

## اثر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط همراه با مصرف زعفران بر روند حافظه و

### یادگیری در موشهای آلزایمری مدل تریمتیلتین

فاطمه اکبری<sup>۱</sup>، مهرداد مقدسی<sup>۲</sup>، سیروس فارسی<sup>۳</sup>، محمدامین عدالت منش<sup>۴</sup>

#### چکیده

**سابقه و هدف:** اگرچه مطالعات بر انجام فعالیت های ورزشی تأکید دارند، اما اثر تعاملی فعالیت ورزشی همراه با مصرف زعفران بر عملکرد شناختی بیماران آلزایمری به درستی مشخص نیست. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با زعفران بر ارزیابی حافظه کاری و حافظه احترازی غیرفعال در موشهای صحرایی تیمار شده با نوروتوکسین به عنوان مدلی از بیماری آلزایمر بود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد اسپراگ داولی با تزریق درون صفاقی ۸ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان، سم تری متیل تین مبتلا به بیماری آلزایمر شده و در گروه های (۱) کنترل مبتلا به آلزایمر، (۲) تمرین استقامتی (۳) تمرین استقامتی و مصرف زعفران (۴) مصرف زعفران و (۵) شم تقسیم شدند. جهت بررسی اثرات القاء بیماری آلزایمر بر متغیرهای تحقیق ۸ سر موش صحرایی سالم در گروه کنترل قرار گرفتند. موش های صحرایی گروه های ۲ و ۳ به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته، هر جلسه ۱۵ تا ۳۰ دقیقه و با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه بر نوارگردان ویژه موش های صحرایی دویدند و گروه های ۳ و ۴ به مدت هشت هفته روزانه ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم از وزن بدن موش های صحرایی عصاره آبی زعفران را به صورت صفاقی دریافت کردند. آزمون حافظه کاری با استفاده از دستگاه ماز (Y-Maze) و حافظه احترازی غیرفعال توسط شاتل باکس اندازه گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل یافته های تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی توکی و آنالیز واریانس دو طرفه انجام شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد تمرین استقامتی به تنهایی و مصرف عصاره آبی زعفران موجب بهبود معنی دار حافظه کاری ( $P=0/002$ ) و  $F=11/09$  برای تمرین استقامتی و  $P=0/01$  و  $F=7/51$  برای عصاره زعفران) و حافظه احترازی غیرفعال ( $P=0/001$ ) و  $F=22/20$  برای تمرین استقامتی و  $P=0/001$  و  $F=25/83$  برای عصاره زعفران) در موش های صحرایی مبتلا به بیماری آلزایمر می شود. همچنین تعامل تمرین استقامتی و مصرف عصاره آبی زعفران در کاهش مدت زمان سپری شده در خانه تاریک معنی دار بود ( $F=23/07$  و  $P=0/001$ ). این در حالی بود که تعامل تمرین و عصاره آبی زعفران در افزایش مدت زمان ورود به خانه تاریک و افزایش درصد رفتارهای تناوبی در موش های صحرایی آلزایمری شده با سم تری متیل تین معنی دار نبود.

**نتیجه گیری:** به نظر می رسد تمرین استقامتی و مصرف عصاره آبی زعفران موجب بهبود حافظه کاری و حافظه احترازی در موش های صحرایی آلزایمری شده با سم تری متیل تین می گردند.

**واژه های کلیدی:** تمرین استقامتی، مکمل زعفران، حافظه کاری، حافظه احترازی، بیماری آلزایمر

۱ دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد لارستان، دانشگاه آزاد اسلامی، لارستان، ایران

۲ دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران، نویسنده مسئول: mehrzad.moghadasi@gmail.com

۳ استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد لارستان، دانشگاه آزاد اسلامی، لارستان، ایران

۴ استادیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

بیماری آلزایمر نوعی بیماری مرتبط با سن است که روز به روز افراد بیشتری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱). پژوهش‌ها نشان می‌دهند این بیماری پیش رونده عصبی، یکی از دلایل اصلی دمانس<sup>۱</sup> (شرایطی که در آن توانایی تفکر، درک کردن و به یاد آوردن کاهش می‌یابد) بوده و طبق پیش بینی های انجمن جهانی بیماری آلزایمر شیوع این بیماری تا سال ۲۰۴۰ به ۸۰ میلیون نفر در سر تاسر جهان خواهد رسید (۲). علاوه بر آسیب های فردی و جسمی بیماری آلزایمر، این بیماران از لحاظ اقتصادی و اجتماعی هزینه های سنگینی را متحمل می‌شوند، به گونه ای که سومین رتبه هزینه های بهداشتی در ایالات متحده آمریکا را در سال ۲۰۰۸ به خود اختصاص داده بود (۱) و (۲). پژوهشگران بر این اعتقادند که در پاتوفیزیولوژی بیماری آلزایمر، سازو کار زیست شناختی چون افزایش سن، ژنوتیپ لیپوپروتئین E4، چاقی، مقاومت به انسولین، عوامل عروقی، اختلال چربی، فشار خون و نشانگر های التهابی شرکت دارند (۳). علاوه بر این پژوهشگران شواهدی را گزارش کرده اند که بیماری آلزایمر را یک اختلال عروقی و یا اختلال در جریان خون مغز می‌دانند. بررسی‌ها نشان می‌دهند که که متعاقباً این مشکلات سبب ایجاد اختلال در ارتباطات شبکه نورونی و نهایتاً تخریب نورون‌های خاصی می‌شوند (۴). همچنین مطالعات پیشین نشان داده است تخریب نورون‌ها پس از تجمع پپتیدهای آمیلوئید بتا، موجب آسیب های فعالیت سیناپسی و مهار تقویت دراز مدت در سیناپس‌های تحریکی شده که هر دو این وقایع منجر به اختلال در سیستم یادگیری و حافظه می‌شوند (۵). با توجه به اینکه پدیده‌ی تسهیل سیناپسی و تقویت و تضعیف بلند مدت سیناپسی جزء اساسی‌ترین سازوکار درگیر در شکل‌گیری و تثبیت حافظه هستند و هیپوکامپ با ارسال نوعی پیام به ناحیه انبار کننده ی حافظه بلند مدت، دستور ذخیره اطلاعات را صادر می‌کند از این رو نقش اصلی را در تامین محرک جهت تبدیل حافظه کوتاه مدت به حافظه بلند مدت ایفا می‌کند (۶)، با توجه به اهمیت سبک زندگی و شیوع روز افزون بیماری آلزایمر و تاثیر آن بر حافظه و یادگیری در استراتژی درمانی این بیماری یافتن دارو و روش های درمانی مختلف که بتواند تا حدودی از روند این بیماری پیشگیری کند و به بقای این دسته از بیماران بیفزاید دارای اهمیت فراوانی است (۷). امروزه به فعالیت بدنی و ورزش نه تنها به عنوان روشی برای گذراندن اوقات فراغت، بلکه به عنوان ضرورتی غیر قابل انکار برای سلامت و بهزیستی می‌نگرند، محققین معتقدند فعالیت بدنی به طور گسترده ای به عنوان یک راهبرد رفتاری به منظور افزایش سلامت عمومی از جمله عملکرد ذهنی پذیرفته شده است. همچنین فعالیت ورزشی با درگیر کردن هماهنگ و هدفمند اعصاب و عضله جهت انجام حرکات دقیق و منظم موجب بهبود سیستم عصبی می‌گردند، و از آنجایی که اعصاب رشته های ارتباطی مغز با اعضای بدن هستند فعالیت اعضای بدن نیز تحت تاثیر مغز قرار می‌گیرند. بنابراین ورزش اعصاب ارادی را به طور مستقیم و اعصاب غیر ارادی را به طور غیر مستقیم تحت تاثیر قرار می‌دهد (۶). پژوهشگران بر این اعتقادند که فعالیت ورزشی سطوح آمین ها و اندورفین ها را دستکاری کرده و این تغییرات موجب تاثیرات مثبتی در مغز می‌شوند، همچنین سطوح بالای نوراپی نفرین، کاتکول آمین ها، سروتونین و میانجی های عصبی دیگر ممکن است تاثیر ورزش بر یادگیری را توجیه کند (۸)، با این وجود بهبود و فرایند یادگیری مستلزم افزایش عواملی چون نروتروفین‌ها است و تحقیقات کاهش فشار اکسایشی و افزایش نروتروفین‌ها را به شدت، مدت زمان و نوع فعالیت ورزشی وابسته می‌دانند (۹) در رابطه با اثر فعالیت های ورزشی بر حافظه و یادگیری مشاهده شده است که شش ماه ورزش های هوازی با شدت بالا موجب بهبود حافظه،

