



## Effect of aerobic exercise and *Melissa officinalis* extract on the expression of p53, p21, and caspase-3 genes in the hippocampus of male rats with induced Alzheimer's disease

Mahnaz Navardi <sup>1</sup>, Ramin Shabani <sup>1\*</sup>, Shahram Gholamrezaei Darsara <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Physical Education and Sport Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

\*Corresponding author: Ramin Shabani, Department of Physical Education and Sport Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran  
Email: dr.ramin.shabani@gmail.com

Received: 16 October 2024 Revised: 1 December 2024 Accepted: 1 December 2024

### Abstract

**Background and Aim:** Alzheimer's disease (AD) is a major health challenge in the world today. The present study aimed to determine the effect of aerobic exercise and *Melissa officinalis* extract on the expression of p53, p21, and caspase-3 genes in male rats with AD.

**Methods:** In this experimental study, 48 rats were randomly divided into 6 groups: control, AD, control + aerobic exercise, AD + aerobic exercise, AD + aerobic exercise + extract, and AD + extract. The AD model was induced by injecting amyloid beta 42-1 into the hippocampus. Aerobic exercise was performed for 8 weeks. *Melissa officinalis* extract was dissolved in 2 ml of distilled water at a dose of 100 mg/kg body weight and gavaged to rats for 8 weeks. Real-Time PCR was used to determine the expression levels of p53, p21, and caspase-3 genes.

**Results:** After 8 weeks of aerobic exercise combined with *Melissa officinalis* extract, the expression of the p21 gene in the intervention groups significantly increased compared to the AD group ( $P < 0.05$ ). Moreover, p53 and caspase-3 were significantly decreased in the AD + aerobic exercise and AD + aerobic exercise + extract groups compared to the AD group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that aerobic exercise combined with *Melissa officinalis* extract can inhibit AD by suppressing apoptosis, however, further studies in this field are needed.

---

**Keywords:** Alzheimer's disease, Aerobic exercise, *Melissa officinalis*, p53, Caspase-3



## تاثیر تمرینات هوازی و مصرف عصاره گیاه بادرنجبویه (*Melissa Officinalis*) بر بیان ژن‌های p21، p53 و کاسپاز ۳ در بافت هیپوکامپ رت‌های نر مبتلا به آلزایمر القا شده

مهناز نوردی<sup>۱</sup>، رامین شعبانی<sup>۱\*</sup>، شهرام غلامرضایی دارسرا<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۲۵ اصلاح مقاله: ۱۴۰۳/۰۹/۱۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۹/۱۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری آلزایمر یکی از چالش‌های مهم بهداشتی در دنیای امروز است. مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر تمرین هوازی به همراه مصرف عصاره گیاه بادرنجبویه بر بیان ژن‌های p21، p53 و کاسپاز ۳ در موش‌های نر آلزایمری اجرا شد. **روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۴۸ رت به طور تصادفی به ۶ گروه کنترل، آلزایمر، کنترل + ورزش هوازی، آلزایمر + ورزش هوازی، آلزایمر + ورزش هوازی + عصاره، آلزایمر + عصاره تقسیم شدند. مدل آلزایمر با تزریق آمیلوئید بتا ۱-۴۲ در هیپوکامپ ایجاد شد. تمرینات هوازی به مدت ۸ هفته انجام شد. عصاره گیاه بادرنجبویه به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به موش‌های صحرایی به مدت ۸ هفته گاوژ شد. برای تعیین میزان بیان ژن‌های p21، p53 و کاسپاز ۳ از روش Real Time PCR استفاده گردید.

**یافته‌ها:** بعد از ۸ هفته تمرین هوازی به همراه عصاره گیاه بادرنجبویه، بیان ژن p21 در گروه‌های مداخله نسبت به گروه آلزایمر افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). همچنین p53 و کاسپاز ۳ در گروه آلزایمر + ورزش هوازی و گروه آلزایمر + ورزش هوازی + عصاره نسبت به گروه آلزایمر کاهش معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که ورزش هوازی به همراه مصرف عصاره گیاه بادرنجبویه بتواند از طریق سرکوب آپتوز، باعث مهار بیماری آلزایمر شود، با این حال، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری است.

