

Original Article

Effects of Terpinolene and Physical Activity on Memory and Learning in a Model of Alzheimer's Disease among Rats

Bahareh Seifi Nahavandi¹ , Parichehreh Yaghmaei^{1*} , Shahin Ahmadian² ,
Azadeh Ebrahim-Habibi^{3,4} , Maryam Ghobeh¹ 

¹ Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

² Department of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran.

³ Biosensor Research Center, Endocrinology and Metabolism Molecular-Cellular Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

⁴ Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*Corresponding Author:
Parichehreh Yaghmaei;
Department of Biology,
Science and Research
Branch, Islamic Azad
University, Tehran, Iran.

Email:
yaghmaei_p@srbiau.ac.ir

Received: 26 Sep, 2020
Accepted: 09 Jan, 2021

Abstract

Background and Objectives: Alzheimer's disease is one of the most important neurodegenerative diseases that occur following the production of free radicals and inflammatory factors. Terpinolene has antioxidant and anti-inflammatory effects. This study aimed to investigate the effects of terpinolene and physical activity on memory and learning in a model of Alzheimer's rats.

Methods: Bilateral injection of AB1-42 was administered to the hippocampus of the male rats to create the model of Alzheimer's disease. The assigned groups included control (-), sham, exercise, control (+), Alzheimer's+distilled water, Alzheimer's+exercise, Alzheimer's+terpinolene (treatment), Alzheimer's+terpinolene (prevention), and Alzheimer's+terpinolene+exercise. Superoxide dismutase (SOD), Malondialdehyde (MDA) level, shuttle box behavioral test, as well as neurogenesis and amyloid plaques were assessed in this study. The data were statistically analyzed using one-way ANOVA.

Results: The SOD activity and neurogenesis levels decreased significantly in the control (+) group, compared to control groups of the behavioral test. However, the MDA level and plaque increased significantly ($P < 0.05$). Terpinolene intake and exercise caused a significant increase in neurogenesis, a significant decrease in plaques, and significant changes in biochemical and behavioral parameters ($P < 0.05$).

Conclusion: Based on the results of this study and previous reports on the antioxidant and anti-inflammatory effects of terpinolene and exercise, it seems that this combination along with exercise can improve memory complications and disorders.

Keywords: Alzheimer's disease, Amyloid beta-peptides; Exercise; Rats; Terpinolene.

DOI: 10.29252/qums.14.10.25

بررسی اثرات ترپینولن و فعالیت بدنی بر حافظه و یادگیری بر مدل رت‌های آلزایمری شده

بهاره سیفی نهاوندی^۱، پرچهره ینمایی^{۱*}، شهین احمدیان^۲، آزاده ابراهیم حبیبی^۳، مریم قبه^۱

چکیده

زمینه و هدف: بیماری آلزایمر یکی از مهم‌ترین بیماری‌های تحلیل برنده عصبی است که به دنبال تولید رادیکال‌های آزاد و فاکتورهای التهابی بروز می‌کند. ترپینولن دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی است. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ترپینولن و فعالیت بدنی بر حافظه و یادگیری مدل رت‌های آلزایمری شده انجام شد.

روش بررسی: برای ایجاد مدل آلزایمری از تزریق دوطرفه AB1-42 درون هیپوکامپ رت‌های نر استفاده شد. گروه‌بندی شامل: کنترل منفی، شام، ورزش، کنترل مثبت، آلزایمری + آب مقطر، آلزایمری + ورزش، آلزایمری + ترپینولن (درمان)، آلزایمری + ترپینولن (پیشگیری) و آلزایمری + ترپینولن + ورزش بود. در این مطالعه فعالیت SOD (Superoxide dismutase)، سطح MDA (Malondialdehyde)، آزمون رفتاری شاتل باکس، میزان نوروزنز و پلاک‌های آمیلوئیدی بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس بین آزمودنی یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه‌های کنترل آزمون رفتاری، فعالیت SOD و میزان نوروزنز به شکل معناداری کاهش یافته بود؛ اما سطح MDA و میزان پلاک‌ها افزایش معناداری را نشان داد ($P < 0/05$). دریافت ترپینولن و ورزش موجب افزایش معنادار نوروزنز، کاهش معنادار پلاک‌ها و تغییرات معنادار در شاخص‌های بیوشیمیایی و آزمون رفتاری گردید ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر و گزارش‌های قبلی مبنی بر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی ترپینولن، به نظر می‌رسد این ترکیب و ورزش همراه با یکدیگر می‌توانند اختلالات و عارضه‌های ایجاد شده در حافظه را بهبود بخشند.