<sup>1</sup> Dementia

عملکرد شناختی در افراد بالای ۷۰ سال گردید (۱۰، ۱۱)؛ از سویی برخی از مطالعات نشان داده‌اند تمرینات استقامتی با شدت بالا موجب افزایش فشار اکسایشی، کاهش نروتروفین‌ها، افزایش لیپوپرواکسید (۱۲) اختلال دژنراتیو و عملکرد میتوکندریایی (۱۳) در جهت اختلال در سلول‌های عصبی می‌شود، در مطالعات پیشین و نقش موثر فشار اکسایشی در پیشرفت این بیماری استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان مورد توجه بیشتر محققین قرار گرفته است (۱۴). اگر چه داروهایی نیز وجود دارند که برای کاهش عوارض بیماری آلزایمر مورد استفاده قرار می‌گیرند با این وجود داروهای سنتتیک یا اثرات کمی در درمان بیماری آلزایمر دارند و یا دارای عوارض جانبی هستند. از این رو استفاده از گیاهان دارویی به دلیل توانایی آنها در اعمال اثرات محافظت نورونی از طریق مهار آنزیم استیل کولین استراز و یا از طریق مهار فشار اکسایشی مورد توجه اکثر پژوهشگران قرار گرفته است (۱۴). از میان گیاهان دارویی زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشد که اکثر محققین این خواص را به مواد و اجزای فعال تشکیل دهنده آن نسبت می‌دهند (۱۵). مطالعات نشان داده‌اند که مواد موجود در زعفران (کروسین) به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان و تقویت سیستم کولینرژیک نقش بسزایی در تقویت حافظه فضایی بازی می‌کند (۱۶). در رابطه با تاثیر زعفران و مواد موثره آن مطالعات زیادی بر حافظه و یادگیری انجام شده است که اکثر مطالعات تاثیرات بالینی زعفران را وابسته به دوز مصرفی می‌دانند، به عنوان مثال ۳۰ و ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش‌های صحرایی دریافت زعفران اثر معنی داری بر توانایی نگهداری اطلاعات و یادآوری داشت ولی اثر معنی داری بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوتوسین نداشت (۱۶)؛ در پژوهشی دیگر مشاهده شد دریافت ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم از وزن بدن موش‌های صحرایی کروسین موجب بهبود حافظه احترازی و فعالیت حرکتی موش‌های صحرایی دارای اختلال حافظه و حرکت ناشی از تجویز دوکسوروبیسین گردید (۱۷). علاوه بر این اخیرا بررسی اثرات تعاملی و مصرف همزمان گیاهان دارویی و تمرینات ورزشی بر درمان بیماری‌های مختلف مورد توجه پژوهشگران حوزه علوم ورزشی قرار گرفته است به عنوان مثال پژوهشگران نشان داده‌اند که مصرف عصاره آبی زعفران و تمرین استقامتی دارای اثرات تعاملی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در قلب و بخش پیش حرکتی کورتکس مغز در موش‌های صحرایی جوان متعاقب یک جلسه فعالیت ورزشی و امانده ساز می‌باشد (۱۸) امروزه استفاده از تری متیل تین به عنوان یکی از روش‌های مدل سازی آلزایمر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. تری متیل تین ۱ کلراید (TMT)، به عنوان ارگانوتین مخرب در سیستم عصبی مرکزی شناخته شده است. پژوهشگران در مطالعات خود اشاره نموده‌اند که تری متیل تین یک ماده نوروتوکسیک است که به طور انتخابی سبب القا مرگ نورونی در سیستم لیمبیک و بخصوص در تشکیلات هیپوکامپ می‌گردد. شواهد نشان می‌دهند که TMT غلظت میانجی‌های عصبی دخیل در حافظه از قبیل استیل کولین و گلوتامات را تغییر می‌دهد. همچنین این ماده نوروتوکسیک به صورت اختصاصی نورون‌های نواحی مختلف هیپوکامپ و کورتکس را دچار آپوپتوز می‌نماید که در نتیجه موجب بروز تغییر در رفتار حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد (۱۹). تحقیقات موجود برای مطالعه درمان‌های اختلالات حافظه و یادگیری در مدل‌های حیوانی، ترکیبی از آنالیزهای مولکولی و آزمون‌های رفتاری است. از آنجا که پژوهشگران قادر نیستند از انسان به عنوان مدل تحقیقاتی برای پژوهش روی بیماری‌های حافظه استفاده نمایند، از آغاز قرن بیستم مدل‌های جانوری حافظه و یادگیری مورد توجه بسیاری از مقالات علمی بوده است. با توجه به اینکه حافظه و یادگیری در حیوانات با اعمال شناختی اختصاصی ارزیابی می‌گردند در این مطالعه حافظه احترازی غیر فعال (از آنجایی که

