Archive of SID

مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۷، شماره ۱، فروردین ۱۳۹۹
http://rjms.iums.ac.ir
مقاله پژوهشی

اثرات طولانی‌مدت (سه ماه) ورزش هوازی تردمیل و عصاره رزماری (۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن) بر نورودژنراسیون هیپوکامپ در موش صحرائی پیر نر

هما رسولی جزی: دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (*نویسنده مسئول)
rasooli.h@iums.ac.ir
شیما آب آب زاده: استادیار، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
منصوره سلیمانی: استاد، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
مهدی مهدی زاده: استاد، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
فاطمه شبخیز: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی و آموزش فیزیکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: پیری، پدیده‌ای است که با توالی تغییرات وابسته به زمان، باعث نورودژنراسیون و کاهش عملکرد فیزیولوژیکی مغز می گردد. استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های موثر در نورودژنراسیون و فرایند پیری سیستم عصبی است. ازآنجاکه اثرات آنتی‌اکسیدانتی ورزش هوازی و عصاره رزماری به صورت جداگانه و اکثراً در کوتاه‌مدت نشان داده شده است، در این مطالعه اثرات تجویز طولانی‌مدت عصاره خوراکی رزماری و ورزش هوازی به طور جداگانه و توام بر میزان نورودژنراسیون هیپوکامپ در موش‌های صحرایی پیر نر بررسی شد.

روش کار: مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی بوده است. موش‌های صحرایی پیر نر به مدت سه ماه (۵ روز در هر هفته) با ورزش هوازی تردمیل و تجویز روزانه (یک بار در روز) عصاره خوراکی رزماری (حاوی ۴۰٪ کارنوسیک اسید) به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت گاواژ تیمار شدند. تعداد نورون‌های سالم و دژنره شده در ناحیه هیپوکامپ به ترتیب با روش‌های رنگ‌آمیزی نیسل و فلوئورسانس فلورجید بی شمارش شدند.

یافته‌ها: در تعداد نورون‌های سالم ناحیه CA1 هیپوکمپ رنگ شده با نیسل افزایش معنی‌داری در موش‌های گروه‌های ورزش و ورزش-رزماری ($p<۰/۰۰۱$) و رزماری ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه‌های کنترل (پیر دست نخورده و حامل) دیده شد. در شمارش نورون‌های در حال دژنره شده، کاهش معنی‌داری در حیوانات گروه‌های ورزش، رزماری و ورزش-رزماری ($p<۰/۰۰۱$) در مقایسه با گروه‌های کنترل (پیر دست نخورده و حامل) دیده شد.

نتیجه‌گیری: تمرینات ورزش هوازی و مصرف عصاره رزماری (حاوی ۴۰٪ کارنوسیک اسید) به مدت سه ماه، به طور جداگانه و توام توانسته‌اند باعث حفظ تراکم نورونی در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های پیر نر گردند. همچنین، تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد که ورزش هوازی منظم طولانی‌مدت، اثر حفاظتی قوی‌تری در حفظ تراکم سلولی هیپوکامپ نسبت به عصاره رزماری داشته است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.
منبع حمایت کننده: دانشگاه علوم پزشکی ایران

کلیدواژه‌ها
پیری،
ورزش هوازی اجباری،
اسید کارنوسیک،
موش و عصاره رزماری

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۰۹
تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۲

شیوه استناد به این مقاله:
Rasoolijazi H, Ababzadeh Sh, Soleimani M, Mehdizadeh M, Shabkhiz F. Long-term effects of aerobic treadmill exercise and rosemary extract on hippocampal neurodegeneration of old male rats. Razi J Med Sci. 2020;27(1):142-150.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

www.SID.ir

Archive of SID

Razi Journal of Medical Sciences.2020;27(1):142-150. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Long-term effects of aerobic treadmill exercise and rosemary extract on hippocampal neurodegeneration of old male rats

Homa Rasoolijazi, Associate Professor, Cellular & Molecular Research Center, and Department of Anatomy, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (* Corresponding author) rasooli.h@iums.ac.ir
Shima Ababzadeh, Assistant Professor, Cellular & Molecular Research Center, and Department of Anatomy, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Mansoureh Soleimani, Professor, Cellular & Molecular Research Center, and Department of Anatomy, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Mehdi Mehdizadeh, Professor, Cellular & Molecular Research Center, and Department of Anatomy, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Fatemeh Shabkhiz, Associate Professor, Department of Sport Physiology, School of Sport Sciences and Physical Education, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract

Background: Aging is a phenomenon that, with a sequence of time-dependent changes, causes neurodegeneration and decreases the physiological function of the brain. Oxidative stress is one of the effective mechanisms in the neurodegeneration and aging process of the nervous system. Since the antioxidant effects of aerobic exercise and rosemary extract have been shown separately and mostly in the short term. In this study, we investigated the long-term effects of aerobic exercise and rosemary oral extract, separately and together, on the rate of the hippocampal neurodegeneration in old male rats.
Methods: Animals were treated for three months (5 days per week) with treadmill aerobic exercise and daily (once a day) oral administration (gavage) of 100 mg/kg rosemary extract (containing 40% carnosic acid). The number of intact and degenerated neurons in the hippocampus were counted by Nissl and fluorescence Fluoro-jade B staining methods, respectively.
Results: The mean number of intact neurons in the CA1 region of the hippocampus showed significant increase in the exercise, exercise-rosemary ($p<0.001$) and rosemary ($p<0.05$) groups compared to the control groups (intact and vehicle). The number of degenerated neurons stained showed a significant decrease in the animals in exercise, rosemary and exercise-rosemary groups ($p<0.001$) compared to the control groups (intact and vehicle).
Conclusion: Aerobic exercise and consumption of rosemary extract (containing 40% carnosic acid) for three months, individually and in combination, were able to maintain neuronal density in the CA1 region of the hippocampus in old rats. Also, data analysis showed that long-term regular aerobic exercise had a stronger protective effect on maintaining hippocampal cell density than rosemary extract.

Conflicts of interest: None
Funding: Iran University of Medical Sciences

Keywords
Aging,
Forced aerobic exercise,
Carnosic acid,
Rat,
Rosemary extract

Received: 31/08/2019
Accepted: 01/02/2020

Cite this article as:
Rasoolijazi H, Ababzadeh Sh, Soleimani M, Mehdizadeh M, Shabkhiz F. Long-term effects of aerobic treadmill exercise and rosemary extract on hippocampal neurodegeneration of old male rats. Razi J Med Sci. 2020;27(1):142-150.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در حال حاضر، کشور ایران مرحله انتقال ساختاری سنی جمعیت، از جوانی به سالخوردگی را تجربه می‌نماید. طبق آمارهای رسمی کشور، رشد جمعیت سالمندان ایران تا ۲۰ سال دیگر به ۱۳ میلیون نفر خواهد رسید (۱). در حال حاضر، فرضیه رادیکال‌های آزاد و متعاقب آن استرس اکسیداتیو به‌عنوان عامل پیش برنده فرایند اضمحلال (دژنراسیون) سلولی در پیری مورد توجه می‌باشد (۲). یکی از گیاهان حاوی مواد آنتی‌اکسیدانت که از زمان‌های قدیم در طب سنتی کاربرد زیادی داشته، رزماری یا اکلیل کوهی (Rosmarinus officinalis L) است. بیشترین ترکیبات موجود در عصاره گیاه رزماری، کارنوسیک اسید، رزمارینیک اسید و سزامول می‌باشند (۳). کارنوسیک اسید یک آنتی‌اکسیدان چربی‌دوست است که به علت داشتن دو عامل OH روی کربن شماره ۱۱ و ۱۲ خود قدرت حذف رادیکال‌های آزاد را دارد (۴). از طرف دیگر، مطالعات روی انسان و حیوان در دو دهه اخیر نشان می‌دهد که انجام تمرینات ورزشی نقش مؤثری در بهبود عملکرد شناختی مغز دارد (۵). برخی مطالعات اخیر، اثرات محافظتی و درمانی ورزش را مربوط به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که به دنبال فعالیت بدنی رخ می‌دهد، می‌دانند (۶).

ازآنجاکه در اکثر تحقیقات موجود، اثرات آنی یا کوتاه‌مدت ورزش را بررسی نموده‌اند، در این تحقیق اثرات طولانی‌مدت (سه ماه) تمرینات هوازی ورزش تردمیل و همچنین اثرات همزمان این تمرینات با تجویز عصاره گیاه رزماری (که خاصیت آنتی‌اکسیدانتی قوی دارد) به صورت مکمل غذایی بر علیه دژنره شدن نورون‌های ناحیه هیپوکامپ در موش‌های صحرائی نر پیر مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

حیوانات: در این تحقیق تعداد ۵۰ سر موش صحرایی (Rat) نر آلبینو، نژاد ویستار ۱۸ ماهه (پیر) با وزن ۳۵۰-۴۵۰ گرم از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شدند. در مدت زمان آزمایش حیوانات در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی ایران با شرایط نوری فصلی و به صورت ۵ سر موش در هر قفس پلاستیکی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. درجه حرارت اتاق، در محدوده ۳۷ درجه سانتی گراد حفظ می‌شد. تلاش گردید شرایط نگهداری و کار با حیوانات بر اساس توصیه‌های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (National Institutes of Health-NIH) انجام گیرد.

گروه‌بندی حیوانات: حیوانات به ۶ گروه زیر تقسیم شدند که عبارتند از:

۱. گروه دست نخورده پیر (Intact Old-IO): که هیچ کاری روی آن‌ها انجام نشد.