**کلیدواژه‌ها:** آلزایمر، تمرینات هوازی، بادرنجبویه، p53، کاسپاز ۳

## مقدمه

بیماری آلزایمر متداول‌ترین اختلال عصبی پیش‌رونده مرتبط با افزایش سن است که به‌عنوان یکی از عوامل اصلی بروز زوال عقل در دوران پیری شناخته می‌شود. این زوال عقل با کاهش قابل توجه توانایی‌های شناختی و هوشی، اختلال در حافظه، مشکلات در تفکر انتزاعی، و تغییرات در شخصیت همراه است. این بیماری که درمانی برای آن وجود ندارد، برای نخستین بار در سال ۱۹۰۶ توسط یک روانپزشک آلمانی به نام الویز آلزایمر شناسایی شد [۱،۲]. این بیماری، بیش از ۷۵ درصد از زوال عقل در سراسر جهان را شامل شده و ده‌ها میلیون نفر که معمولاً بالای ۶۰ سال سن دارند، را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۳۲].

تغییرات پاتولوژیک در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر، آتروفی مغز است که با پلاک‌های پیری (Senile Plaques (SP یا پلاک‌های آمیلوئید-بتا (Amyloid Beta Plaques)، گره‌های نوروفیبریالاری (Neurofibrillary Tangles (NFT) و کاهش نرون مشخص می‌شود. هسته SP، شامل پروتئین آمیلوئید-بتا است و جزء اصلی NFT یک پروتئین مرتبط با میکروتوبول بسیار فسفریله کننده، پروتئین تاو است [۳]. پاتوژنز بیماری آلزایمر نشان می‌دهد که عدم تعادل بین تولید و پاکسازی  $A\beta$  عامل شروع انحطاط عصبی و توسعه زوال عقل است که باعث ایجاد برخی فرآیندهای پاتولوژیک مانند هیپرفسورفوریلاسیون پروتئین تاو، پاسخ التهابی و مرگ عصبی می‌شود. اگرچه مکانیزم سمیت  $A\beta$  برای سلول‌های عصبی مشخص نیست، با این وجود نشان داده شده که افزایش  $A\beta$  منجر به اختلال در عملکرد نرون‌ها می‌شود. علاوه بر این، الیگومرهای  $A\beta$  باعث افزایش آپوپتوز یا تحریک سلول‌های گلیال برای بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) Nitric Oxide Synthase بیشتر شده و افزایش مقادیر NO منجر به تخریب نرون‌ها می‌شود [۴]. بر اساس شواهد موجود مبنی بر اینکه رسوب  $A\beta$  نقش کلیدی در مرگ سلول‌های عصبی و آتروفی مغز دارد که در نهایت منجر به شروع و پیشرفت AD می‌شود، کاهش رسوب  $A\beta$  یک هدف بالقوه امیدوارکننده برای درمان AD است. فعالیت ورزشی رسوب  $A\beta$  را از طریق مسیر سیگنال دهی پروتئین کیناز فعال شده با AMPK (AMPK) Activated Protein Kinase کاهش می‌دهد [۵]. پژوهشگران معتقدند که عواملی مانند افزایش سن، وراثت و جنسیت می‌توانند بر بروز بیماری آلزایمر تأثیر بگذارند [۵]. از جمله علائم بیماری آلزایمر می‌توان به کاهش حافظه، تغییرات در شخصیت، افسردگی، اضطراب و سایر اختلالات روانی اشاره کرد [۶].

آپوپتوز نوعی مرگ سلولی است که از طریق فرآیندهای شیمیایی پیچیده‌ای در درون سلول انجام می‌شود، و یکی از مهم‌ترین مراحل آن فعال‌سازی آنزیم‌های سیتوزولی به نام کاسپازها است [۷]. کاسپازها نوعی پروتئاز وابسته به سیستئین هستند که مولکول‌های هدف را در محل کربوکسیل اسپاراتات

می‌شکنند. این آنزیم‌ها در سیتوپلاسم به شکل غیرفعال پروکاسپاز وجود دارند و با فرآیند پروتئولیز از حالت زیموژن به فرم فعال تبدیل می‌شوند. یکی از روش‌های کلیدی برای بررسی آپوپتوز، تحلیل تغییرات کاسپاز ۳ و پروکاسپاز است. افزایش سطح پروتئین پرو آپوپتوتیک P21، یک مکانیسم مهم در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول به شمار می‌رود. بیان بالای P21 بر روی نفوذپذیری غشای میتوکندری تأثیر می‌گذارد و باعث فعال شدن کاسپازها می‌شود که در نهایت منجر به تجزیه اجزای سلولی می‌گردد. علاوه بر این، یکی از ژن‌های کلیدی که به تنظیم کاهش P 21 کمک می‌کند، P53 است که می‌تواند مسیر میتوکندریایی آپوپتوز را مهار کند. اگر P53 به میزان زیادی بیان شود، فعالیت کاسپازها کاهش می‌یابد و این موضوع ممکن است ارتباطی میان این عوامل ایجاد کند [۸].