<sup>1</sup> Trimethyltin chloride

جانوران آزمایشگاهی علاقمند به محیط تاریک هستند در این روش با استفاده از یک مدل درد زا می آموزند که از محیط تاریک دوری کنند) و آزمون ارزیابی حافظه با استفاده از دستگاه ماز Y (ارزیابی حافظه فضایی کوتاه مدت است که بر اساس حس کنجکاو و اکتشاف محیط های جدید بنا شده است) جهت بررسی حافظه و یادگیری مورد استفاده قرار گرفته است (۲۰). همچنین با توجه به نبود اطلاعات کافی در رابطه با تاثیر همزمان زعفران و تمرین استقامتی بر حافظه و یادگیری، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف زعفران بر ارزیابی حافظه کاری و حافظه احترازی غیرفعال در موش‌های صحرایی تیمار شده با نوروتوکسین تری-متیل‌تین به عنوان مدلی از بیماری آلزایمر انجام شد. از این رو مطالعه حاضر در پی پاسخ به این سوال است که آیا هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف زعفران بر روند حافظه و یادگیری در مدل تری‌متیل‌تینی بیماری آلزایمر اثر گذار است یا خیر؟

### روش پژوهش

#### نمونه‌های تحقیق

در این مطالعه تجربی ابتدا ۴۸ سر موش صحرایی نر از نژاد اسپراگ داوولی با میانگین سنی هشت هفته، و میانگین وزنی  $30/65 \pm 22$  گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت خریداری و به عنوان نمونه آماری در نظر گرفته شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این واحد دانشگاهی، نمونه‌ها به مدت یک هفته جهت سازگاری در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتو کلادو نگهدار شدند. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن تنظیم می‌شد و نمونه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. لازم به ذکر است تعداد ۵ سر موش صحرایی در هر قفس نگهداری شدند. در روز هشتم، تعداد ۴۰ سر موش‌های صحرایی با تزریق درون صفاقی ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نوروتوکسین تری‌متیل‌تین قرار گرفتند و پس از دو هفته از حیوانات آزمایشگاهی جهت بررسی القا آلزایمر آزمون یادگیری انجام شد (۲۱ و ۷). پس از ۲۴ ساعت که از تاثیر کامل آن بر هیپوکامپ اطمینان حاصل شد، نمونه‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ سری (۱) کنترل مبتلا به آلزایمر، (۲) تمرین استقامتی (۳) تمرین استقامتی همراه با مصرف زعفران (۴) مصرف زعفران و (۵) گروه شم (مبتلا به بیماری آلزایمر و تزریق درون صفاقی حلال زعفران یا نرمال سالین جهت بررسی اثرالقا استرس تزریق و حلال زعفران بر متغیرهای پژوهش) تقسیم شدند. این نکته قابل ذکر است که جهت بررسی اثرات تزریق نوروتوکسین تری‌متیل‌تین (ساخت شرکت سیگما از کشور آلمان) بر سطوح متغیرهای پژوهش تعداد ۸ سر موش صحرایی سالم در گروه کنترل سالم هفته اول قرار گرفتند. در ادامه موش‌های صحرایی گروه‌های ۲ و ۳ به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته و هر جلسه ۱۵ تا ۳۰ دقیقه و با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان ویژه موش‌های صحرایی دویدند (۲۲) و گروه‌های ۳ و ۴ به مدت هشت هفته روزانه ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن موش‌های صحرایی، عصاره آبی زعفران را به صورت صفاقی دریافت کردند. جهت تهیه عصاره آبی زعفران در این مطالعه ۹/۲ گرم زعفران را در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (نرمال سالین) ریخته و مخلوط را به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کرده سپس محلول را از صافی عبور داده شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲۳). آزمون حافظه کاری از تمامی موش‌های صحرایی با استفاده از آزمون ماز Y (۲۴) و جهت اندازه‌گیری حافظه احترازی غیر فعال موش‌های صحرایی

از شاتل باکس (۲۰) استفاده شد. این طرح با اخذ مجوز و تحت نظارت کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و بر اساس معاهده نگهداری و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی ۱۹۹۳ انجام شده است.

برنامه تمرینی

جهت انجام تمرینات استقامتی با استفاده از نوارگردان ویژه موش های صحرایی ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان، استفاده شد. موش های صحرایی به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته بدون شیب به تمرینات مورد نظر پرداختند. جهت آشنایی حیوانات با نوار گردان موش های صحرایی به مدت یک هفته به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه با سرعت ۵ الی ۸ دقیقه بر روی نوارگردان بدون شیب راه رفتند. همچنین در مرحله اضافه بار موش های صحرایی برای دو هفته، هر جلسه ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به تمرین استقامتی پرداختند و پس از آن شدت و مدت تمرینات به تدریج تا ۳۰ دقیقه و سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در هفته هشتم رسید. همچنین در هر جلسه تمرین ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد کردن به مدت زمان تمرینات اصلی افزوده شد این نکته قابل ذکر است که تمرین با این شدت معادل شدت ۵۰ تا ۵۵ درصد حداکثر اکسژن مصرفی موش های صحرایی گزارش شده است (۲۱ و ۲۲) که معادل شدت متوسط بوده و به صورت تداومی انجام شد. جهت درک بهتر، پروتکل تمرین در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. پروتکل تمرین در سه مرحله مختلف طی هشت هفته تمرین							
هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
گرم کردن							
۵۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه							
۱۵ دقیقه سرعت ۱۵ متر بر دقیقه	۱۷ دقیقه سرعت ۱۵ متر بر دقیقه	۱۹ دقیقه سرعت ۱۷ متر بر دقیقه	۲۱ دقیقه سرعت ۱۷ متر بر دقیقه	۲۳ دقیقه سرعت ۱۹ متر بر دقیقه	۲۵ دقیقه سرعت ۱۹ متر بر دقیقه	۲۷ دقیقه سرعت ۲۰ متر بر دقیقه	۳۰ دقیقه سرعت ۲۰ متر بر دقیقه
سرد کردن							
۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه							

#### آزمون ماز Y شکل برای ارزیابی حافظه

این آزمون جهت بررسی میزان رفتار های تناوبی و سنجش حافظه کاری موش های صحرایی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی در محل آزمایشگاه رفتاری حیوانات آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این دانشکده انجام شد. آزمون دستگاه ماز Y شکل از سه بازو و از جنس MDF تشکیل شده است. هر بازو ۴۶ سانتی متر طول، ۱۵ سانتی متر ارتفاع و ۱۵ سانتی متر پهنا داشته و به صورت زاویه های متساوی الاضلاع نسبت به همدیگر قرار می گیرند و بازو ها از طریق یک محوطه مرکزی به هم وصل می گردند. برای انجام این آزمون ابتدا موش صحرایی در قسمت انتهایی یک بازو قرار می گیرد و امکان دسترسی آن به تمام نواحی ماز در یک بازه زمانی ۵ دقیقه ای فراهم می شد. تعداد دفعات ورود حیوان به هر بازو مشاهده و ثبت می گردید. ورود حیوان به بازو زمانی در نظر گرفته می شد که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار گیرند، رفتارهای تناوبی به عنوان ورود های

موفق و پشت سر هم (سریال) به داخل همه ی بازو ها در مجموعه های ۳ تایی همپوشانی کننده در نظر گرفته می شد. به این ترتیب درصد تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (تعداد کل بازو های وارد شده) ضربدر ۱۰۰ محاسبه می شدند (۲۰).