۲. گروه حامل پیر (Vehicle Old-VO): که روزانه به مدت ۱۲ هفته آب مقطر گاواژ شده و روزی ۱۰ دقیقه در تردمیل خاموش قرار داده شدند.

۳. گروه ورزش پیر (Exercise Old-EO): که به آن‌ها طبق پروتکل ورزشی به مدت ۱۲ هفته تمرینات ورزشی با تردمیل مخصوص جوندگان داده شد. لازم به ذکر است که موش‌ها قبل از تمرینات اصلی، جهت آشنایی با تردمیل به مدت ۱۰ روز در تردمیل قرار داده شدند.

۴. گروه رزماری پیر (Rosemary Old-RO): که به مدت ۱۲ هفته ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی-الکلی رزماری (containing 40% carnosic acid, evaluated by HPLC, Batch Number: CAP40-111002, China) را به صورت گاواژ دریافت نمودند.

۵. گروه ورزش – رزماری پیر (Exercise-Rosemary Old-ERO): که همزمان تمرینات ورزشی و گاواژ عصاره را دریافت نموده‌اند (جدول ۱).

حیوانات هر گروه در محیط آزمایشگاه در شرایط یکسان نگهداری و در پایان دوره ۱۲ هفته، بعد از به اتمام رسیدن دوره تیمار، با دوز بالای کتامین ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گزیلازین ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دچار بیهوشی عمیق شدند و با تزریق محلول فیکساتیو پارافرمالدئید ۴٪ حل شده در بافر فسفات

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- پروتکل ورزشی موش‌ها

Week	Interval group	Rest دقیقه
1	2× (5-8Min) × (12 m/Min)	2:30-4
2	2 × (8-9Min) × (12 m/Min)	4
3	2 × (10-12Min) × (13m/Min)	4:30-5
4	2 × (12-14Min) × (14m/Min)	5-6
5	3 × (10-12Min) × (15m/Min)	4:30-5
6	3 × (12-14Min) × (16m/Min)	5-6
7	3 × (15-17Min) × (17m/Min)	6:30-8
8	3 × (17-19Min) × (18m/Min)	8-8:30 Min
9	4 × (15-17Min) × (19m/Min)	6:30-8
10	4 × (17-19Min) × (20m/Min)	8-9
11	4 × (20Min) × (21-22m/Min)	9
12	4 × (20Min) × (22-23m/Min	9

۰/۱ مولار داخل بطن چپ و آئورت پرفیوژن شدند. آنگاه سر حیوان جدا شده و مغز خارج گردیده و در محلول postfix قرار داده شد. سپس نمونه‌های مغز پروسس بافتی شده و در قالب پارافینی قرار داده شدند. پس از برش گیری کرونال با ضخامت ۴ میکرون با استفاده از دستگاه میکروتوم روتاری (LEICA RM 2235)، جهت انجام رنگ‌آمیزی نیسل و ایمونوفلوئورسانس فلوروجید بی (Fluoro- jade B) روی لام‌های ژلاتینه قرار گرفتند.

رنگ‌آمیزی نیسل: ابتدا، مراحل بافتی دپارافینه شدن توسط گزیلل و الکل‌های نزولی طی شد و پس از شستشو با آب مقطر، لام‌ها توسط محلول رنگ Cresyl) 0.1% (C1791-5g; Sigma, Germany) violet acetate، رنگ‌آمیزی شدند. پس از شستشوی نمونه‌ها، از محلول‌های الکل صعودی و گزیلل قبل از چسباندن لامل روی لام استفاده شد. در این بررسی، نورون‌های هرمی (با هسته واضح و حدود سیتوپلاسمی مشخص) در ناحیه CA1 به صورت گسترش داخلی ـ خارجی (نیمه داخلی) مربوط به مقاطع کرونال ۳/۶-۳/۳ (نسبت به برگما) با توجه به اطلس پاکسینوس شمارش شدند؛ بدین ترتیب که جهت شمارش برای هر حیوان، ۴ برش و برای هر برش نیز حداقل سه میدان دید با حداقل فاصله ۴۰ میکرون در نظر گرفته شد و میانگین آن منظور گردید.

رنگ‌آمیزی فلوئورجید بی: فلوئورجید یک فلورسین پلی آنیونیک بسیار حساس و به طور ویژه‌ای به نورون‌های دژنره متصل می‌شود. مراحل این رنگ‌آمیزی با توجه به روش Schmued, LC (2000) انجام شد. ابتدا لام‌ها جهت پارافین زدایی در محلول‌های گزیلن قرار گرفتند. سپس، به ترتیب در محلول هیدروکسید سدیم ۱٪ تهیه شده در الکل ۸۰٪، الکل ۷۰٪، آب مقطر (هر مرحله ۲ دقیقه) و محلول پرمنگنات پتاسیم ۰/۰۶٪ (۱۰ دقیقه روی صفحه متحرک Rotating plateform) قرار گرفتند. پس از شستشو در آب مقطر به مدت ۲ دقیقه، در محلول رنگ فلوروجید بی (Fluoro-Jaid®B-AG31; Millipore, USA) با غلظت ۰,۰۰۰۲٪ به مدت ۲۰ دقیقه (در تاریکی) گذاشته شدند. سپس در آب مقطر سه بار شستشو داده شدند و در آخر پس از خشک شدن در گزیلن قرار گرفته و با چسب DPX (که چسب غیر آبی و غیر فلورسنت پلاستیکی است) با لامل چسبانده شدند. مشاهده لام‌ها با میکروسکوپ فلورسنت با فیلتر FITC انجام شد (۷).