تحقیقات حاکی از آن است که کمبود فعالیت بدنی یکی از شایع‌ترین عوامل خطرزا در ابتلا به بیماری آلزایمر محسوب می‌شود [۹]. افزایش فعالیت بدنی می‌تواند به طرز بالقوه‌ای با تأثیر بر نشانگر زیستی آمیلوئید-بتا در مغز، خطر ابتلا به اختلالات شناختی و شیوع زوال عقل را کاهش دهد [۱۰]. تمرینات ایروبیکی می‌توانند از سلول‌های عصبی در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کنند، به طوری که با افزایش عوامل نوروتروفیک بر روی نرون‌های هیپوکمپ، باعث بهبود عملکرد حافظه و یادگیری فضایی می‌شوند [۱۱]. در مجموع مطالعات نشان داده‌اند، فعالیت بدنی و تمرین موجب بهبود عملکرد شناختی، افزایش حافظه و یادگیری، کاهش اضطراب و افسردگی و محافظت از مغز در برابر بیماری‌های تخریب‌کننده نرون در انسان و حیوان می‌شود [۳۳]. در سال‌های اخیر، بیشتر پژوهشگران به کاربرد مکمل‌های گیاهی و طبیعی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند، معطوف شده‌اند [۱۲]. یکی از این مکمل‌های طبیعی، بادرنجبویه است که ترکیبات و اجزای فعال موجود در آن دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌باشند [۱۳]. گیاه بادرنجبویه دارای اثر تنظیمی بر روی رفتار بوده و به‌عنوان آرامبخش خفیف، کاهش دهنده اختلالات خواب و تضعیف کننده علائم اختلالات عصبی که شامل استرس، هیجان و قابلیت تحریک پذیری می‌باشد، استفاده می‌شود. این گیاه همچنین اثر حفاظتی بر روی سیستم عصبی دارد و به طور سنتی برای افزایش حافظه استفاده می‌شود [۳۴]. عصاره آبی گیاه بادرنجبویه فعالیت‌های پاد اکسایشی خوبی نشان می‌دهد و به‌عنوان یک عامل اجی‌اکننده پر قدرت شناخته شده است. عصاره این گیاه دارای اثر حفاظتی در برابر استرس اکسایشی ایجاد شده توسط عوامل اکسیدان، که از طریق فرآیندهای مختلف باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپید می‌شوند، می‌باشد [۱۲]. مصرف عصاره این گیاه در بیماران مبتلا به آلزایمر باعث بهبودی علائم شده است [۱۳]. با توجه به اینکه رژیم غذایی سالم و فعالیت بدنی به‌عنوان اقداماتی کم‌هزینه و امیدبخش برای محافظت در برابر انواع بیماری‌ها، از جمله بیماری

۱:۱۰ به مدت چهار روز تهیه شد. با گذشت ۲۴ ساعت مخلوط حلال و عصاره صاف شده و حلال جدید به تفاله گیاه اضافه می شد. عصاره به دست آمده با دستگاه تقطیر در خلا در دمای کمتر از ۴۰ تا حد خشک شدن تغلیظ شد. این پودر تا زمان استفاده در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور استفاده، مکمل به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دو میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس به موش‌های صحرایی به مدت هشت هفته، یک بار در روز در ساعت ۸ صبح از طریق گاواژ داده شد [۱۹].

### بافت برداری

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

### اندازه‌گیری بیان ژن‌های P21، P53 و کاسپاز ۳ در

#### هیپوکامپ به روش Real Time PCR

جهت بررسی بیان ژن، استخراج RNA در تمامی گروه‌ها، مطابق با پروتکل شرکت سازنده (کیازن، آلمان) انجام شد. مراحل سنتز cDNA پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌ها انجام گرفت. سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. از روش کمی RealTime\_PCR برای اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌ها استفاده شد. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های فوق در بانک ژنی NCBI انجام شد. از ژن گلیسریدآلدئید-۳- فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید. با استفاده از روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (CT: Cycle Threshold)، نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، ارزیابی شدند.

### محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها و ترسیم نمودارها با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ صورت گرفت. برای توصیف داده‌ها از میانگین و انحراف معیار بهره‌گیری شد. همچنین برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانسیک طرفه استفاده گردید و سطح معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد. در صورتی که نتایج معنی‌دار بودند، از آزمون تعقیبی تام‌هن بهره گرفته شد.