#### بررسی رفتار احترازی غیرفعال

این آزمون ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی در محل آزمایشگاه رفتاری حیوانات آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این دانشکده طی دو روز و دو مرحله متوالی انجام شد.

جلسه خوگرفتن: تمام نمونه ها حداقل ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. سپس هر موش در محفظه روشن قرار داده شد و بعد از ۵ ثانیه در گیوتینی باز شد و به حیوان اجازه داده شد وارد محفظه تاریک شود. زمان تأخیر اولیه یعنی زمانی که طول کشید تا حیوان از محفظه روشن وارد محفظه تاریک شود، یادداشت شد. ملاک ورود حیوان به محفظه تاریک وارد شدن پاهای عقبی به محفظه بود و در این هنگام درب گیوتینی بسته شد. پس از گذشت ۱۰ ثانیه حیوان به قفس خود بازگردانده شد. حیواناتی که زمان تأخیر ورودی بیش از ۱۰۰ ثانیه داشتند از آزمایش حذف شدند (۲۰). که در تحقیق حاضر ۲ سر موش صحرایی در گروه کنترل سالم پس از ۱۰۰ ثانیه وارد خانه تاریک نشده و حذف شدند.

آموزش اکتساب حافظه: ۳۰ دقیقه بعد موش مجدداً در محفظه روشن قرار می گرفت و بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می شد و به محض این که حیوان وارد محفظه تاریک می شد، درب گیوتینی بسته شده و از طریق میله های کف محفظه به حیوان شوک داده می شد (۵۰ هرتز، ۱ میلی آمپر، ۳ ثانیه) و بعد از ۱۵ تا ۲۰ ثانیه به قفسش باز گردانده می شد. ۲ دقیقه بعد، بار دیگر حیوان در محفظه روشن قرار داده می شد. اگر حیوان دوباره وارد محفظه سیاه می شد، مجدداً شوک می گرفت. اما اگر یادگیری داشت و تا دو دقیقه وارد محفظه تاریک نمی شد، آزمون خاتمه داده می شد و موش به قفسش بازگردانده می شد (۲۰).

آزمون بازیابی حافظه: ۲۴ ساعت بعد از آموزش، آزمون بازیابی انجام شد تا حافظه بلندمدت حیوان بررسی شود. در این مرحله هر حیوان در محفظه روشن قرار می گرفت و بعد از ۲۰ ثانیه درب گیوتینی باز می شد و زمانی که طول کشید تا حیوان وارد محفظه تاریک شود و همچنین مدت زمان سپری شده ماندن در خانه تاریک برای هر موش در مدت زمان آزمون یادداشت می گردید، مدت زمان آزمون ۵ دقیقه در نظر گرفته شد (۲۰) پس از پایان پروتکل و آزمون های رفتاری در تحقیق حاضر موش های صحرایی با رعایت کامل اصول اخلاقی و به وسیله کتامین و زایلوزین بی هوش و قربانی شدند.

#### تجزیه و تحلیل آماری

در ابتدا برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع یافته ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. پس از آن برای تجزیه و تحلیل یافته ها از آزمون های t همبسته، تحلیل واریانس یک طرفه همراه با آزمون تعقیبی توکی و تحلیل واریانس دو طرفه در نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد. حداقل سطح معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

#### یافته ها

نتایج آزمون شاپیرو-ویلک نشان داد توزیع یافته های تحقیق طبیعی می باشد. همچنین جدول ۲ میانگین و انحراف استاندارد وزن موش های صحرایی گروه های تحقیق در پیش آزمون و پس آزمون ارائه شده است. همانطور که

مشاهده می شود نتایج آزمون t همبسته نشان داد وزن موش ها در تمام گروه ها پس از اتمام دوره تمرین نسبت به قبل از آن افزایش معنی داری یافته است.

## جدول ۲. مشخصات وزنی آزمودنی ها در گروه های مختلف پژوهش (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد)

گروه	وزن پیش آزمون (گرم)	وزن پس آزمون (گرم)
کنترل مبتلا به آلزایمر	۲۴۰/۵۰ $\pm$ ۳۶/۲۵	۲۶۸/۴۳ $\pm$ ۲۵/۱۸*
کنترل سالم	۲۵۳/۳۴ $\pm$ ۲۰/۴۵	۲۷۱/۷۰ $\pm$ ۴۰/۱۲*
تمرین استقامتی	۲۶۰/۳۸ $\pm$ ۴۵/۱۲	۲۸۵/۴۱ $\pm$ ۱۵/۲۸*
تمرین استقامتی + مصرف زعفران	۲۴۳/۶۰ $\pm$ ۳۰/۱۵	۲۸۰/۲۵ $\pm$ ۳۵/۱۲*
مصرف زعفران	۲۴۰/۵۰ $\pm$ ۳۶/۲۵	۲۴۹/۲۳ $\pm$ ۲۰/۳۵*
گروه شم	۲۵۰/۴۳ $\pm$ ۲۵/۱۰	۲۹۸/۴۵ $\pm$ ۲۳/۱۸*

\* اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ )

میانگین و انحراف استاندارد درصد رفتارهای تناوبی، مدت زمان تاخیر ورود به اتاق تاریک و مدت زمان سپری شده در خانه تاریک در جدول ۳ ارائه شده است، جهت بررسی تفاوت متغیر ها در گروه های کنترل سالم، کنترل مبتلا به آلزایمر و گروه شم نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تفاوت معنی داری در درصد رفتارهای تناوبی ( $F_{2,20} = 8/91$  و  $p = 0/002$ )، مدت زمان تاخیر ( $F_{2,20} = 3/31$  و  $p = 0/007$ ) و مدت زمان سپری شده در اتاق تاریک ( $F_{2,20} = 14/39$  و  $p = 0/001$ ) در گروه های کنترل سالم، کنترل مبتلا به آلزایمر و گروه شم وجود دارد. همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد القا بیماری آلزایمر توسط TMT اثر معنی داری بر کاهش درصد رفتارهای تناوبی در موش های صحرائی دارد ( $M = 49/25$  و  $p = 0/005$ )، با این وجود تفاوت معنی داری در درصد رفتارهای تناوبی در گروه کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر با گروه شم وجود ندارد ( $M = 2/00$  و  $p = 0/98$ )، القا بیماری آلزایمر توسط TMT اثر معنی داری بر کاهش مدت زمان تاخیر در ورود به خانه تاریک در موش های صحرائی دارد ( $M = -51/25$  و  $p = 0/01$ ) با این وجود تفاوت معنی داری در مدت زمان تاخیر در ورود به خانه تاریک در گروه کنترل و شم وجود ندارد ( $M = -1/34$  و  $p = 0/99$ )، القا بیماری آلزایمر توسط TMT اثر معنی داری بر افزایش مدت زمان سپری شده در خانه تاریک در موش های صحرائی دارد ( $M = -93/55$  و  $p = 0/001$ )، با این وجود تفاوت معنی داری در مدت زمان سپری شده در خانه تاریک بین گروه کنترل و شم وجود ندارد ( $M = -56/63$  و  $p = 0/13$ )، نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد هشت هفته تمرین استقامتی ( $F = 11/09$ ،  $p = 0/002$ ) و اندازه اثر (۰/۲۸) و مصرف زعفران ( $F = 7/51$ ،  $p = 0/01$ ) و اندازه اثر (۰/۲۱) اثر معنی داری بر افزایش درصد رفتارهای تناوبی در موش های صحرائی دارند. با این وجود تمرین استقامتی همراه با مصرف زعفران دارای اثر تعاملی در افزایش درصد رفتارهای تناوبی در موش های صحرائی مبتلا به بیماری آلزایمر نمی باشد ( $F = 0/21$ ،  $p = 0/64$ ) و اندازه اثر (۰/۰۰۸). هشت هفته تمرین استقامتی ( $F = 30/95$ ،  $p = 0/001$ ) و اندازه اثر (۰/۵۲) و مصرف زعفران ( $F = 0/001$ ،  $p = 0/001$ ) و اندازه اثر (۰/۳۷) اثر معنی داری بر افزایش مدت زمان تاخیر در ورود به خانه تاریک در موش های صحرائی مبتلا به بیماری آلزایمر دارند. با این وجود تمرین استقامتی و مصرف زعفران دارای اثرات تعاملی در افزایش مدت زمان تاخیر در ورود به خانه تاریک در موش های صحرائی مبتلا به بیماری آلزایمر نمی باشد ( $F = 0/58$ ،  $p = 0/45$ ) و اندازه اثر (۰/۰۲) و هشت هفته تمرین استقامتی ( $F = 22/20$ ،  $p = 0/001$ ) و اندازه اثر (۰/۴۴) و

مصرف زعفران ( $F=25/83, p=0/001$ ) و اندازه اثر ( $0/48$ ) اثر معنی داری بر کاهش مدت زمان سپری شده در خانه تاریک در موش های صحرایی مبتلا به بیماری آلزایمر دارند. همچنین تمرین استقامتی و مصرف زعفران دارای اثرات تعاملی در کاهش مدت زمان سپری شده در خانه تاریک در موش های صحرایی مبتلا به بیماری آلزایمر می باشند ( $F=23/07, p=0/001$ ) و اندازه اثر ( $0/45$ ).

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد سطوح متغیرهای تحقیق در گروه های شش گانه تحقیق			
گروه	درصد رفتارهای تناوبی	مدت زمان تاخیر در ورود به خانه تاریک (ثانیه)	مدت زمان سپری شده در خانه تاریک (ثانیه)
کنترل سالم	۸۹/۱۲±۳۱/۸۳	۸۵/۳۳±۳۴/۷۶	۱۴/۰۷±۱۱/۷۷
کنترل مبتلا به بیماری آلزایمر	۳۹/۸۷±۱۹/۰۱	۴۱/۸۳±۲۳/۶۶	۱۰۷/۶۲±۵۰/۳۵
شم	۴۲/۵۱±۳۰/۰۹	۳۹/۷۹±۲۲/۱۸	۷۶/۸۷±۳۳/۹۰
مصرف زعفران	۶۸/۹۲±۲۹/۷۶	۸۵/۳۳±۳۴/۷۶	۱۵/۷۵±۶/۹۵
تمرین استقامتی	۷۴/۲۶±۱۸/۹۶	۱۰۳/۷۵±۱۷/۶۹	۱۹/۲۰±۸/۹۵
تمرین استقامتی و مصرف زعفران	۹۴/۹۱±۳۱/۹۶	۱۶۷/۰۰±۵۶/۹۷	۱۶/۶۰±۹/۹۵

### بحث و بررسی

نتایج نشان داد القاء بیماری آلزایمر توسط TMT اثر معنی داری بر کاهش درصد رفتارهای تناوبی (کاهش حافظه کاری) و حافظه احترازی غیر فعال موش های صحرایی دارد. تری متیل تین کلراید یک ماده نوروتوکسیک است که به طور انتخابی سبب مرگ نورونی در سیستم لیمبیک و بخصوص تشکیلات هیپوکامپ می گردد. شواهد نشان می دهد که تری متیل تین غلظت میانجی های عصبی دخیل در حافظه از قبیل استیل کولین و گلوتامات را تغییر می دهد. شواهدی نیز وجود دارد که این ماده طریق ایجاد آسیب اکسایشی مغزی سبب ایجاد اختلال حافظه می گردد. در برخی از مطالعات تخریب نورون های هیپوکامپ و ایجاد مدل تری متیل تینی بیماری آلزایمر وابسته به هیپوکامپ از داروی تری متیل تین استفاده شده است (۱۹). پژوهشگران بر این باورند که هیپوکامپ یک میلیون سلول هرمی دارد که هرکدام از این سلول ها یک سلول مکانی نامیده می شود و یک موقعیت را در فضا رمز گذاری می کنند و موقعیت یک حیوان در یک فضای خاص به صورت الگوی شلیک همزمان این سلول هرمی رمز گذاری می شوند. وجود این سلول های مکانی و تشکیل زمینه های مکانی چند دقیقه پس از برخورد حیوان با یک فضای جدید و سپس حفظ و دوام این زمینه ها برای مدت زمان طولانی، اساس ایجاد یادگیری و حافظه فضایی را تشکیل می دهند. به طوری که اگر بنا به دلایلی این زمینه ها تشکیل نشده و تثبیت نشوند یادگیری و حافظه فضایی رخ نمی دهد، از این رو به نظر می رسد قرار گرفتن در معرض TMT موجب کاهش حافظه و یادگیری و در نهایت بیماری های زوال عقل و آلزایمر می گردند (۱۹ و ۲۵). پژوهش های پیشین بیان کردند که تزریق ۸ میلی گرم بر کیلوگرم از وزن موش های صحرایی TMT اثر معنی داری بر تخریب سلول های گرانولار مخچه، افزایش در رفتارهای اضطرابی، کاهش در رفتار های اکتشافی و همچنین کاهش سطوح BDNF و افزایش التهاب در موش



های صحرایی گردید (۲۲، ۲۳، ۲۵ و ۲۶). در نتیجه به نظر می رسد بر اساس مطالعات پیشین القای بیماری آلزایمر با استفاده از تزریق سم تری متیل تیل موجب کاهش درصد رفتارهای تناوبی (کاهش حافظه کاری) و حافظه احترازی غیر فعال موش‌های صحرایی می گردد.