لام‌های رنگ شده به روش نیسل و فلورجیدبی توسط میکروسکوپ OLYMPUS, AX70 با بزرگ‌نمایی ۴۰X عکس گرفته شد و سپس توسط نرم‌افزار OLYSIA Bio Report Soft Imaging System GmbH, Version: 3.2 (Build 670) شمارش سلولی انجام شد.

آنالیز آماری: شمارش میانگین نورون‌ها به صورت Mean ± SEM بیان می‌شود. جهت آنالیز آماری برای شمارش نورون‌های CA1 در رنگ‌آمیزی نیسل و فلورجید بی برای مقایسه میانگین‌ها، در صورت نرمال بودن توزیع از Paired sample T-test و One-way Analysis of Variances (ANOVA) و در غیر این صورت از آزمون Mann-whitney U و Kruskal-wallis

www.SID.ir

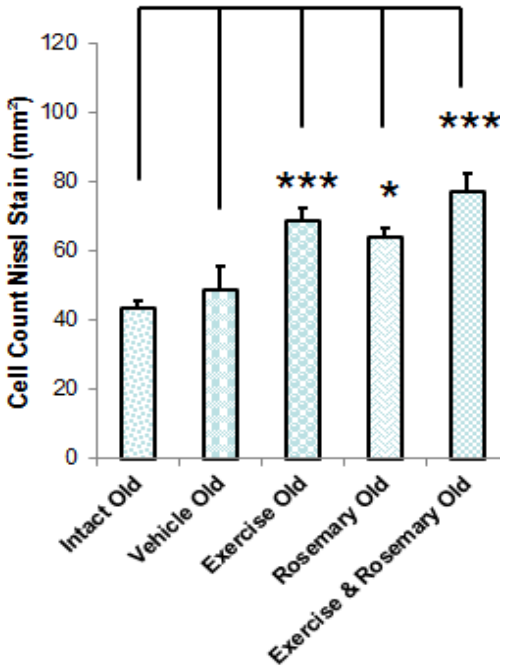
Archive of SID

H و برای Post hoc از Tukey's test استفاده شد. در تمامی محاسبات، اختلاف P<۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار منظور گردید.

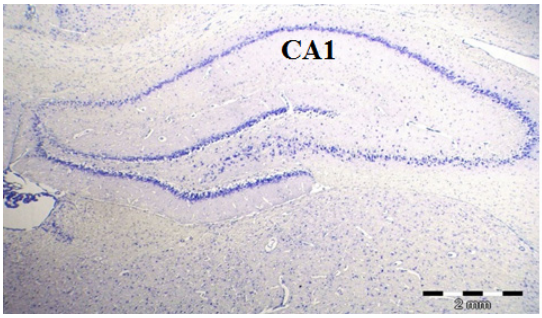
مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی بوده است که تمام مراقبت‌های حیوانی و روش‌های آزمایشگاهی مطابق با کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران (با کد اخلاق IR.IUMS.REC.1394.1074) رعایت گردید و در گروه علوم تشریحی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است.

یافته‌ها

شمارش نورون‌های دست نخورده ناحیه CA1 هیپوکامپ با رنگ‌آمیزی کریزل ویوله (نیسل): میانگین تعداد نورون‌ها ± خطای استاندارد (Mean ±SEM) مربوط به گروه‌های IO، VO، EO، RO و ERO به ترتیب عبارتند از ۱/۸۹±۴۴، ۶/۵۴±۴۹/۲۵، ۳/۴۸±۶۹/۱۳، ۲/۵۴±۶۴/۲۵، و ۵/۲۷±۷۵/۳۸. نتایج، اختلاف



نمودار ۱- شمارش سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ (P<۰/۰۰۱)*** مقایسه حیوانات پیر گروه های Intact Old، Vehicle Old با گروه های تیمار Exercise Old، و Exercise-Rosemary Old. (P< ۰/۰۵)* مقایسه حیوانات پیر گروه های Intact Old، Vehicle Old با گروه Extract Old. مقادیر برحسب میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.



تصویر ۱- تراکم نورون‌ها در ناحیه CA1 هیپوکامپ.

