Internal Medicine* 144(2): 73-81.
20. Paterson, D. And A. Nordberg (2000). "Neuronal Nicotinic Receptors In The Human Brain." *Progress In Neurobiology* 61(1): 75-111.
21. Pereira, R. P., Et AL. (2009). "Antioxidant Effects Of Different Extracts From *Melissa Officinalis*, *Matricaria Recutita* And *Cymbopogon Citratus*." *Neurochemical Research* 34: 973-983.
22. Perry, N., Et AL. (1996). "European Herbs With Cholinergic Activities: Potential In Dementia Therapy." *International Journal Of Geriatric Psychiatry* 11(12): 1063-1069.
23. Radak, Z., Et AL. (2016). "Physical Exercise, Reactive Oxygen Species And Neuroprotection." *Free Radical Biology And Medicine* 98: 187-196.
24. Reinsberger, C. (2015). "Of Running Mice And Exercising Humans-The Quest For Mechanisms And Biomarkers Of Exercise Induced Neurogenesis And Plasticity." *German Journal Of Sports Medicine/Deutsche Zeitschrift Fur Sportmedizin* 66(2).
25. Roth, K. A. (2001). "Caspases, Apoptosis, And Alzheimer Disease: Causation, Correlation, And Confusion." *Journal Of Neuropathology & Experimental Neurology* 60(9): 829-838.
26. Schliebs, R. (2005). "Basal Forebrain Cholinergic Dysfunction In Alzheimer's Disease-Interrelationship With B-Amyloid, Inflammation And Neurotrophin Signaling." *Neurochemical Research* 30: 895-908.
27. Sepand, M., Et AL. (2012). "Protective Effects Of *Melissa Officinalis* Extract Against Beta-Amyloid-Induced Oxidative Stress In PC12 Cells." *Journal Of Medicinal Plants* 11(42): 74-85.
28. Wake, G., Et AL. (2000). "CNS Acetylcholine Receptor Activity In European Medicinal Plants Traditionally Used To Improve Failing Memory." *Journal Of Ethnopharmacology* 69(2): 105-114.



29. Xiao, X. Q., Et Al. (2000). "Protective Effects Of Huperzine A On B-Amyloid25–35 Induced Oxidative Injury In Rat Pheochromocytoma Cells." *Neuroscience Letters* 286(3): 155-158.
30. Nazari M, Mofid N, Sadraei SH, Kaka G. The effect of low frequency electromagnetic fields on motor activity and histomorphometry of the motor area of the frontal cortex in adult male rats [in Persian]. *Cells and Tissues* 2020; 11(3): 167-77.
31. Song J, Hur BE, Bokara KK, Yang W, Cho HJ, Park KA, et al. Agmatine improves cognitive dysfunction and prevents cell death in a streptozotocin-induced Alzheimer rat model. *Yonsei Med J* 2014; 55(3): 689-99.
32. Hooshmand Moghadam B, Gaini AA, Eskandari M, Parsineh S, Hojjati Marvast M. The intervention of twelve weeks of resistance training on the serum levels of some markers of apoptosis in elderly men [in Persian]. *J Torbat Heydarieh Univ Med Sci* 2021; 8(4): 10-9



The effect of aerobic exercise and *Melissa officinalis* extract on the expression of p53, p21 and caspase3 genes in the hippocampal tissue of male rats with induced Alzheimer's disease

Mahnaz Navardi¹, Ramin Shabani^{2*}, Shahram Gholamrezaii Arsara³

1- Ph.D. Candidate in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

2-Professor in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

3- Assistant Professor in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Original Article

Received: 2025/02/24

Accepted: 2025/07/15

*Corresponding Author:

Dr Ramin Shabani

TEL: 09112324796

Email:

dr.ramin.shabani@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's is one of the major health challenges in today's world. This disease gradually causes memory and cognitive functions to deteriorate. Therefore, the present study investigated the effect of aerobic exercise along with consumption of lemon balm extract on the expression of p53, p21, and caspase3 genes in male Alzheimer's mice.

Methods: In the present experimental study, 32 adult male rats were randomly divided into 4 groups: control, resistance training, resistance training and extract, and extract group. Alzheimer's model was created by injecting amyloid beta 42-1 into the hippocampus. Resistance training consisted of 3 training sessions per week for 8 weeks. Real Time PCR method was used to determine the expression of the target genes. One-way analysis of variance test and Tom Hen's post hoc test were used to analyze the data.

Results: The results showed that after 8 weeks of aerobic training, the expression of the 53P gene in the intervention groups was significantly reduced compared to the Alzheimer's group ($p < 0.05$). Caspase-3 was also significantly reduced in the Alzheimer's and aerobic exercise group and the Alzheimer's and aerobic exercise and extract group compared to the Alzheimer's group ($p < 0.05$). The expression of the P21 gene in the Alzheimer's and aerobic exercise group and the Alzheimer's and aerobic exercise and supplement group showed a significant increase compared to the Alzheimer's group ($p < 0.05$).

Conclusion: It seems that resistance training and consumption of lemon balm extract reduce the expression of the 53P and caspase3 genes and increase the expression of the 21P genes in male Alzheimer's rats.

Keywords: Resistance training, lemon balm, apoptosis gene expression, Alzheimer's

► Please cite this article as: Navardi M, Shabani R, Gholamrezaii Arsara Sh The effect of aerobic exercise and *Melissa officinalis* extract on the expression of p53, p21 and caspase3 genes in the hippocampal tissue of male rats with induced Alzheimer's disease. *J Neyshabur Univ Med Sci* 2025;13(2)