کلیدواژه‌ها: بتا آمیلوئید پپتیدها؛ بیماری آلزایمر؛ ترپینولن؛ موش‌ها؛ ورزش

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

^۲ گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

^۳ مرکز تحقیقات بیوسنور، 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.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

پرچهره ینمایی؛ گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

yaghmaei_p@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۰

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Seifi Nahavandi B, Yaghmaei P, Ahmadian S, Ebrahim-Habibi A, Ghobeh M. Effects of Terpinolene and Physical Activity on Memory and Learning in a Model of Alzheimer's Disease among Rats. Qom Univ Med Sci J 2020;14(10):25-33. [Full Text in Persian]

مقدمه

بیماری آلزایمر به عنوان بیماری زوال عقل شناخته شده و شایع‌ترین اختلال عصبی مرتبط با سن می‌باشد. طی دهه‌های مختلف، آمیلوئید بتا و پروتئین تائو، دو عامل اصلی و برجسته در ایجاد بیماری آلزایمر تصور شده است (۱). تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی در اطراف سلول‌های عصبی و نیز فیلامنت‌های نوروفیبریلاری درون سلول‌های مغزی از جمله دلایل ایجاد بیماری آلزایمر می‌باشند (۲).

ROS (Reactive oxygen species) به عنوان عامل ایجاد استرس اکسیداتیو توسط گروهی از مولکول‌های حاوی اکسیژن در نتیجه متابولیسم اکسیژن در سلول‌ها ایجاد می‌شود و نقش اساسی را در بیماری‌هایی از جمله بیماری‌های نورودژنراتیو و سرطان ایفا می‌کند (۳). این احتمال وجود دارد که افزایش تولید ROS قبل از ظهور آمیلوئید و پاتولوژی تائو در ایجاد AD (Alzheimer's disease) نقش داشته باشد (۴). مالون‌دی‌آلدهید (MDA) یک گروه کربونیل تولید شده طی پراکسیداسیون لیپید است (۵). شدت آسیب پراکسیداتیو را می‌توان با تخمین محصولات آلدیدی پایدار انتهایی پراکسیداسیون لیپید از قبیل MDA سنجید (۶). تجمع آمیلوئید بتا با التهاب مرتبط است که از طریق چندین مسیر سلولی متقابل به ویژه ROS و سایتوکاین‌های پیش التهابی صورت می‌گیرد؛ به طوری که انباشت $A\beta$ ، اختلال حافظه، التهاب و مرگ سلول‌های عصبی عموماً در موش و انسان‌های AD مشاهده می‌شود (۷).

یکی از اعضای اصلی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در برابر ROS، سوپراکسید دیسموتازها (SODs: Superoxide dismutase) هستند؛ یک خانواده آنزیمی که به طور مؤثر سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن کمتر واکنشی تبدیل می‌کند (۸). از دست دادن فعالیت SODs می‌تواند منجر به بسیاری از فوتیپ‌های پاتولوژیک از جمله اختلالات نورودژنراتیو مانند AD در بافت‌های فعال متابولیکی شود. SODs موجب پاکسازی ROS در سلول می‌شود (۹). مطالعات نشان داده‌اند که جلوگیری از تولید ROS توسط SODs باعث کاهش مرگ سلولی نورو، شکستن سد خونی-مغزی و فعالیت سلول میکروگلیا می‌شود (۱۰).

مونوترپن‌ها متعلق به یک گروه مشتق و بزرگ از ترکیبات

شیمیایی به نام ترپن‌ها هستند که یک گروه از ترکیبات آلی ارگانیک می‌باشند. استفاده از درمان‌های جایگزین برای حفاظت عصبی در حال افزایش است. یکی از این محصولات طبیعی، مونوترپن‌ها هستند (۱۱). تربینولن یک مونوترپن تک‌حلقه‌ای است که در اسانس‌های گونه‌های مختلف صنوبر و کاج یافت می‌شود (۱۲). تربینولن و دیگر مونوترپن‌ها، لیپوفیل و بسیار محلول در خون هستند (۱۳).

رژیم غذایی سالم و فعالیت بدنی، اقداماتی کم‌هزینه و امیدوارکننده برای حفاظت در برابر انواع بیماری‌ها از جمله بیماری AD می‌باشند. در مطالعات پیشین گزارش شده است که ورزش هوازی منجر به افزایش قابل توجهی در شدت فعالیت ۱۱ ناحیه از مغز و افزایش حجم نواحی مختلف آن از جمله کورتکس پریفرونتال، تمپورال و هیپوکامپ می‌شود (۱۴، ۱۵).

روش بررسی

مطالعه حاضر در آزمایشگاه رازی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران به مدت سه هفته انجام شد. به منظور انجام این مطالعه، ۵۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم از مؤسسه انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در خانه حیوانات با دمایی حدود 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰-۵۰ درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات به صورت نامحدود به آب تازه و غذا دسترسی داشتند. برای القای بیماری آلزایمر از آمیلوئید بتا ۴۲-۱ خریداری شده از شرکت سیگما-آلدردیج آمریکا (Sigma-Aldrich, USA) که در آب مقطر دو بار استریل حل شده و به مدت یک هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده بود، استفاده گردید (۱۶). تربینولن با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۰/۵ سی‌سی آب مقطر دو بار استریل حل شد و از طریق سرنگ انسولینی به صورت تزریق درون صفاقی به رت تزریق گردید (۱۷). حیوانات توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و پس از قرار گرفتن در دستگاه استریوتاکس، تراشیدن موهای روی سر و ایجاد یک برش ساجیتال، درز برگما و لامبدا کاملاً مشخص شد. در ادامه با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون (Paxinos & Watson)،