معنی‌داری در میانگین تعداد نورون‌های دست نخورده بین گروه‌های IO و VOبا همه گروه‌های تیماری EO و ERO (P<۰/۰۰۱) و RO (P<۰/۰۵) نشان داد (نمودار ۱ و تصاویر ۱ و ۲).

میانگین تعداد نورون‌ها ± خطای استاندارد مربوط به گروه‌های IO، VO، EO، RO و ERO به ترتیب عبارتند از ۸/۶۸±۶۱/۶۷، ۶/۱۱±۷۱/۲۵، ۸/۱۷±۳۴/۵، ۵/۳±۴۰/۶۷، ۴/۵۷±۳۸/۷۵.

مقایسه بین حیوانات گروه‌های پیر، اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های IO و VO با گروه‌های تیمار EO، RO و ERO نشان داد (P<۰/۰۰۱)، (نمودار ۲ و تصویر ۳).

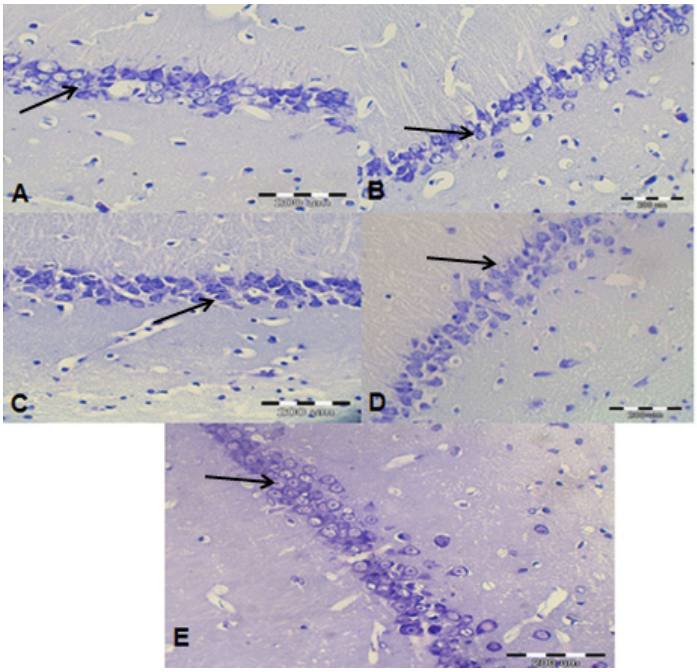
بحث و نتیجه‌گیری

اثرات تجمع رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها و بافت‌های بدن در روند پیری بسیار مهم است و در مطالعات متعددی همبستگی بین پیری و انباشت آسیب اکسیداتیو در سلول‌ها گزارش شده است (۸، ۹). هیپوکامپ در دوران پیری به دلیل کاهش ظرفیت هموستازی سلول‌های عصبی نسبت به صدمات اکسیداتیو بسیار آسیب‌پذیر است (۱۰).

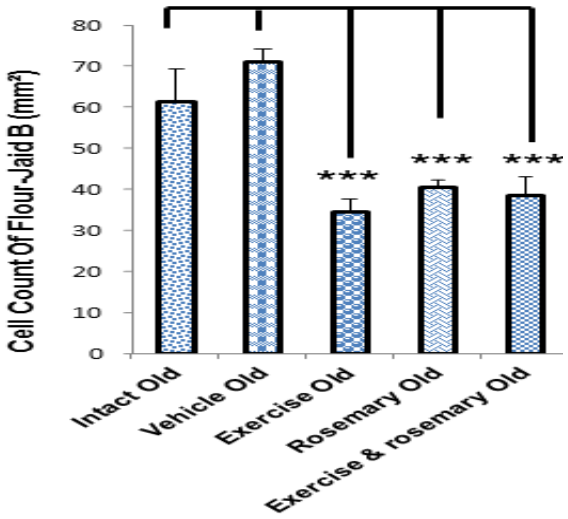
یک مطالعه تجربی نشان داد که عصاره رزماری می‌تواند اثرات سمی اسید کاینیک را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی بهبود بخشد (۱۱). پوساداس و همکارانش در سال ۲۰۰۹ گزارش دادند که مصرف عصاره رزماری باعث کاهش فعالیت کاتالاز، پراکسیداسیون لیپیدها و سطح گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species-ROS) در مغز موش‌های مسن می‌شود (۱۲). در تحقیقات دیگری مشخص شد که عصاره رزماری می‌تواند باعث افزایش فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۲- رنگ آمیزی نیسل در گروه‌های تحت مطالعه Intact Old (A)، Vehicle Old (B)، Exercise Old (C)، Rosemary Old (D)، Exercise-Rosemary Old (E) نشان داده شده است. فلش‌های مشکی، سلول‌های پیرامیدال سالم را در ناحیه CA1 هیپوکامپ نشان می‌دهد.