### نتایج

بیان ژن P21 در همه گروه‌ها نسبت به گروه آلزایمر کاهش

آلزایمر، شناخته می‌شوند و همچنین با در نظر گرفتن کمبود اطلاعات در مورد تأثیر همزمان بادرنجبویه و تمرینات ورزشی بر حافظه و زوال عقل، این پژوهش با هدف بررسی اثر تمرینات هوازی به همراه مصرف مکمل بادرنجبویه بر بیان ژن‌های P21، P53 و کاسپاز ۳ در موش‌های نر مبتلا به آلزایمر انجام شد.

## روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی و به صورت پس‌آزمون با شش گروه انجام شد. نمونه‌های تحقیق شامل ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ با سن ۶ تا ۷ ماه و وزنی بین ۲۶۰ تا ۲۷۰ گرم بودند که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه، آنها در شرایط کنترل‌شده با چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۲۲ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت تقریباً ۴۵ درصد نگهداری شدند. همچنین در طول دوره پژوهش، حیوانات به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. تمام مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها بر اساس دستورالعمل‌های مؤسسه ملی سلامت انجام شد.

### القاء آلزایمر

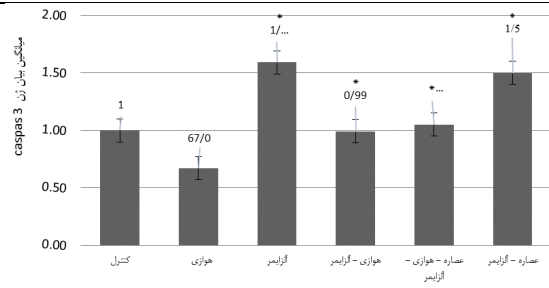
در این پژوهش، به‌منظور القای آلزایمر، موش‌های صحرایی ابتدا به‌وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زیلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و تحت جراحی استریوتاکسی قرار گرفتند. سپس، آمیلوئید بتا ۴۳- ۱ که از شرکت سیگما-آلدیج آمریکا تهیه شده بود، به ناحیه CA1 هیپوکامپ و با مختصات قدامی-خلفی ۳/۸، جانبی ۲/۴ و پشتی ۲/۷ میلی‌متر بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون تزریق گردید [۱۷]. پس از این مراحل، موش‌ها به شش گروه کنترل، گروه آلزایمر، گروه آلزایمر و ورزش هوازی، گروه آلزایمر و ورزش هوازی همراه با عصاره، گروه آلزایمر و مکمل، و همچنین گروه کنترل و ورزش هوازی تقسیم شدند.

### پروتکل تمرینی

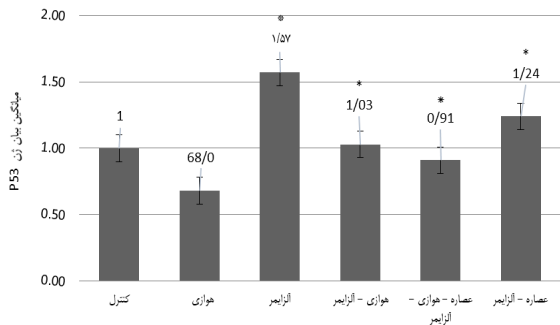
تمرینات شامل ۸ هفته دویدن تدریجی بر روی تردمیل بدون شیب (شیب صفر درجه) با سرعتی بین ۱۵ تا ۲۰ متر در دقیقه به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در هر جلسه و پنج بار در هفته بود. در آغاز هر جلسه تمرین، حیوانات به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه گرم شدند، سپس برنامه اصلی تمرین آغاز می‌شد. پس از پایان برنامه تمرینی، برای انجام مرحله سرد کردن، سرعت دستگاه به تدریج کاهش می‌یافت تا به صفر برسد. این مرحله حدود ۵ تا ۷ دقیقه به طول می‌انجامید. (جدول ۱)

### تهیه عصاره گیاه بادرنجبویه

ابتدا گیاه بادرنجبویه با تشخیص متخصصین دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد واحد رشت تهیه شد، سپس عصاره برگ-های زنده گیاه *Melissa officinalis* با روش ماسراسیون با استفاده از حلال اتانول: آب ۸۰:۲۰ و بعد از نسبت گیاه به حلال



**شکل ۲.** مقادیر نتایج بیان ژن P53 در بافت هیپوکامپ گروه‌های مختلف پژوهش. \*اختلاف آماری معنی‌دار بین مقادیر میانگین گروه‌ها با گروه آژایمر ( $P < 0.05$ ).