تاریک، ۳۰۰ ثانیه لحاظ گردید. کاهش تأخیر در ورود به بخش تاریک نشان‌دهنده تضعیف حافظه بوده و افزایش زمان تأخیر نشان از بهبود حافظه دارد (۱۸). برای تمرین هوای از دستگاه تردمیل مسطح با هشت لاین برای رت‌ها استفاده شد. در انتهای هر لاین تردمیل، یک شوک الکتریکی قرار داشت که با لمس حیوانات، شوک کوچکی دریافت می‌کردند. ورزش با تردمیل با سرعت ۱۷ متر بر دقیقه در زمان ۶۰ دقیقه به مدت ۲۱ روز انجام شد (۱۹). در نهایت پس از بیهوش کردن حیوانات و خونگیری از قلب، مغز خارج گشته و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. شایان ذکر است که سرم‌ها پس از سانتریفیوژ نمونه‌های خون جدا شدند. به منظور سنجش پارامترهای سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و مالون‌دی‌آلدهید (MDA) از کیت‌های ZellBio GmbH (آلمان) استفاده گردید. همچنین برای شمارش نورون‌ها و پلاک‌ها پس از انجام مراحل بافت‌گیری (تثیت، آب‌گیری، شفاف‌سازی، قالب‌گیری مغز و تهیه برش بافتی) و رنگ‌آمیزی به وسیله هماتوکیسلین، انوزین و تیوفلاوین S از نرم‌افزار Image J استفاده شد (۲۱، ۲۰).

تمامی مراحل آزمایشات مطابق با قوانین کمیته بین‌المللی اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و براساس پروتکل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران صورت پذیرفت.

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 21 بهره گرفته شد و برای بررسی وجود تفاوت معنادار بین گروه‌ها از آزمون واریانس بین آزمودنی یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است و سطح معناداری برای مقایسات بین گروهی ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پس از پایان دوره تجربیات، با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۱، نتایج آزمون رفتاری شاتل باکس نشان داد که در مدت زمان ورود به محفظه تاریک، بین گروه‌های تجربی درمانی، پیشگیری، آلزایمری + ورزش + ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترپینولن در مقایسه با گروه‌های کنترل مثبت و آلزایمری توأم با ورزش، افزایش

مشخصات ناحیه CA1 هیپوکامپ با مختصات قدامی - خلفی ۳/۸، طرفی ۲/۴ و پشتی ۲/۷ میلی‌متر علامتگذاری شد و سپس مجموعه به آرامی با مته سوراخ گردید. برای تزریق آمیلوئید بتا به وسیله سرنگ همیلتون (Hamilton) از طریق سوراخ‌های ایجاد شده درون مغز و با عمق محاسبه شده، ۲ میکرولیتر آمیلوئید بتا به صورت دوطرفه و به آرامی تزریق گردید (۱۸). به منظور جذب کامل دارو، تزریق به مدت ۶۰ ثانیه طول کشید. شایان ذکر است که سوزن به مدت ۲ دقیقه در محل باقی ماند. در ادامه، حیوانات به نه گروه شش‌تایی تقسیم شدند که عبارت بودند از: ۱. گروه کنترل منفی که فقط آب و غذا دریافت می‌کردند، ۲. گروه شم که تحت جراحی آلزایمری قرار گرفتند و آب مقطر درون هیپوکامپ مغز آن‌ها تزریق شد، ۳. گروه ورزش که با تردمیل ورزش می‌کردند، ۴. گروه کنترل مثبت که تحت جراحی آلزایمری قرار گرفتند و بتا آمیلوئید داخل هیپوکامپ مغز آن‌ها تزریق شد، ۵. گروه حیوانات آلزایمری که به مدت ۱۴ روز آب مقطر با تزریق درون صفاقی دریافت کردند، ۶. گروه حیوانات آلزایمری که با تردمیل ورزش می‌کردند، ۷. گروه تجربی ۱ که ترپینولن را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درمانی به مدت ۱۴ روز با تزریق درون صفاقی دریافت کردند، ۸. گروه تجربی ۲ که ترپینولن را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پیشگیری (دریافت ترپینولن قبل از القاء آلزایمر) به مدت ۱۴ روز با تزریق درون صفاقی دریافت کردند، ۹. گروه تجربی ۳ که ترپینولن را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توأم با ورزش با تردمیل دریافت کردند. به منظور ارزیابی حافظه احترازی غیر فعال از دستگاه شاتل باکس استفاده شد. روش اجتنابی مهارتی برای بررسی حافظه در حیوانات آزمایشگاهی طی دو روز پشت سر هم انجام شد. روز اول یا روز آموزش، زمان آموزش دادن حیوانات در دستگاه بود و روز دوم، روز آزمون میزان حافظه حیوانات آموزش‌دیده بود. آزمون ۲۴ ساعت بعد از مرحله آموزش انجام شد. باید خاطر نشان ساخت که در جلسه آزمون، تحریک الکتریکی صورت نگرفت. برای بررسی حافظه، حیوان در بخش روشن دستگاه جای داده شد. درب گیوتینی پس از ۵ ثانیه باز گردید و زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش تاریک دستگاه به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته شد. بیشترین مقدار تأخیر برای ورود به بخش