نتایج نشان داد هشت هفته تمرین استقامتی موجب افزایش درصد رفتارهای تناوبی، مدت زمان تاخیر در ورود به اتاق تاریک و کاهش مدت زمان سپری شده در اتاق تاریک موجب بهبود حافظه احترازی غیر فعال موش‌های صحرایی آلزایمری شده با TMT گردید. پژوهشگران بر این باورند که تقویت دراز مدت<sup>۱</sup> (LTP) در اثر ورزش در نواحی مختلف هیپوکامپ افزایش می یابد. در نتیجه ورزش با سازو کارهایی چون افزایش سطوح BDNF به عنوان میانجی گر اثر های سیناپسی، اتصالات عصبی و پلاستیسیته در مغز موجب افزایش حافظه و یادگیری می شوند. همچنین ورزش از طریق تکثیر سلول ها در هیپوکامپ و مهار آپوپتوز در شکنج دندانه دار هیپوکامپ و افزایش فضای سیناپسی در قسمت های مختلف مغز موجب بهبود عملکرد سلول های عصبی می گردد. علاوه بر این محققین افزایش نورو ن زایی و پلاستیسیته را مکانیسمی برای افزایش حافظه و بهبود کارکرد سیستم عصبی می دانند (۸). با توجه به ارتباط افزایش سن و خطر ابتلا به بیماری آلزایمر (۱) عده ای از پژوهشگران مطالعات حیطه عملکرد حافظه و یادگیری را در مدل های حیوانی و نمونه های انسانی سالمند گزارش نموده اند. در رابطه با تاثیر ورزش بر حافظه و یادگیری مطالعاتی انجام شده است، با این وجود برخی از محققین شدت، نوع و مدت زمان فعالیت ورزشی را عاملی اثر گذار بر ساز و کار بهبود حافظه و یادگیری می دانند، از این رو محققین بیان نمودند که ۳ ماه تمرین شنا اثر بیشتری بر بهبود حافظه فضایی رت های سالمند در مقایسه با تمرینات هوازی داشت اگر چه تمرین هوازی بر نوارگردان نیز اثر معنی داری بر بهبود حافظه فضایی در موش های صحرایی سالمند داشت (۸). خدادادی و همکاران در سال ۱۳۹۶ بیان کردند که چهار هفته، پنج جلسه در هفته تمرین هوازی موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی در موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر گردید (۲۷)؛ از طرفی نتایج این مطالعه از حیث تاثیر بر حافظه فضایی و کاری با مطالعه حاضر همخوانی نداشت، با توجه به معنی دار نبودن افزایش حافظه کاری در مطالعه حاضر می توان تعداد جلسات در هفته، نوع و شدت تمرینات ورزشی را در سازو کار سلولی در جهت بهبود حافظه کاری دخیل دانست (۲۸) در رابطه با معنی دار نبودن اثر ورزش بر حافظه فضایی محققین بیان کردند که ورزش استقامتی اثر معنی داری بر حافظه فضایی موش های صحرایی سالمند ندارد (۲۸)، از دلایل همسو بودن این مطالعه با مطالعه حاضر می توان به شدت تمرین اشاره نمود.

نتایج نشان داد هشت هفته مصرف عصاره آبی زعفران اثر معنی داری بر بهبود حافظه کاری، افزایش در مدت زمان تاخیر در ورود به اتاق تاریک و همچنین کاهش مدت زمان سپری شده در خانه تاریک در موش های صحرایی آلزایمری شده با TMT دارد، پژوهشگران بر این عقیده اند که زعفران با بهبود فرآیند بهبود تحریک سیناپسی در هیپوکامپ پس از اعمال تحریک با فرکانس بالا بر نورو ن های پیش سیناپسی، و افزایش طولانی مدت در پتانسیل های سیناپسی می گردد، در نتیجه با افزایش تشدید طولانی مدت (LTP) که نوعی پلاستیسیته سیناپسی و قسمتی از اساس یادگیری و حافظه است موجب بهبود فرآیند حافظه و یادگیری می گردد. با توجه به تشدید تخریب پلاستیسیته TMT در توجیه یافته های مطالعه حاضر می توان اینگونه بیان نمود که زعفران توانست با تاثیر بر گیرنده های دخیل در یادگیری و حافظه فضایی در سلول های عصبی موجب کاهش تخریب حافظه در موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر در مطالعه حاضر گردد (۲۹). با این وجود پژوهشگران اصلی ترین عامل اثر گذار

