

تأثیر هشت هفته تمرین هوازی فزآینده و مصرف مکمل فیستین بر بیان ژنی $TGF\beta$ و $FGF2$ در موش‌های سالمند مبتلا به بیماری آلزایمر

علی جلالی دهکردی^۱، اکبر اعظمیان جزئی^{۱*}، خسرو جلالی دهکردی^۲

^۱ گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، آگروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۰۵/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۸

چکیده

زمینه و هدف: $TGF\beta$ و $FGF2$ نشانگرهای مولکولی مهمی برای آنژیوژنز مغزی هستند که در شرایط مختلف مانند بیماری آلزایمر (AD) به میزان قابل توجهی در بافت مغز کاهش می‌یابد و ممکن است تحت تأثیر تمرینات ورزشی قرار گیرند. بنابراین هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر هشت هفته تمرین هوازی فزآینده و مصرف مکمل فیستین بر بیان ژنی $TGF\beta$ و $FGF2$ در موش‌های سالمند مبتلا به آلزایمر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۳ انجام شد، ۳۰ سر موش نر C57BL/6 سالمند مبتلا به آلزایمر به طور مساوی به پنج گروه شامل؛ کنترل سالم، آلزایمر (AD)، AD + فیستین (Fisetin)، AD + تمرین هوازی (Aerobic Training)، AD + AT + Fis تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های AD با تزریق آمیلوئید بتا ($A\beta_{1-42}$) به هیپوکامپ دچار AD شدند. پروتکل تمرین هوازی پنج روز در هفته به مدت هشت هفته با شیب صفر و سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه شروع شد و در هفته هشتم به ۲۷ متر در دقیقه و مدت ۴۰ دقیقه رسید. مکمل فیستین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت هشت هفته استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند ($p \leq 0.05$).

یافته‌ها: تغییرات بیان ژن‌های $TGF\beta$ و $FGF2$ در بافت مغز موش‌های سالمند در بین پنج گروه تفاوت معنی‌داری داشت ($p < 0.01$) و نیز بر اساس نتایج آزمون تعقیبی، بیان آن‌ها در گروه‌های AD نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.01$). همچنین، بیان آن‌ها در گروه‌های AD + تمرین + فیستین، AD + تمرین و AD + فیستین در مقایسه با گروه AD به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p > 0.01$). علاوه بر این، بیان آن‌ها در گروه AD + تمرین + فیستین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه AD + تمرین و AD + فیستین بود و نیز بیان آن‌ها در گروه AD + تمرین نسبت به AD + فیستین به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p < 0.01$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ترکیب تمرین هوازی فزآینده و مکمل فیستین یا هریک از آنها به تنهایی، می‌تواند از طریق افزایش بیان $TGF\beta$ و $FGF2$ به افزایش آنژیوژنز مغزی در افراد سالمند مبتلا به بیماری آلزایمر کمک نماید. البته ترکیب فیستین و تمرین هوازی نسبت به تمرین هوازی و مکمل تنها و نیز تمرین هوازی نسبت به مصرف فیستین تنها، تأثیری بیشتری دارند، بنابراین، ترکیب تمرین هوازی فزآینده و فیستین به عنوان مؤثرترین روش درمانی مکمل برای این بیماری توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین، آنژیوژنز، مکمل‌های غذایی، بیماری آلزایمر، سالمند

*نویسنده مسئول: اکبر اعظمیان جزئی، اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: azamianakbar@yahoo.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

بیماری آلزایمر (AD)^(۱) شایع ترین بیماری تحلیل برنده عصبی وابسته به سن است. پژوهش ها از افزایش روزافزون این بیماری در میان جمعیت در جوامع مختلف حکایت دارد و گفته می شود در حال حاضر ۳۶ میلیون نفر مبتلا به آلزایمر در سراسر جهان وجود دارند. پیش بینی ها حاکی از آن است که با توجه به افزایش جمعیت سالمندان، آمار مبتلایان به آلزایمر تا سال ۲۰۵۰ به ۱۱۵ میلیون نفر خواهد رسید^(۱). پژوهش های انجام شده با روش تصویربرداری مغناطیسی و داپلر در انسان نشان داده است که جریان خون مغز در حالت استراحت به طور معنی داری در بیماران مبتلا به AD کاهش می یابد و پیشنهاد شده است که اختلال عملکرد عروق مغزی قبل از افت عملکرد شناختی و بروز تغییرات تحلیل برنده عصبی اتفاق می افتد^(۲).