($P < 0/001$). همچنین در گروه تجربی آلتزایمری + ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تریپنولن + ورزش نسبت به گروه‌های کنترل منفی و شم، کاهش معناداری در سطح سرمی MDA مشاهده گردید ($P < 0/001$). در این مطالعه نشان داده شد که میزان شمارش نوروها در گروه‌های تجربی درمانی، پیشگیری، آلتزایمری + ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تریپنولن + ورزش در مقایسه با گروه‌های کنترل مثبت و آلتزایمری + ورزش، افزایش معناداری دارد ($P < 0/001$). این در حالی است که در مقایسه با سایر گروه‌های کنترل منفی و ورزش، کاهش معناداری مشاهده شد ($P < 0/001$, $P < 0/01$). همچنین در بررسی شمارش پلاک‌ها در گروه‌های تجربی درمانی، پیشگیری، آلتزایمری + ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تریپنولن + ورزش نسبت به گروه‌های کنترل مثبت و آلتزایمری + ورزش، کاهش معناداری مشاهده گردید ($P < 0/001$)؛ اما نسبت به سایر گروه‌های کنترل منفی و ورزش، افزایش معناداری به دست آمد ($P < 0/001$).

معناداری مشاهده شد ($P < 0/001$). این در حالی است که بین گروه‌های تجربی و سایر گروه‌های کنترل منفی و ورزش، تفاوت معناداری وجود نداشت. بر مبنای نتایج، میزان فعالیت آنزیم SOD در گروه درمانی در مقایسه با گروه‌های کنترل منفی، ورزش، کنترل مثبت و آلتزایمری + ورزش، افزایش معناداری داشت ($P < 0/001$). همچنین میزان فعالیت SOD در گروه پیشگیری نسبت به گروه‌های کنترل منفی و شم، افزایش معناداری را نشان داد ($P < 0/001$). در گروه آلتزایمری + ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تریپنولن + ورزش نسبت به گروه‌های کنترل منفی و شم، افزایش معناداری در میزان فعالیت SOD مشاهده شد ($P < 0/001$). علاوه بر این در بررسی سطح سرمی MDA، در گروه درمانی نسبت به گروه‌های کنترل منفی، ورزش، کنترل مثبت و آلتزایمری + ورزش، کاهش معناداری وجود داشت ($P < 0/001$). سطح سرمی MDA در گروه پیشگیری نسبت به گروه‌های کنترل منفی و شم، کاهش معناداری را نشان داد

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین و خطای استاندارد میانگین فاکتورهای آزمون رفتاری، SOD، MDA، میزان نوروژنز و تعداد پلاک در گروه‌های تحت آزمایش

گروه/فاکتور	زمان ورود به محفظه تاریک (ثانیه)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین‌المللی بر میلی لیتر)	مالون‌دی‌آلدهید (میکرومول)	میزان نوروژنز	تعداد پلاک
کنترل منفی	۲/۱۹±۲۹۲/۶۷	۰/۱۸±۷/۷۷	۰/۲۵±۱۲/۸۷	۲/۴۷±۷۶/۶۷	۰/۲۲±۱/۵۰
شم	۲/۱۹±۲۸۸/۶۷	۰/۳۳±۶/۹۲	۰/۲۶±۱۵/۵۰	۲/۳۹±۶۹/۱۷	۰/۶۱±۵/۳۳
ورزش	۲/۱۱±۲۹۳/۳۳	۰/۲۹±۱۰/۰۳	۰/۳۲±۱۲/۱۳	۱/۸۹±۸۴/۵۰	۰/۲۲±۱/۵۰
		*** ###	###	###	
کنترل مثبت	۲/۱۱±۳۷/۶۷	۰/۲۳±۴/۷۰	۰/۲۶±۱۸/۶۲	۱/۳۸±۱۹/۳۳	۱/۸۳±۲۱۵/۰
	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$
آلتزایمری + آب مقطر	۲/۰۷±۳۷/۱۷	۰/۲۱±۴/۹۸	۰/۲۱±۱۷/۵۲	۱/۱۷±۲۱/۶۷	۱/۳۰±۲۱۲/۸۳
	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$ +	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$
آلتزایمری + ورزش	۲/۰۱±۸۴/۱۷	۰/۳۶±۵/۷۵	۰/۲۱±۱۵/۷۵	۰/۹۷±۲۱/۰۰	۲/۵۸±۱۵۷/۰
	*** ### \$\$\$	*** \$\$\$	*** \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$
	+++ &&&	+++ &&&	+++ &&&	+++ &&&	+++ &&&
آلتزایمری + تریپنولن (درمان)	۲/۳۳±۲۸۵/۵۰	۰/۲۰±۲۶/۱۸	۰/۱۵±۳/۴۵	۲/۴۷±۵۳/۳۳	۱/۶۶±۴۲/۸۳
	+++ &&& ΘΘΘ	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$
		+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ
آلتزایمری + تریپنولن (پیشگیری)	۱/۶۷±۲۸۶/۰	۰/۲۴±۲۴/۸۰	۰/۲۰±۶/۲۵	۱/۶۷±۴۸/۳۳	۲/۳۵±۴۵/۶۷
	+++ &&& ΘΘΘ	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$
		+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ
آلتزایمری + تریپنولن + ورزش	۱/۵۴±۲۸۹/۳۳	۰/۲۹±۲۷/۹۳	۰/۱۰±۲/۲۲	۲/۰۶±۷۳/۳۳	۱/۶۷±۲۶/۶۷
	+++ &&& ΘΘΘ	*** ### \$\$\$	*** ### \$\$\$	\$\$\$ +++ &&& ΘΘΘ	*** ### \$\$\$
		+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ	+++ &&& ΘΘΘ