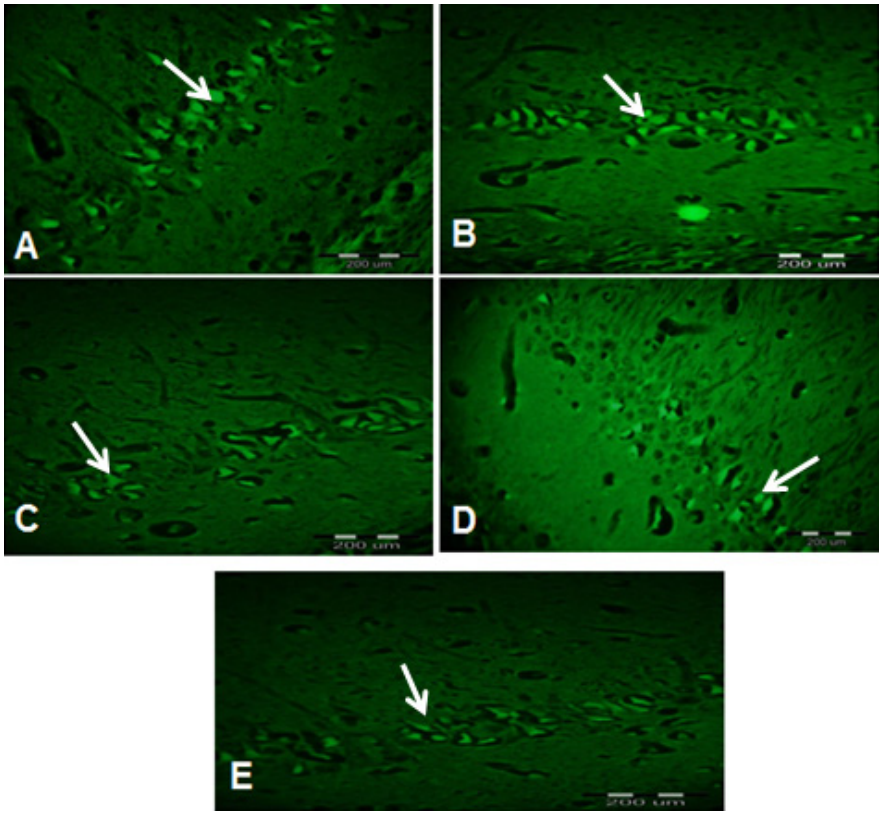
نمودار ۲- شمارش سلول‌های دژنره در ناحیه CA1 هیپوکامپ. (P<۰/۰۰۱)*** اختلاف معنی دار بین گروه‌های Intact Old و Vehicle Old با همه گروه‌های تیمار Exercise Old، Rosemary Old و Exercise-Rosemary Old. مقادیر برحسب میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش سطح MDA در هیپوکامپ موش‌های میان‌سال (۱۳) و افزایش حافظه شود (۱۴).

انجام حرکات ورزشی می‌تواند چندین فاکتور رونویسی درگیر در زنجیره انتقال الکترون را در میتوکندری سلول‌ها تنظیم کند و باعث افزایش در عوامل رونویسی حساس به اکسیداسیون مانند PGC-1α که نقش مهمی در متابولیسم گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) دارد، شود. همچنین، ورزش مداوم فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF) را افزایش داده و باعث بهبود گردش خون مغز می‌شود (۱۵، ۱۶). در سال ۲۰۱۷ فرانزونی و همکاران نشان دادند که ورزش باعث بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی تام (Total Antioxidant Capacity-TAC) از طریق تعدیل فاکتورهای رشد عصبی (Neuron Growth Factor-NGF) در موش‌های

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۳- رنگ آمیزی فلورجید بی در گروه‌های تحت مطالعه (A) Intact Old، (B) Vehicle Old، (C) Exercise Old، (D) Rosemary Old ، (E) Exercise-Rosemary Old نشان داده شده است. فلش سفید سلول‌های هرمی در حال دژنره شدن که با رنگ فلوئورسانس فلورجید بی واکنش مثبت داده‌اند را نشان می‌دهد.

صحرایی نر 3 تا ۵ ماهه می‌شود (۱۷).

در مطالعه حاضر، موش‌های صحرایی پیر که به مدت سه ماه، روزانه با عصاره خوراکی رزماری (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن) حاوی ۴۰٪ اسید کارنوسیک و ورزش هوازی تردمیل تحت درمان قرار گرفتند، مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها نشان می‌دهد که ورزش و عصاره رزماری (جداگانه و توام) به طور معنی‌داری می‌توانند باعث کاهش میزان دژنراسیون نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ و نیز افزایش تعداد نورون‌های سالم در این ناحیه نسبت به موش‌های پیر گروه کنترل شوند.