فاکتور رشد تبدیل کننده بتا (TGF-β1)^(۳) عضوی از خانواده TGF-β است که از چندین سلول با عملکردهای مختلف تشکیل شده است و مهم ترین نقش آن ها محافظت از هموستاز سلولی است. TGF-β1 با بهبود التهاب، آپوپتوز و عملکرد سیستم ایمنی، تنظیم کننده ضروری بقای سلولی و تجدید سلول پس از آسیب است^(۳). ژن TGF-β1 در هیپوکامپ و قشر مغز به شدت بیان می شود. نقش محافظتی TGF-β1 به عنوان فاکتور نوروتروفیک مادام العمر شناسایی شده است. اختلال در مسیر سیگنالینگ TGF-β1 سلول های نوروبلاستوما منجر به دیستروپی عصبی

و افزایش سطح آمیلوئید بتا (Aβ1-42)^(۴) می شود^(۴). این یافته نشان می دهد که نقص در محور سیگنال دهی TGF-β/ T β RII نقش حیاتی در پاتوژنز AD ایفا می کند، نوروها را از دسترسی به فاکتورهای رشد محروم می کند و در نهایت، انحطاط عصبی ناشی از آمیلوئید را تسریع می کند^(۵). فخرایی و همکاران نشان دادند که تمرین هوازی می تواند اثرات مضر Aβ را از طریق مسیرهای سیگنالینگ مولکولی BDNF و TGF-β خنثی کند^(۶). علاوه بر این، مطالعه دیگری کاهش سطح TGF-β در مغز بیماران آلزایمری را گزارش کرده است^(۷).^۱

فاکتورهای رشد فیبروبلاست (FGFs)^(۴) به عنوان یک عامل مهم در نوروژنز در نظر گرفته شده است، جایی که فاکتور رشد فیبروبلاست ۲ (FGF2) نوروژنز هیپوکامپ نوزاد را تنظیم می کند و تعداد سلول های هیپوکامپ را افزایش می دهد. هم چنین، باعث افزایش تعداد نوروها در پیاز بویایی می شود. علاوه بر این، FGF2 توانایی القای تکثیر و تمایز پیش سازهای عصبی/گلیا را به سلول هایی دارد که خواص آنتی ژنی نوروها، آستروسیت ها و الیگودندروسیت ها را نشان می دهند^(۸). این سلول های بنیادی نیز می توانند در پاسخ به FGF2 خود تجدید شوند. علاوه بر این، FGF2 با تأثیرگذاری بر مورفولوژی و رفتار مخروط رشد اولیه، انشعاب

1-Alzheimer's Disease(AD)

2-Transforming Growth Factor-Beta 1(TGF-β1)

3-Amyloid Beta(Aβ 1-42)

4-Fibroblast Growth Factors

آکسون و سیناپتوز را در نورون‌های هر می جنینی تحریک می‌کند (۹). نتایج تحقیق کاشف و همکاران نشان داد که تمرین شنا باعث افزایش معنی‌دار VEGF-A و FGF-2 هیپوکمپ شد (۱۰). مدارک و شواهد اپیدمیولوژیک، تصویربرداری و پژوهش‌های نوروپاتولوژی از نقش فاکتورهای ژنتیکی، عروقی، عوامل نروژنز، التهابی و اکسیداتیو در ایجاد بیماری آلزایمر حمایت می‌کند. البته علوم پایه و شواهد تجربی بر روی انسان به شدت از فرضیه‌ای پشتیبانی می‌کند که افزایش فعالیت بدنی و ورزش منظم حتی فعالیت با شدت کمی مانند پیاده‌روی دارای اثر حفاظتی قوی بر روی سیستم عصبی است و منجر به کاهش خطر ابتلا به زوال عقل می‌گردد. فعالیت بدنی منظم دارای نقش مثبتی در کاهش آتروفی مغز ناشی از افزایش سن و بیماری‌های مرتبط با اختلال ذهنی دارد و موجب کاهش بروز بیماری‌های آلزایمر می‌گردد (۱۱).