**شکل ۳.** مقادیر نتایج بیان ژن کاسپاز ۳ در بافت هیپوکامپ گروه‌های مختلف پژوهش. \*اختلاف آماری معنی‌دار بین مقادیر میانگین گروه‌ها با گروه آژایمر ( $P < 0.05$ ).

## بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرینات هوازی به همراه مصرف مکمل گیاه بادنجن‌بویه باعث کاهش بیان ژن P53 می‌شود این ژن یک پروتئین سرکوبگر تومور حاوی دامنه‌های فعال سازی رونویسی، اتصال DNA و الیگومریزاسیون را کد می‌کند. پروتئین کدگذاری شده به تنش‌های سلولی مختلف پاسخ می‌دهد تا بیان ژن‌های هدف را تنظیم کند، در نتیجه باعث توقف چرخه سلولی، آپوپتوز، پیری، ترمیم DNA یا تغییر در متابولیسم می‌شود [۲۲]. و کاهش معنی‌داری بیان ژن‌های آنتی آپوپتوزی P21 و افزایش کاسپاز ۳ شد. در مطالعه حاضر، بیان ژن P53 و کاسپاز ۳ کاهش یافت. ورزش هوازی بیان ژن P53 را سرکوب کرد و بیان P21 را افزایش داد. این نتایج همچنین نشان داد که تمرینات هوازی، آپوپتوز ناشی از بیماری آلزایمر را مهار می‌کند [۲۵]. بر اساس پژوهش‌های موجود P21 نقش موثری در تعدیل یا سرعت فرآیند آپوپتوز بازی می‌کند. بیان این ژن به شدت توسط پروتئین سرکوبگر تومور کنترل می‌شود، بنابراین هر عاملی که سبب تغییر نسبت P53 به P21 و یا بعکس گردد محیط را به سمت آپوپتوز یا ضد آپوپتوز سوق می‌دهد [۳۲]. در حالت طبیعی، بین عوامل مهم و محرک‌های آپوپتوز تعادل برقرار است، اما همواره در موقعیت‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی این تعادل به هم می‌خورد، که یکی از این موقعیت‌ها فعالیت بدنی می‌باشد و احتمال می‌رود، که فعالیت بدنی و ورزش خصوصاً تمرینات هوازی با

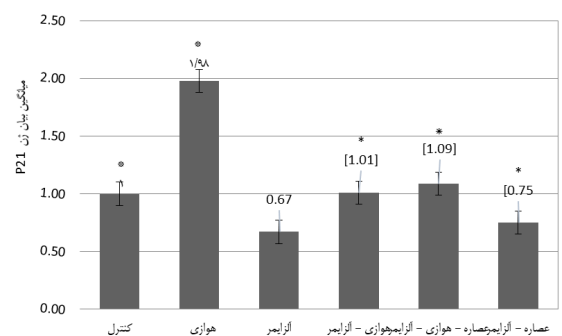
یافت و این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین تغییرات P21 در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان دادند که برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تام هن در حالت نابرابری واریانس‌ها استفاده شد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۱).

نتایج تجزیه و تحلیل آماری کاهش معنی‌داری را در بیان ژن P53 در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و ورزش هوازی نشان داد ( $P < 0.05$ ). گروه آژایمر و ورزش هوازی؛ و همچنین گروه آژایمر و ورزش هوازی و مکمل افزایش معنی‌داری نسبت به گروه آژایمر نشان دادند ( $P < 0.05$ ). گروه آژایمر و گروه آژایمر و مکمل نسبت به گروه کنترل کاهش یافت و این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). همچنین گروه آژایمر و مکمل نسبت به گروه آژایمر و ورزش هوازی و مکمل کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۲).

بیان ژن‌ها کاسپاز ۳ در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل و ورزش هوازی افزایش یافت و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). گروه آژایمر و مکمل افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه‌های کنترل، آژایمر و هوای و همچنین گروه آژایمر و هوای و مکمل نشان داد ( $P < 0.05$ ). گروه‌های آژایمر و هوای و همچنین گروه آژایمر و هوای و مکمل نسبت به گروه آژایمر کاهش معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0.05$ ) (شکل ۳).