<sup>1</sup> Long Term Potentiating

فیزیولوژیک زعفران را وابسته به دوز و مدت مصرف آنها می‌دانند (۳۰). همراستا با مطالعه حاضر دریافت ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم از وزن بدن موش‌های صحرایی عصاره آبی زعفران موجب بهبود حافظه فضایی موش‌های صحرایی آلزایمری شده با تزریق درون بطنی استروپتوزتوسین گردید (۳۱). دریافت ۳۰ و ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم از وزن بدن موش‌های صحرایی، عصاره آبی زعفران موجب بهبود معنی دار یادگیری در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزتوسین گردید (۱۶). از طرفی ناهمسو با مطالعه حاضر پژوهشگران بیان کردند که ۰/۵۶، ۰/۰۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی زعفران در موش‌های صحرایی اثر معنی داری بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی نداشت، با این وجود محققین بیان نموده اند که مواد موثره زعفران مانند کروسین و سافرانال با دوزهای پایین نیز موجب جلوگیری از تخریب سلول‌های عصبی و بهبود حافظه موش‌های صحرایی گردید، در نتیجه گیری کلی بیان داشتند که عصاره آبی زعفران، کروسین و سافرانال اثر معنی داری بر بهبود حافظه سالم نداشت ولی باعث جلوگیری از تخریب حافظه ناشی از هیوسین گردید (۳۰) از دلایل ناهمسو بودن این مطالعه با مطالعه حاضر را می‌توان تفاوت در دوز مصرفی دانست؛ از این رو می‌توان با دلایلی منطقی برای تاثیر دوز مصرفی زعفران و مواد موثر آن بر یادگیری و حافظه را توجیه کرد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمرینات استقامتی و مصرف عصاره آبی زعفران دارای اثرات تعاملی در کاهش مدت زمان سپری شده در خانه تاریک موش‌های صحرایی آلزایمری شده با TMT می‌باشند با این وجود تعامل تمرین و عصاره آبی زعفران در افزایش مدت زمان ورود به خانه تاریک و همچنین افزایش درصد رفتارهای تناوبی در موش‌های صحرایی آلزایمری شده با TMT معنی دار نبود. علی‌رغم یافتن مطالعاتی در مورد بررسی اثرات مصرف عصاره آبی زعفران و ورزش به طور جداگانه، در حیطة شناختی در نمونه‌های انسانی و حیوانی، مطالعه‌ای یافت نشد که به طور همزمان به بررسی اثر همزمان زعفران و تمرینات ورزشی بر حافظه و یادگیری در بیماری آلزایمر پرداخته باشد، اگر چه مطالعات پیشین به طور جداگانه به طور متعدد به بررسی تاثیر ورزش به تنهایی و بررسی تاثیر زعفران به تنهایی پرداخته‌اند. با مروری بر مطالعات به این نتیجه می‌رسیم که تمرینات ورزشی و عصاره آبی زعفران با سازوکاری متفاوت موجب بهبود یادگیری و حافظه کاری دارند ولی مطالعه حاضر نشان داد استفاده این دو عامل در کنار یکدیگر موجب کاهش مدت زمان سپری شده در خانه تاریک در موش‌های صحرایی آلزایمری شده با TMT گردید. سازوکارهای متعددی در رابطه با تاثیرات ورزش، زعفران و مواد تشکیل دهنده‌ی زعفران، در بهبود حافظه ذکر شده است ولی با بررسی مطالعات احتمالاً زعفران از مسیر افزایش پلاستیسیته، اثرات آنتی‌اکسیدانی و افزایش بیان گیرنده نروتروفین‌ها (۲۹)، و ورزش می‌توانند با تحریک سیناپسی در هیپوکامپ پس از اعمال تحریک با فرکانس بالا بر نورون‌های پیش‌سیناپسی، و افزایش طولانی مدت در پتانسیل‌های سیناپسی موجب جلوگیری از تحلیل عصبی در این سلول‌ها می‌گردند، در نتیجه با افزایش BDNF و تشدید طولانی مدت (LTP) که نوعی پلاستیسیته سیناپسی و قسمتی از اساس یادگیری و حافظه است موجب بهبود فرآیند حافظه و یادگیری می‌گردد (۸، ۲۹ و ۳۰). علاوه بر این پژوهشگران معتقدند ورزش‌های استقامتی و طولانی مدت همراه با مصرف آنتی‌اکسیدان‌هایی چون عصاره آبی زعفران اثرات تعاملی در کاهش آسیب‌های اکسایشی در ناحیه پیش‌حرکتی مغز موش‌های صحرایی متعاقب یک جلسه فعالیت ورزشی و امانده ساز گردد (۱۸)، با این وجود به نظر می‌رسد با توجه به معنی دار بودن ۳۰ و ۶۰ میلی گرم عصاره آبی زعفران بر حافظه و یادگیری (۱۶) احتمالاً در مطالعه حاضر استفاده از دوز بالاتر می‌توانست اثرات متفاوتی بر نتایج این تحقیق داشته باشد. علاوه بر

این با توجه به نتایج مطالعه حاضر مطالعات بیشتر در این زمینه جهت بدست آوردن اطلاعاتی بیشتر در رابطه با عدم تعامل زعفران و تمرینات استقامتی در بهبود درصد رفتارهای تناوبی و تاخیر در ورود به خانه تاریک ضروری به نظر می‌رسد. از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به محدود بودن اطلاعات در زمینه اثرات تعاملی زعفران همراه با فعالیت‌های ورزشی بر حافظه و یادگیری در مدل‌های حیوانی و نمونه‌های انسانی مبتلا به آلزایمر جهت مقایسه نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه حاضر اشاره نمود، از این رو بررسی‌های بیشتر در این زمینه در مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد، با توجه به اینکه زعفران از مواد تشکیل‌دهنده‌ی زعفران مانند کروسین، کروستین و سافرانال تشکیل شده است و نتایج مطالعه حاضر اثرات زعفران را نیز نشان داد از محدودیت‌های تحقیق حاضر این بود که محقق نتوانست دیگر مواد موثر زعفران را مورد بررسی قرار دهد، از این رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی به بررسی کروسین و سافرانال در کنار تمرینات ورزشی استفاده گردد. به طور کلی به نظر می‌رسد تمرین استقامتی و مصرف عصاره آبی زعفران هر کدام به تنهایی موجب بهبود حافظه کاری و حافظه احترازی موش‌های صحرایی آلزایمری شده به وسیله سم تری‌متیل‌تین می‌گردند.

### منابع

1. Lien EJ, Adams JD, Lien LL, Law M. 2018. Alternative approaches to the search for Alzheimer's disease treatments. *J Multidisciplinary Sci.* 1: 2-7.
2. Gold CA, Budson AE. 2008. Memory loss in Alzheimer's disease: implications for development of therapeutics. *Expert Rev Neurotherapeutic.* 8: 1879-1891.
3. Parsa N. 2011. Alzheimer's disease: A medical challenge of 21<sup>st</sup> century . *J Arak Uni Med Sci.* 14 :100-108.
4. Pasand MH, Alipour F, Borhan Haghghi M. 2016. Alzheimer's disease: Background, current and future aspects. *Shefaye Khatam.* 4:70-80.
5. Soheili M, Ara L, Bani Taba Bidgoli SM, Salami M. 2017. A review on amyloid beta peptides and Tau proteins involved in the Alzheimer's disease. *J Neyshabur Univ Med Sci.* 5:1-8.
6. Alivand F, Karimzadeh F. 2015. The effect of exercise on the memory improvement: a review of cellular and molecular mechanisms. *Shefaye Khatam.* 3:123-130.
7. Yazdani H, Soltani Tehrani B, Babaei P. 2015. Effects of kiss peptin13 on spatial memory in streptozotocin-induced Alzheimer's disease (AD) in Rats. *J Guilan Uni Med Sci.* 24:54-62.
8. Irandoust K, Taheri M, Sadeghi A. 2014. The effect of exercise (swimming and running) on motor function, learning and spatial memory in elder male wistar rats. *J Motor Learn Movement.* 6: 259-270.
9. Freitas DA, Rocha-Vieira E, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, et al. 2018. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiol Behav.* 184:6-11.