* اختلاف معنادار با گروه کنترل منفی؛ # اختلاف معنادار با گروه شم؛ \$ اختلاف معنادار با گروه ورزش؛ + اختلاف معنادار با گروه کنترل مثبت؛ & اختلاف معنادار با گروه آلتزایمری + آب مقطر؛ Θ اختلاف معنادار با گروه آلتزایمری + ورزش

*** $P < 0/001$; ** $P < 0/01$; * $P < 0/05$; # $P < 0/05$; \$ $P < 0/05$; + $P < 0/05$; &&& $P < 0/001$; && $P < 0/01$; & $P < 0/05$; Θ $P < 0/05$

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دادند که در مدت زمان ورود به محفظه تاریک در گروه‌های ورزش، درمانی، پیشگیری و ترپینولن توأم با ورزش در مقایسه با گروه‌های کنترل مثبت و آلزایمری توأم با ورزش، افزایش معناداری وجود دارد. همسو با نتایج مطالعه حاضر، در پژوهشی نشان داده شد که ترکیبات مونوترپن دیگر شامل لینالول باعث بهبود حافظه و یادگیری در مدل ترانس ژنیک AD می‌شود (۲۲). همچنین نشان داده شد که لینالول دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی در رت‌های دارای فشار خون می‌باشد (۲۳). در این راستا، در مطالعه‌ای بیان گردید که لینالول باعث کاهش TNF- α و IL-6، INOS و بیان COX-2 از طریق مهار فعالیت NF-K β می‌شود (۲۴). از سوی دیگر، در پژوهشی نشان داده شد که لینالول موجب برگشت نقص شناختی و تغییر سطح فعالیت/سطوح پروتئین (GPX، AchE، SOD) و آنتی‌اکسیدان در موش آلزایمری شده توسط A β می‌شود (۲۵). محققان نشان داده‌اند که ورزش، شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکامپ و یادگیری فضایی را بهبود می‌بخشد (۲۶). همچنین مشاهده شده است که انواع مختلف ورزش می‌تواند پروتئین‌های مربوط به شکل‌پذیری عصبی در نواحی مختلف ارتباطی مغز را تنظیم کند که این مهم آثار گوناگونی بر قابلیت‌های یادگیری و حافظه دارد (۲۷).

براساس نتایج مطالعات گذشته و پژوهش حاضر ممکن است ترپینولن از طریق مهار مسیر سیگنالینگ NF-K β و p38MAPK اثرات ضد التهابی خود را اعمال نموده و با مهار این مسیر باعث کاهش TNF- α و IL-6 و بیان COX-2 ناحیه هیپوکامپ شود. از سوی دیگر، این احتمال وجود دارد که این ترکیب به همراه ورزش از طریق تغییر در سطوح آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و تغییر در فعالیت مسیر کولینرژیک بتواند اثرات مفیدی بر اختلالات نورودژنراتیو مانند AD داشته باشد و موجب بهبود نقص شناختی و رفتارهای حافظه و یادگیری در رت آلزایمری شود (۲۴، ۲۵).

علاوه بر این، نتایج بررسی میزان فعالیت SOD حاکی از آن بودند که فعالیت SOD در گروه‌های ورزش، درمانی، پیشگیری و ترپینولن توأم با ورزش در مقایسه با گروه‌های کنترل منفی، کنترل

مثبت و آلزایمری توأم با ورزش به طور معناداری افزایش پیدا کرده است. در مقابل سطح سرمی MDA در گروه‌های ورزش، درمانی، پیشگیری و ترپینولن توأم با ورزش در مقایسه با گروه‌های کنترل مثبت و آلزایمری توأم با ورزش، کاهش معناداری یافته است. مطابق با نتایج مطالعه حاضر گزارش شده است که مناطق تحت تأثیر واقع شده در بیماران مبتلا به آلزایمر، با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD، کاتالاز و پراکسیداز گلوکوتایون مواجه می‌باشد (۲۸). همچنین در پژوهش دیگری مشاهده شد که بیان بیش از حد SOD-2 باعث کاهش سوپراکسید هیپوکامپ شده و از نقص حافظه در مدل موش AD جلوگیری می‌کند (۲۹). در این راستا، محققان بیان نموده‌اند که ترپینولن باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بدون اثر ژنوتوکسیک در نورون‌های اولیه رت و رده‌های سلولی نوروبلاستوما N2a در یک رفتار وابسته به دوز می‌شود (۱۷). در مطالعه‌ای دیگر گزارش گردید که ترپینولن با کاهش پراکسیداسیون لیپید در هیپوکامپ موش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به همراه داشته است (۳۰).