یکی از نظریاتی که در مورد روند پیری مطرح است نظریه رادیکال‌های آزاد می‌باشد. رادیکال آزاد، مولکول‌های ناپایداری هستند که در طی فرآیندهای طبیعی تنفس و سوخت و ساز در بدن تولید می‌شوند که به مرور زمان باعث آسیب به سلول‌ها می‌شوند (۱۸). تحقیقات متعددی نشان می‌دهند که نقش آنتی‌اکسیدانتی قوی گیاه رزماری (۱۹) به دلیل حذف رادیکال‌های آزاد در بافت‌های بدن است. اسید کارنوسیک یکی از قوی‌ترین مواد آنتی‌اکسیدان موجود در رزماری است و حدود ۱۰-۵٪ وزن خشک برگ‌های رزماری را تشکیل می‌دهد (۴، ۲۰). اسید کارنوسیک می‌تواند از سد خونی مغزی (Blood Brain Barrier- BBB) عبور کرده و به بافت مغز برسد (۲۱) و سبب حفاظت از میتوکندری‌های نورون‌های مغز شود (۲۲). این ماده قادر است سطح گلوتاتیون مغز را افزایش داده و به‌عنوان یک کاندید حفاظت نورونی مطرح شود (۲۳). همچنین، اسید کارنوسیک می‌تواند بر ضد القاء واکنش‌های التهابی عمل کرده (۲۴) و در موش صحرایی نر سبب محافظت نورون‌های هیپوکامپ بر علیه سمیت بتا آمیلوئید شود (۲۵).

برخی محققین نشان داده‌اند که ورزش ایروبیک حجم ماده سفید و خاکستری در قشر پره فرونتال و هیپوکامپ مغز افراد مسن را افزایش می‌دهد (۲۶) و

www.SID.ir

Archive of SID

باعث خون رسانی بهتر و در نتیجه فراهم شدن اکسیژن و مواد غذائی بیشتر بـه مغـز می‌شـوند (۲۷). همچنـین پیشنهاد می‌شود که اثرات سـودمند دویـدن در نتیجـه بازگرداندن کاهش مسیر سیگنالینگ فاکتور نـورون‌زایی مشـتق شـده از مغـز (Brain-Derived Neurotrophic Factor- BDNF) می‌باشـد.BDNF عضـوی از خـانواده نوروتروفیک‌ها است، کـه نقـش مهمـی در بقـا و تمـایز نورونی دارد (۲۸). تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که در اثر ورزش به مدت ۱۰ روز با تردمیل، میزان اینترلوکین ۱۰ (IL10) در هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد (۲۹).

در تحقیق حاضر نیز به دلایل فوق، در گروه‌هایی کـه بـا عصـاره، ورزش و عصـاره-ورزش تیمـار شـدند، دژنراسـیون نـورونی کمتـری در اثـر پیـری نسـبت بـه گروه‌های کنترل رخ داد و این مسئله باعث حفظ تراکم نورونی در گروه‌های تیمار شد.

بنابراین، شواهد نشان می‌دهند که انجام ورزش منظم هـوازی و اسـتفاده از عصـاره رزمـاری در طولانی‌مـدت می‌توانند تأثیرات مثبتی در جلوگیری از صدمات سلولی در هیپوکامپ موش‌های پیر نشان دهد. تحلیـل داده‌هـا نشان می‌دهند که ورزش هوازی منظم طولانی‌مدت اثـر حفاظتی قوی‌تری (در حفظ تـراکم سـلولی(نسـبت بـه عصاره رزماری داشته است.

تقدیر و تشکر

بودجـه طـرح تحقیقـاتی بـا شـماره 1047-P مـورد حمایت دانشگاه علوم پزشکی ایران بوده است.

ملاحظات اخلاقی: کلیه نتایج، داده‌ها و تصاویر که در این مقاله آورده شده‌اند، اصل بوده و توسط نویسـندگان تهیه شده است و نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافعی بـا انتشار این مقاله ندارند.

References

1. Pardon MC. Stress and ageing interactions: a paradox in the context of shared etiological and physiopathological processes. Brain Res Rev. 2007;54(2):251-73.

2. Harman D. Free radical theory of aging. Mutat Res. 1992;275(3):257-66.

3. Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chem. 2008;110(1):76-82.

4. Munné-Bosch S, Alegre L. Subcellular compartmentation of the diterpene carnosic acid and its derivatives in the leaves of rosemary. Plant Physiol. 2001;125(2):1094-10۲.

5. Vaynman S, Ying Z, Gómez-Pinilla F. Exercise induces BDNF and synapsin I to specific hippocampal subfields. J Neurosci Res. 2004;76(3):356-62.

6. Radák Z, Chung HY, Naito H, Takahashi R, Jung KJ, Kim HJ, et al. Age-associated increase in oxidative stress and nuclear factor κB activation are attenuated in rat liver by regular exercise. FASEB J. 2004;18(6):749-50.