10. Baker LD, Frank LL, Foster-Schubert K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernan A, et al. 2010. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: A controlled trial. *Arch Neurol.* 67: 71-79.
11. Chen, WW, Zhang X, Huang WJ. 2016. Role of physical exercise in Alzheimer's disease. *Biomedic Report.* 4: 403-407.
12. Aguiar AS, Tuon T, Pinho CA, Silva LA, Andrezza AC, Kapczinski F, et al. 2008. Intense exercise induces mitochondrial dysfunction in mice brain. *Neurochemical Res.* 33: 51-58.
13. Lou SJ, Liu JY, Chang H, Chen PJ. 2008. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain Res.* 1210: 48-55.
14. Rabiei Z, Asgharzadeh S, Bigdeli M. 2015. Medicinal herbs effective in the treatment of the Alzheimer's disease . *JBUMS.* 17: 51-59.
15. Milajerdi A, Mahmoudi M. 2014. Review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to nervous system, cardiovascular and gastrointestinal diseases. *Clin Exc.* 3: 108-127.
16. Kiasalari Z, Khalili M, Ghanbarian L. 2012. The effect of aqueous *Crocus sativus* L. (saffron) extract on learning and memory in male streptozotocin-induced diabetic rats. *RJMS.* 19: 44-51.
17. Sohrabi Asadabad J, Ghotbeddin Z, Tabandeh MR. 2017. Study the effect of Crocin on avoidance memory and motor activity impairment induced by doxorubicin administration in adult male rats. *J Arak Uni Med Sci.* 20: 45-56.
18. Mirzaei B, Mehrabani J, Rasouljan B. 2015. The interaction effects of aerobic training and Saffron extracts consumption on anti-oxidant defense system of heart and brain premotor cortex of young male rats following an acute bout of exhaustive endurance exercise. *Sport Physiol.* 7: 109-130.
19. Golestani S, Edalatmanesh MA, Hosseini M. 2014. The effects of sodium valproate on learning and memory processes in trimethyltin model of Alzheimer's disease. *Shefaye Khatam.* 2: 19-26.
20. Zavvari F, Karimzadeh F. 2017. A review on the behavioral tests for learning and memory assessments in rat. *Shefaye Khatam.* 5: 110-124.
21. Bazyar Y, Rafiei S, Hosseini A, Edalatmanesh MA. 2015. Effect of endurance exercise training and gallic acid on tumor necrosis factor- $\alpha$  in an animal model of Alzheimer's disease. *Shefaye Khatam.* 3:21-26.
22. Bazyar Y, Edalatmanesh MA, Hosseini SA, Zar A. 2016. The effects of endurance training and gallic acid on BDNF and TNF-a in male rats with Alzheimer. *Intern J Appl Exerc Physiol.* 5: 45-54.
23. Hosseini S, Nikbakht H, Azarbayjani M. 2013. The effect of aqua extract of saffron with resistance training on glycemic indexes of streptozotocin induced diabetic rats. *Armaghane danesh.* 18: 284-294.

24. Borzou Z, Edalatmanesh MA. 2015. The evaluation of brain derived neurotrophic factor and working memory in valproic acid animal model of autism. *Shefaye Khatam*. 3: 10-16.
25. Moghadas M, Edalatmanesh MA. 2015. The lithium chloride effect on anxiety, exploratory activity, and brain derived neurotrophic factor levels of the hippocampus in a rat model of TMT intoxication. *Shefaye Khatam*. 3: 1-10.
26. Shams-Alam S, Edalatmanesh MA. 2015. The effete of lithium chloride on the granular cell density in cerebellar folia V and VI in a trimethyltin intoxication model. *Shefaye Khatam*. 3: 41-48.
27. Khodadadi D, Gharakhanlou R, Naghdi N, Salimi M, Azimi SM, Shahed A. 2018. The effect of 4 weeks of exercise preconditioning on soluble amyloid beta level and memory impairment in rats with Alzheimer's disease induced by A $\beta$ 1-42 injection. *RJMS*. 24: 74-84.
28. Zheng XG, Tan BP, Luo XJ, Xu W, Yang XY, Sui N. 2004. 'Noveltyseeking behavior and stress- induced locomotion in rats of juvenile period differentially related to morphine place conditioning in their adulthood'. *Behav Processes*. 65: 15-23.
29. Kianbakht S. 2008. A systematic review on pharmacology of saffron and its active constituents. *JMP*. 4: 1-27.
30. Hosseinzadeh H, Ziaei T. 2006. Effects of crocus sativus stigma extract and its constituents, crocin and safranal, on intact memory and scopolamine-induced learning deficits in rats performing the morris water maze task. *JMP*. 3: 40-50.
31. Khalili M, Kiasalari Z, Rahmati B, Ekhlasi M, Azizi Y, Heydari H. 2010. The effect of aqueous crocus sativus L. Extract on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits in male rat. *J Guilan Uni Med Sci*. 18: 85-93.

## The Effect of Eight Weeks Moderate-Intensity Endurance Training With Saffron Intake on Memory and Learning in Rats With Trimethytin Model of Alzheimer's Disease

Fatemeh Akbari<sup>1</sup>, Mehrzad Moghadasi<sup>2\*</sup>, Sirus Farsi<sup>1</sup>, Mohammad Amin Edalatmanesh<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Department of exercise physiology, Larestan branch, Islamic Azad University, Larestan, Iran

<sup>2</sup> Department of exercise physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

<sup>3</sup> Department of physiology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

\*  
**Corresponding author:** Email: mehrzad.moghadasi@gmail.com

### Abstract

**Background Purpose:** Although studies that emphasize the importance of exercise exist, the interaction effects of exercise with saffron intake on cognitive functions in Alzheimer's patients are not well known. The aim of present study was to examine the effect of eight weeks endurance training with saffron intake on working memory and passive avoidance memory in rats treated with neurotoxin as a model of Alzheimer's disease.

**Methodology:** Forty mature Sprague-dawley male rats were subjected to Alzheimer's disease through intraperitoneally injection of 8 mg/kg Trimethytin (TMT) and then were divided into 1) Alzheimer-infected control group, 2) endurance training, 3) endurance training with saffron intake, 4) saffron intake, and 5) sham to study the impact of the disease on the variables. Eight healthy rats were assigned to the control group. The rats in the second and the third groups ran on a rat treadmill with the speed of 15 to 20 meters per minute for 15 to 30 minutes in each session, 3 times a week for 8 weeks. The rats in the third and the fourth groups received daily IP injections of 25 mg/kg body weight of saffron liquid extract for 8 weeks. Working memory and passive avoidance memory were measured through Y-maze test and shuttle box test, respectively. To analyze the results of the tests, one-way ANOVA, Tukey post hoc test, and two-way ANOVA were run using SPSS.

**Results:** The data indicated that the endurance training alone and the intake of saffron liquid extract could significantly improve the working memory ( $F=11.09$  and  $P=0.002$  for endurance training and  $F=7.51$  and  $P=0.01$  for saffron liquid) and passive avoidance memory ( $F=22.20$  and  $P=0.001$  for endurance training and  $F=25.83$  and  $P=0.01$  for saffron liquid) in Alzheimer-infected rats. Also, the effect of the interaction of the endurance training and the saffron liquid extract in reducing the time spent in the dark chamber was significant ( $F=23.07$  and  $P=0.001$ ) while this interaction was not significant in increasing the time spent in the dark chamber and the percentage of the intermittent behavior of the rats in the TMT model of Alzheimer's disease.

**Conclusion:** It seems that endurance training and saffron liquid extract intake, improve the working memory and passive avoidance in rats with Alzheimer's disease in TMT model.

**Key words:** Endurance Training, Saffron Supplement, Working Memory, Avoidance Memory, Alzheimer's Disease