**جدول ۱.** پروتکل تمرین هوازی در ۸ هفته متوالی

هفته	تعداد جلسات در هفته	شیب	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)
هفته اول	۵ روز	۰	۱۳، ۱۵	۳۴، ۴۰
هفته دوم	۵ روز	۰	۱۷	۱۰، ۱۸، ۲۶
هفته سوم	۵ روز	۰	۱۷	۶۰
هفته چهارم	۵ روز	۰	۱۷	۶۰
هفته پنجم	۵ روز	۰	۱۷	۶۰
هفته ششم	۵ روز	۰	۱۷	۶۰
هفته هفتم	۵ روز	۰	۱۷	۶۰
هفته هشتم	۵ روز	۰	۱۷	۶۰



**شکل ۱.** مقادیر نتایج بیان ژن P21 در بافت هیپوکامپ گروه‌های مختلف پژوهش. \*اختلاف آماری معنی‌دار بین مقادیر میانگین گروه‌ها با گروه آژایمر ( $P < 0.05$ ).

هوایی این گیاه دارای خصوصیات مهارکنندگی آنزیم استیل کولین می‌باشد [۲۹] مصرف عصاره این گیاه در بیماران مبتلا به آلزایمر باعث بهبودی علایم شده است. با توجه به این که اثرات نروپروتکتیو برای این گیاه ذکر شده است، مکانیسم اثر آن ناشناخته است [۳۰] اما مطالعات فارماکولوژیک درون کشتگاهی، حیوانی و بالینی بسیاری نشان دهنده اثرات محافظت عصبی و نورولوژیک بادرنجبویه و همچنین ماده مؤثر اصلی آن (رزمارینیک اسید) می‌باشند که در این تحقیق از این ماده مؤثر استفاده شد [۳۱]. پژوهشگران معتقدند ورزش‌های استقامتی و طولانی مدت همراه با مصرف آنتی‌اکسیدان‌هایی چون مکمل بادرنجبویه اثرات تعاملی در کاهش آسیب‌های اکسایشی در ناحیه پیش حرکتی مغز موش‌های صحرایی متعاقب یک جلسه فعالیت ورزشی شدید دارد [۲۹].

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ورزش هوازی می‌تواند به همراه مصرف عصاره گیاه بادرنجبویه از طریق سرکوب آپوپتوز، باعث مهار بیماری آلزایمر شود. با توجه به این اثرات، ورزش همراه با مصرف مکمل بادرنجبویه به عنوان یک استراژی مفید در بیماری آلزایمر پیشنهاد می‌شود.

### تشکر و قدردانی: این مقاله منتج از رساله دکتری رشته

فیزیولوژی ورزشی می‌باشد که توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت باکد (IR.IAU.RASHT.REC.1402.043) به تصویب رسیده است. بدین وسیله از همه اساتید دانشمندم که در اجرای این طرح مرایاری رساندند تقدیر و تشکر می‌کنم.

### نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله

یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

### تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه

تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

### منابع

1. Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. Melissa officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(7):863-6. doi:10.1136/jnmp.74.7.863 PMID:12810768 PMCID:PMC1738567
2. Anand R, Gill KD, Mahdi AA. Therapeutics of Alzheimer's disease: past, present, and future. *Neuropharmacology*. 2014;76:27-50. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.07.004 PMID:23891641
3. Asghari RM, Barari A, Abdi A, Hasrak K. The review

اثرگذاری بر این ژن‌ها بر فرایند آپوپتوز تأثیر و باعث کاهش این فرایند گردد [۳۱]. همسو با این نتایج شیروانی و همکاران در پژوهشی اثر تمرینات ورزشی را بر روی ژن‌های آپوپتوز انجام دادند که در آن هشت هفته تمرین اینتروال هوازی بیان ژن p53 را که از طریق مکانیزم آپوپتوز باعث توقف چرخه سلولی می‌گردد را کاهش می‌دهد [۳۰].

همچنین صدیقی و همکاران در مطالعه‌ای اثرات تمرینات هوازی به برخی شاخص‌های آپوپتوزی را مورد بررسی قرار دادند آنها در نتایج خود گزارش کردند که به نظر می‌رسد، تمرینات هوازی با شدت متوسط می‌تواند باعث تعدیل برخی از عوامل مؤثر بر آپوپتوز گردد [۳۱]. در پژوهشی دیگر که اصغری و همکاران انجام دادند، نشان داده شد تمرینات ترکیبی کوتاه مدت بیان ژن آنتی آپوپتیک p21 را افزایش می‌دهد [۳۵].