با توجه به نتایج مطالعات پیشین و پژوهش حاضر می‌توان گفت که تولید و آزادسازی ROS در آلزایمر افزایش می‌یابد که این امر موجب آسیب بافتی و مرگ سلولی می‌شود. احتمالاً ترپینولن به دلیل وجود گروه هیدروکسیلی در ساختمان شیمیایی خود باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید و تخریب رادیکال‌های آزاد شده و این گونه اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌کند (۳۰).

با بررسی نتایج حاصل از شمارش نورون‌ها مشاهده شد که میزان نورون‌ها در گروه‌های ورزش، درمان، پیشگیری و ترپینولن توأم با ورزش در مقایسه با گروه‌های کنترل مثبت و آلزایمری توأم با ورزش به طور معناداری افزایش یافته است. همراستا با پژوهش حاضر، در مطالعه‌ای نشان داده شد که ورزش با ترمیم موجب کاهش انباشتگی A β می‌شود؛ در نتیجه باعث بهبود حفاظت نورونی، التهاب، استرس شبکه آندوپلاسمی، سیگنالینگ انسولین و عملکرد شناختی می‌گردد (۷).

با توجه به نتایج حاصل از مطالعات پیشین و پژوهش حاضر می‌توان گفت که احتمالاً ترپینولن به همراه ورزش، با توجه به

باعث کاهش پیشرفت پلاک آمیلوئید و نیز سطوح $A\beta$ محلول در مغز می‌شود (۳۷).

با توجه به نتایج مطالعات گذشته و پژوهش حاضر می‌توان گفت که احتمالاً پلاک‌های آمیلوئیدی تشکیل شده در مغز رت‌های آلزایمری، ناشی از رسوب آمیلوئید بتا در هیپوکامپ می‌باشد (۳۱). از سوی دیگر ممکن است ترپینولن به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بیان شده از طریق مسیرهای اکسیدانی و التهابی و همچنین ورزش به دلیل کاهش سطوح $A\beta$ ، باعث کاهش پلاک‌های آمیلوئیدی شود (۳۷، ۳۴، ۱۷).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشاهده شد که ترپینولن و ورزش کوتاه‌مدت می‌توانند با مهار فاکتورها و مسیرهای التهابی موجب بهبود رت آلزایمری شوند. همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترپینولن می‌تواند باعث کاهش رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو شده و در نهایت منجر به بهبود رت‌های آلزایمری گردد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از رساله دکتری تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی؛ واحد علوم و تحقیقات تهران می‌باشد که با حمایت معنوی و مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی؛ واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شده است. بدین وسیله از همکاری و همراهی این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

خواص آنتی‌اکسیدانی خود و از طریق کاهش انباشتگی $A\beta$ ، کاهش آنزیم‌های آمیلوئید بتا و افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی موجب افزایش نوروزن در نواحی CA1 هیپوکامپ می‌شود (۷). از سوی دیگر، نتایج شمارش پلاک‌ها نشان دادند که میزان پلاک‌ها در گروه‌های ورزش، درمان، پیشگیری و ترپینولن توأم با ورزش نسبت به گروه‌های کنترل مثبت و آلزایمری توأم با ورزش، کاهش معناداری پیدا کرده است. بر مبنای نتایج با تزریق $A\beta 1-42$ ، پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز موش تشکیل شد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه‌ای با استفاده از تزریق $A\beta 1-42$ که در آب مقطر دو بار استریل حل شده بود، پلاک‌های آمیلوئیدی ایجاد گردید (۳۱). گزارش شده است که آمیلوئید غیر طبیعی با تجویز طولانی‌مدت یک آنتی‌اکسیدان در نوروها مهار شده است که این مهم نشان‌دهنده تأثیر موفقیت‌آمیز آنتی‌اکسیدان‌ها بر پاتوژنز بیماری AD بوده که ناشی از استرس اکسیداتیو می‌باشد (۳۲). همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شد که لینلول با خواص آنتی‌اکسیدانی، اثرات حفاظتی را در برابر استرس اکسیداتیو القا شده پراکسید هیدروژن در بافت مغزی به همراه داشته و منجر به کاهش پلاک‌های بتا آمیلوئید می‌شود (۳۳). علاوه بر این، در مطالعه‌ای اثرات ضد التهابی و ضد درد ترپینولن گزارش گردیده (۳۴) و مشخص شده است که استفاده طولانی‌مدت از داروهای ضد التهابی باعث سرکوب پیشرفت و شروع آلزایمر می‌شود که این مهم نشان‌دهنده رابطه بین NF-KB و پاتوژنز AD می‌باشد (۳۵). از سوی دیگر، بیان شده است که مونوترپین‌ها باعث بهبود سیتوتوکسیسیتی القا شده $A\beta$ در هر دو سلول‌های عصبی کشت شده و مدل‌های حیوانی مختلف از AD می‌شوند (۳۶). در پژوهشی نشان داده شده است که فعالیت بدنی