7. Schmued LC, Hopkins KJ. Fluoro-Jade B: a high affinity fluorescent marker for the localization of neuronal degeneration. Brain Res. 2000 Aug 25;874(2):123-30.

8. Head E. Oxidative damage and cognitive dysfunction: antioxidant treatments to promote healthy brain aging. Neurochem Res. 2009 Apr;34(4):670-8.

9. Posadas SJ, Caz V, Largo C, De la Gándara B, Matallanas B, Reglero G, et al. Protective effect of supercritical fluid rosemary extract, Rosmarinus officinalis, on antioxidants of major organs of aged rats. Exp Gerontol. 2009; 44(6-7):383-9.

10. Marosi K, Bori Z, Hart N, Sárga L, Koltai E, Radák Z, et al. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. Neuroscience. 2012;226:21-8.

11. Naderali E, Nikbakht F, Norouzi Ofogh S, Rasoolijazi H. The role of rosemary extract in degeneration of hippocampal neurons induced by kainic acid in the rat: A behavioral and histochemical approach. J Integr Neurosci. 2018;17(1):19-25.

12. Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte DW Jr. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. Anal Biochem. 1990;184(2):193-9.

13. Rasoolijazi H, Mehdizadeh M, Soleimani M, Nikbakhte F, Eslami Farsani M, Ababzadeh Sh. The effect of rosemary extract on spatial memory, learning and antioxidant enzymes activities in the hippocampus of middle-aged rats. Med J Islam Repub Iran. 2015 (9 March);29:187.

14. Perry NSL, Menzies R, Hodgson F, Wedgewood P, Howes MR, Brooker HJ, et al. A randomised double-blind placebo-controlled pilot trial of a combined extract of sage, rosemary and melissa, traditional herbal medicines, on the enhancement of memory in normal healthy subjects, including influence of age. Phytomedicine. 2018;39:42–8.

15. van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH.

www.SID.ir

Archive of SID

Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. J Neurosci. 2005;25(38):8680-5.
16. Radak Z, Kumagai S, Taylor AW, Naito H, Goto S. Effects of exercise on brain function: role of free radicals. Appl Physiol Nutr Metab. 2007;32(5):942-6.
17. Franzoni F, Federighi G, Fusi J, Agosta V, Cerri E, Banducci R, et al. Physical exercise improves total antioxidant capacity and gene expression in rat hippocampal tissue. Arch Ital Biol. 2017;155(1/2):1-10.
18. Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H. Trends in oxidative aging theories. Free Radic Biol Med. 2007;43(4):477-503.
19. Cheung, S. and Tai, J. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary Rosmarinus officinalis. Oncol Rep. 2007;17(6):1525-31.
20. Doolaege EH, Raes K, De Vos F, Verhé R, De Smet S. Absorption, distribution and elimination of carnosic acid, a natural antioxidant from Rosmarinus officinalis, in rats. Plant Foods Hum Nutr. 2011;66(2):196-202.
21. Satoh T, Kosaka K, Itoh K, Kobayashi A, Yamamoto M, Shimojo Y, et al. Carnosic acid, a catechol-type electrophilic compound, protects neurons both in vitro and in vivo through activation of the Keap1/Nrf2 pathway via S-alkylation of targeted cysteines on Keap1. J Neurochem. 2008;104(4): 1113-16.
22. de Oliveira MR. Carnosic acid as a promising agent in protecting mitochondria of brain cells. Mol Neurobiol. 2018;55:6687-99.
23. Azad N, Rasoolijazi H, Joghataie MT, Soleimani S. Neuroprotective effects of carnosic acid in an experimental model of Alzheimer's disease in rats. Cell J. 2011;13(1):39.
24. Poeckel D, Greiner C, Verhoff M, Rau O, Tausch L, Hörnig C, et al. Carnosic acid and carnosol potently inhibit human 5-lipoxygenase and suppress pro-inflammatory responses of stimulated human polymorphonuclear leukocytes. Biochem Pharmacol. 2008;76(1):91-7.
25. Rasoolijazi H, Azad N, Joghataei MT, Kerdari M, Nikbakht F, Soleimani M. The protective role of carnosic acid against beta-amyloid toxicity in rats. Sci World J. 2013 Oct 24;2013:917082.
26. 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 USA. 2011;108(7):3017-22.
27. Radak Z, Kumagai S, Taylor AW, Naito H, Goto S. Effects of exercise on brain function: role of free radicals. Appl Physiol Nutr Metab. 2007;32(5): 942-6.
28. Kim SE, Ko IG, Kim BK, Shin MS, Cho S, Kim CJ, et al. Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus. Exp Gerontol. 2010;45(5): 357-65.
29. Gomes da Silva S, Simões PS, Mortara RA, Scorza FA, Cavalheiro EA, da Graça Naffah-Mazzacoratti M., et al. Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats. J Neuroinflam. 2013;10(1): 61.

www.SID.ir