نتایج داده‌های مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن کاسپاز ۳ در گروه‌های آلزایمر و عصاره، آلزایمر و هوازی و همچنین گروه آلزایمر و هوازی و مکمل نسبت به گروه آلزایمر کاهش یافت. کاسپاز ۳ یکی از اعضای خانواده کاسپاز است که به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است و به عنوان مجری اصلی در آپوپتوز نقش دارد [۲۰]. علاوه بر این، کاسپاز ۳ در مراحل اولیه آپوپتوز تنظیم و فعال می‌شود [۲۱]. ورزش هوازی بیان کاسپاز ۳ را در موش‌های صحرایی آلزایمری سرکوب کرد و نشان داد که ورزش هوازی مرگ سلولی آپوپتوز ناشی از آلزایمر را مهار می‌کند [۳۲،۳۱]. در همین راستا عظیم نژاد و همکاران در مطالعه‌ای افزایش ژن کاسپاز ۳ را در اثر تمرین استقامتی بدست آوردند.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که عصاره گیاه بادرنجبویه خاصیت پاد اکسایشی قوی دارد و قابلیت پاکسازی رادیکال‌های آزاد آییون سوپراکسید و نیتریک اکسایدرا دارا می‌باشد. خاصیت پاد اکسایشی این گیاه به ترکیبات فنلی آن نسبت داده می‌شود. ترکیبات فنلی موجود در این گیاه از مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها می‌باشند ترکیبات فلاونوئیدی گیاه شامل، hesperetin, hesperidin, naringin, naringenin می‌باشند برای همه این ترکیبات خاصیت پاد اکسایشی ذکر شده است [۳۳،۳۴]. برای عصاره این گیاه علاوه بر اثر پاد اکسایشی خواص دیگری ذکر شده است که می‌تواند در اثرات نروپروتکتیو این گیاه نقش داشته باشند. عصاره به دست آمده از سرشاخه

- of short-term concurrent training on expression of p53 and p21 tumor suppressor genes in men with prostate cancer.
4. Aydın E, Türkez H, Keleş MS. The effect of carvacrol on healthy neurons and N2a cancer cells: some biochemical, anticancerogenicity and genotoxicity studies. *Cytotechnology*. 2014;66:149-57. doi:10.1007/s10616-013-9547-5 PMid:23553016 PMCID:PMC3886536
  5. Bazayr F, Shabani R, Elmiyeh A. The effects of endurance training and saffron extract on the expression of Bax, Bcl-2, and Caspase-3 genes in the hippocampal tissue of Alzheimer's male rats. *J Jiroft Univ Med Sci*.