References:

1. Ittner LM, Gotz J. Amyloid- β and tau-a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 2011;12(2):65-72. DOI: 10.1038/nrn2967
2. Fathi F, Hatami H, Ali Hemmati AR, Banan Khojasteh SM. Effects of sesame oil on improving spatial memory in alzheimers disease. *J Babol Univ Med Sci* 2014;16(2):34-41. DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.2.34
3. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci* 2017;38(7):592-607. DOI: 10.1016/j.tips.2017.04.005
4. Birnbaum JH, Wanner D, Gietl AF, Saake A, Kündig TM, Hock C, et al. Oxidative stress and altered mitochondrial

- protein expression in the absence of amyloid- β and tau pathology in iPSC-derived neurons from sporadic Alzheimer's disease patients. *Stem Cell Res* 2018;27:121-30. DOI: [10.1016/j.scr.2018.01.019](https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.01.019)
5. Soyduñç S, Çelik A, Demiryürek S, Davutođlu V, Tarakçiođlu M, Aksoy M. The relationship between oxidative stress, nitric oxide, and coronary artery disease. *Eur J Gen Med* 2007;4(2):62-6. [Link](#)
 6. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996;48(6):835-50. DOI: [10.1016/s0090-4295\(96\)00313-5](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(96)00313-5)
 7. Um HS, Kang EB, Koo JH, Kim HT, Jin L, Kim EJ, et al. Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurosci Res* 2011;69(2):161-73. DOI: [10.1016/j.neures.2010.10.004](https://doi.org/10.1016/j.neures.2010.10.004)
 8. Case AJ. On the origin of superoxide dismutase: an evolutionary perspective of superoxide-mediated redox signaling. *Antioxidants* 2017;6(4):82. DOI: [10.3390/antiox6040082](https://doi.org/10.3390/antiox6040082)
 9. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cell Physiol Biochem* 2017;44(2):532-53. DOI: [10.1159/000485089](https://doi.org/10.1159/000485089)
 10. Janyou A, Wicha P, Jittiwat J, Suksamrarn A, Tocharus C, Tocharus J. Dihydrocapsaicin attenuates blood brain barrier and cerebral damage in focal cerebral ischemia/reperfusion via oxidative stress and inflammatory. *Sci Rep* 2017;7(1):10556. DOI: [10.1038/s41598-017-11181-5](https://doi.org/10.1038/s41598-017-11181-5)
 11. Dinda B, Chowdhury DR, Mohanta BC. Naturally occurring iridoids, secoiridoids and their bioactivity. An updated review, part 3. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2009;57(8):765-96. DOI: [10.1248/cpb.57.765](https://doi.org/10.1248/cpb.57.765)
 12. Brauss MS, Linforth RS, Cayeux I, Harvey B, Taylor AJ. Altering the fat content affects flavor release in a model yogurt system. *J Agric Food Chem* 1999;47(5):2055-9. DOI: [10.1021/jf9810719](https://doi.org/10.1021/jf9810719)
 13. Falk AA, Hagberg MT, Lof AE, Wigaeus-Hjelm EM, Zhiping W. Uptake, distribution and elimination of alphapinene in man after exposure by inhalation. *Scand J Work Environ Health* 1990;16(5):372-8. DOI: [10.5271/sjweh.1771](https://doi.org/10.5271/sjweh.1771)
 14. Smith AD, Zigmond MJ. Can the brain be protected through exercise? Lessons from an animal model of Parkinsonism. *Exp Neurol* 2003;184(1):31-9. DOI: [10.1016/j.expneurol.2003.08.017](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2003.08.017)
 15. Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(7):3017-22. DOI: [10.1073/pnas.1015950108](https://doi.org/10.1073/pnas.1015950108)
 16. Dall'Igna OP, Fett P, Gomes MW, Souza DO, Cunha RA, Lara DR. Caffeine and adenosine A(2a) receptor antagonists prevent β -amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. *Exp Neurol* 2007;203(1):241-5. DOI: [10.1016/j.expneurol.2006.08.008](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.08.008)
 17. Aydın E, Türkez H, Sait Keleş M. The effect of carvacrol on healthy neurons and N2a cancer cells: some biochemical, anticancerogenicity and genotoxicity studies. *Cytotechnology* 2013;66(1):149-57. DOI: [10.1007/s10616-013-9547-5](https://doi.org/10.1007/s10616-013-9547-5)
 18. Eslimi Esfehane D, Oryan SH, Khosravi M, Valizadegan F. effect of fennel extract on the improvement of memory disorders in beta amyloid alzheimer model of male wistar rats. *Sci J Ilam Univ Med Sci* 2019;27(1):1-12. DOI: [10.29252/sjimu.27.1.1](https://doi.org/10.29252/sjimu.27.1.1)
 19. Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. *J Bodywork Movement Ther* 2008;12(1):72-5. DOI: [10.1016/j.jbmt.2007.05.004](https://doi.org/10.1016/j.jbmt.2007.05.004)
 20. Zarrindast M, Madadi F, Ahmadi S. Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. *J Psychopharmacol* 2009;23(6):645-51. DOI: [10.1177/0269881108093926](https://doi.org/10.1177/0269881108093926)
 21. Liu J, Wang A, Li L, Huang Y, Xue P, Hao A. Oxidative stress mediates hippocampal neuron death in rats after lithium-pilocarpine-induced status epilepticus. *Seizure* 2010;19(3):165-72. DOI: [10.1016/j.seizure.2010.01.010](https://doi.org/10.1016/j.seizure.2010.01.010)
 22. Batista PA, Werner MF, Oliveira EC, Burgos L, Pereira P, Brum LF, et al. The antinociceptive effect of (-)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. *J Pain* 2010;11(11):1222-9. DOI: [10.1016/j.jpain.2010.02.022](https://doi.org/10.1016/j.jpain.2010.02.022)