- 2023;9(4):1151-9.
6. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2006;368(9533):387-403. doi:10.1016/S0140-6736(06)69113-7 PMID:16876668
  7. Breitner JC, Gau BA, Welsh KA, Plassman BL, McDonald WM, Helms MJ, Anthony JC. Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study. *Neurology*. 1994;44(2):227 doi:10.1212/WNL.44.2.227 PMID:8309563
  8. Butterfield DA.  $\beta$ -Amyloid-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity: implications for Alzheimer's disease. *Chem Res Toxicol*. 1997;10(5):495-506. doi:10.1021/tx960130e PMID:9168246
  9. Cioffi F, Adam RH, Broersen K. Molecular mechanisms and genetics of oxidative stress in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2019;72(4): 981-1017 doi:10.3233/JAD-190863 PMID:31744008 PMID:PMC6971833
  10. Clementi F, Fornasari D, Gotti C. Neuronal nicotinic receptors, important new players in brain function. *Eur J Pharmacol*. 2000;393(1-3):3-10. doi:10.1016/S0014-2999(00)00066-2 PMID:10770992
  11. Dall'Igna OP, Fett P, Gomes MW, Souza DO, Cunha RA, Lara DR. Caffeine and adenosine A2a receptor antagonists prevent  $\beta$ -amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. *Exp Neurol*. 2007;203(1):241-5. doi:10.1016/j.expneurol.2006.08.008 PMID:17007839
  12. Dastmalchi K, Dorman HD, Oinonen PP, Darwis Y, Laakso I, Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT Food Sci Technol*. 2008;41(3):391-400. doi:10.1016/j.lwt.2007.03.007
  13. Feng D, Wang MY, Liu J, Zhang HX, Chen X, Zhang RL, et al. Survival efficacy of MDS/AML patients with TP53 abnormal received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2023;44(3):222-9.
  14. Ge YS, Teng WY, Zhang CD. Protective effect of cyclophilin A against Alzheimer's amyloid beta-peptide (25-35)-induced oxidative stress in PC12 cells. *Chin Med J*. 2009;122(6):716-24.
  15. Ghasemi PA, Gorgij A, Rahimmalek M, Hamed B. Phytochemical response of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) to foliar application of jasmonic acid.
  16. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002;297(5580):353-6. doi:10.1126/science.1072994 PMID:12130773
  17. Jones GM, Sahakian BJ, Levy R, Warburton DM, Gray JA. Effects of acute subcutaneous nicotine on attention, information processing and short-term memory in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology (Berl)*. 1992;108:485-94. doi:10.1007/BF02247426 PMID:1410164
  18. Ju Y, Tam KY. Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*. 2022;17(3):543-9. doi:10.4103/1673-5374.320970 PMID:34380884 PMID:PMC8504384
  19. Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Kimura J, Kume T, Kochiyama H, Maeda T, Akaike A. Nicotinic receptor stimulation protects neurons against  $\beta$ -amyloid toxicity. *Ann Neurol*. 1997;42(2): 159-63. doi:10.1002/ana.410420205 PMID:9266724
  20. Koo JH, Kang EB, Oh YS, Yang DS, Cho JY. Treadmill exercise decreases amyloid- $\beta$  burden possibly via activation of SIRT-1 signaling in a mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 2017;288:142-52. doi:10.1016/j.expneurol.2016.11.014 PMID:27889467
  21. Larson EB, Wang LI, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Crane P, et al. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Ann Intern Med*. 2006;144(2):73-81. doi:10.7326/0003-4819-144-2-200601170-00004 PMID:16418406
  22. Ngolab J, Honma P, Rissman RA. Reflections on the utility of the retina as a biomarker for Alzheimer's disease: a literature review. *Neurol Ther*. 2019;8:57-72. doi:10.1007/s40120-019-00173-4 PMID:31833024 PMID:PMC6908534
  23. Paterson D, Nordberg A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Prog Neurobiol*. 2000; 61(1):75-111. doi:10.1016/S0301-0082(99)00045-3 PMID:10759066
  24. Pereira RP, Fachineto R, de Souza Prestes A, Puntel RL, Santos da Silva GN, Heinzmann BM, et al. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Neurochem Res*. 2009;34: 973-83. doi:10.1007/s11064-008-9861-z PMID:18853256
  25. Perry N, Court G, Bidet N, Court J, Perry E. European herbs with cholinergic activities: potential in dementia therapy. *Int J Geriatr Psychiatry*. 1996; 11(12):1063-9. doi:10.1002/(SICI)1099-1166(199612)11:12<1063::AID-GPS532>3.0.CO;2-1
  26. Radak Z, Suzuki K, Higuchi M, Balogh L, Boldogh I, Koltai E. Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. *Free Radic Biol Med*. 2016;98:187-96. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.01.024 PMID:26828019
  27. Reinsberger C. Of running mice and exercising humans-the quest for mechanisms and biomarkers of exercise-induced neurogenesis and plasticity. *Dtsch Z Sportmed*. 2015;66(2). doi:10.5960/dzsm.2015.165
  28. Roth KA. Caspases, apoptosis, and Alzheimer disease: causation, correlation, and confusion. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001;60(9):829-38. doi:10.1093/jnen/60.9.829 PMID:11556539
  29. Schliebs R. Basal forebrain cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease-interrelationship with  $\beta$ -amyloid, inflammation and neurotrophin signaling. *Neurochem Res*. 2005;30:895-929 doi:10.1007/s11064-005-6962-9 PMID:16187224
  30. Sepand M, Soodi M, Soleimani M, Hajimehdipoor H. Protective effects of *Melissa officinalis* extract against beta-amyloid-induced oxidative stress in PC12 cells. *J Med Plants*. 2012; 11(42):74-85.
  31. Thomas AG, Dennis A, Bandettini PA, Johansen-Berg H. The effects of aerobic activity on brain structure. *Front Psychol*. 2012;3:86. doi:10.3389/fpsyg.2012.00086 PMID:22470361 PMID:PMC3311131
  32. Wake G, Court J, Pickering A, Lewis R, Wilkins R, Perry E. CNS acetylcholine receptor activity in European medicinal plants traditionally used to improve failing memory. *J Ethnopharmacol*. 2000; 69 (2): 105-14. doi:10.1016/S0378-8741(99)00113-0 PMID:10687867
  33. Xiao XQ, Wang R, Han YF, Tang XC. Protective effects of huperzine A on  $\beta$ -amyloid25-35 induced oxidative injury in rat pheochromocytoma cells. *Neurosci Lett*. 2000; 286 (3):155-8. doi:10.1016/S0304-3940(00)01088-0 PMID:10832008

#### How to Cite this Article:

Navardi M, Shabani R, Gholamrezaoo darsara S. Effect of aerobic exercise and *Melissa officinalis* extract on the expression of p53, p21, and caspase-3 genes in the hippocampus of male rats with induced Alzheimer's disease. *Feyz Med Sci J* 2024; 28(5): 456-62.

Doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.5.456