23. Wu Q, Yu L, Qiu J, Shen B, Wang D, Soromou LW, et al. Linalool attenuates lung inflammation induced by *Pasteurella multocida* via activating Nrf-2 signaling pathway. *Int Immunopharmacol* 2014;21(2):456-63. DOI: [10.1016/j.intimp.2014.05.030](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.05.030)
24. Li J, Zhang X, Huang H. Protective effect of linalool against lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced liver injury in mice. *Int Immunopharmacol* 2014;23(2):523-9. DOI: [10.1016/j.intimp.2014.10.001](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.10.001)
25. Beier RC, Byrd JA, Kubena LF, Hume ME, McReynolds JL, Anderson RC, et al. Evaluation of linalool, a natural antimicrobial and insecticidal essential oil from basil: effects on poultry. *Poult Sci* 2014;93(2):267-72. DOI: [10.3382/ps.2013-03254](https://doi.org/10.3382/ps.2013-03254)
26. Saadati H, Babri S, Ahmadiasl N, Mashhadi M. Effects of exercise on memory consolidation and retrieval of passive avoidance learning in young male rats. *Asian J Sports Med* 2010;1(3):137-42. DOI: [10.5812/asjasm.34858](https://doi.org/10.5812/asjasm.34858)
27. Liu HI, Zhao G, Zhang H, Shi LD. Long-term treadmill exercise inhibits the progression of Alzheimer's disease-like neuropathology in the hippocampus of APP/ PS1 transgenic mice. *Behav Brain Res* 2013;256:261-72. DOI: [10.1016/j.bbr.2013.08.008](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.08.008)
28. Pappolla MA, Omar RA, Kim KS, Robakis NK. Immunohistochemical evidence of oxidative [corrected] stress in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1992;140(3):621-8. [Link](#)
29. Massaad CA, Washington TM, Pautler RG, Klann E. Overexpression of SOD-2 reduces hippocampal superoxide and prevents memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(32):13576-81. DOI: [10.1073/pnas.0902714106](https://doi.org/10.1073/pnas.0902714106)
30. Costa DA, de Oliveira GA, Lima TC, dos Santos PS, de Sousa DP, de Freitas RM. Anticonvulsant and antioxidant effects of cyano-carvone and its action on acetylcholinesterase activity in mice hippocampus. *Cell Mol Neurobiol* 2012;32(4):633-40. DOI: [10.1007/s10571-012-9812-8](https://doi.org/10.1007/s10571-012-9812-8)
31. Trabace L, Kendrick KM, Castrignano S, Colaianna M, De Giorgi A, Schiavone S, et al. Soluble amyloid beta1-42 reduces dopamine levels in rat prefrontal cortex: relationship to nitric oxide. *Neuroscience* 2007;147(3):652-63. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2007.04.056](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.04.056)
32. Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975;72(5):1858-62. DOI: [10.1073/pnas.72.5.1858](https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858)
33. Celik S, Ozkaya A. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H₂O₂. *J Biochem Mol Biol* 2002;35(6):547-52. DOI: [10.5483/bmbrep.2002.35.6.547](https://doi.org/10.5483/bmbrep.2002.35.6.547)
34. Macedo EM, Santos WC, Sousa BP Neto, Lopes EM, Piauilino CA, Cunha FV, et al. Association of terpinolene and diclofenac presents antinociceptive and anti-inflammatory synergistic effects in a model of chronic inflammation. *Braz J Med Biol Res* 2016;49(7):e5103. DOI: [10.1590/1414-431X20165103](https://doi.org/10.1590/1414-431X20165103)
35. Hong JT. NF-kB as a mediator of brain inflammation in AD. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2017;16(1):18715366. [Link](#)
36. Habtemariam S. Protective effects of caffeic acid and the Alzheimer's brain: an update. *Mini Rev Med Chem* 2017;17(8):667-74. DOI: [10.2174/1389557516666161130100947](https://doi.org/10.2174/1389557516666161130100947)
37. Adlard PA, Perreau VM, Pop V, Cotman CW. Voluntary exercise decreases amyloid load in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2005;25(17):4217-21. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.0496-05.2005](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0496-05.2005)