نشان داده شده است که فعالیت ورزشی و به ویژه فعالیت ورزشی هوازی اثرات مفیدی بر سلامت مغز و عملکرد شناختی دارد و اثرات مخرب بیماری‌های نورولوژیک مانند آلزایمر، پارکینسون و افسردگی را کاهش می‌دهد (۱۲). اثرات مفید فعالیت ورزشی بر مغز بیشتر در نواحی هیپوکمپ و شکنج دندانه‌ای مشاهده می‌شود و این اثرات مفید شامل افزایش جریان خون و اندازه هیپوکمپ در انسان‌ها، تغییرات مورفولوژیکی در دندریت و برآمدگی دندریتی، افزایش پلاستیسیته سیناپسی نورون‌ها در حیوانات می‌باشد (۱۳). نتایج بررسی‌های اخیر نشان

داد که ترکیب تمرین با مکمل‌های گیاهی می‌تواند اثرات مثبت همزایی بیشتری ایجاد کند که در پیشگیری و کاهش عوارض بیماری‌ها مؤثر باشند (۱۴-۱۶).^۱

فیسیتین (۳،۴،۷-تتراهیدروکسی فلاون)^(۱)، یک فلاونوئید طبیعی است که به وفور در میوه‌ها و سبزیجات مختلف مانند؛ توت‌فرنگی، سیب، خرمالو، انگور، پیاز و خیار یافت می‌شود و دارای خواص نوروتروفیک، ضد سرطانی و ضدالتهابی می‌باشد. همچنین، در برابر اختلالات شناختی و عصبی مانند AD اثراتی آنتی‌اکسیدانی دارد (۱۷). علاوه بر این، گزارش شده است که فیسیتین در حفظ عملکرد عصبی در طول پیری نقش دارد و این پتانسیل را دارد که عوارض دیابت را در موش محدود کند (۱۸). در مورد اثرات ترکیبی آنتی‌اکسیدانی و محافظتی این گیاه همراه با تمرینات هوازی فزاینده که بتواند بهترین اثر را در بیماری آلزایمر داشته باشد، تحقیقات محدودی انجام شده است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی فزاینده و مصرف مکمل فیسیتین بر بیان ژنی TGFβ و FGF2 در موش‌های سالمند مبتلا به آلزایمر بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۳ انجام شد، تعداد ۳۰ سر موش نر سالمند نژاد C57BL/6 با وزن ۲۸-۳۰ گرم و محدوده سنی ۲۲-۲۰ ماه از مرکز

1-Fisetin, 3, 3',4'-7-Tetrahydroxyflavone

پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی مرکز رویان اصفهان خریداری گردید و به پنج گروه شامل؛ کنترل سالم، آلزایمر (AD)، AD + فیسستین (Fisetin)، AD + تمرین هوازی (Aerobic Training)، AD + AT + AD، Fis + AT + AD تقسیم شدند. در ابتدا، موش ها به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط در آزمایشگاه تخصصی فیزیولوژی ورزشی نگهداری شدند. در تمام دوره این تحقیق، حیوانات در شرایط استاندارد شامل چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته و دمای محیط ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. همچنین، تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات در این تحقیق بر اساس معاهده هلسینکی و مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه شهرکرد رعایت گردید.

برای القای آلزایمر از الیگومر A β 1-42 از کمپانی سیگما آلد ریچ استفاده شد. A β 1-42 مصنوعی (Sigma-Aldrich، ایالات متحده آمریکا) به مدت ۲۰ دقیقه در هگزا فلورو ایزوپروپانول (HFIP)^(۱) سرد (Sigma-Aldrich، ایالات متحده آمریکا) حل شد و سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه برای تشکیل مونومرهای A β 1-42 ورتکس شد. مونومرهای A β 1-42 با اسپین خلاء، رسوب دهی و در نهایت، در محلول HFIP ۱۰ درصد حل شد. محلول A β 1-42 پس از انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت تحت هم زدن مداوم در دمای اتاق، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت ها^(۲) جدا و به لوله های از قبل سرد شده منتقل شد و بعد، ۵۰ میکرومولار

الیگومرهای محلول A β 1-42 پس از تبخیر کامل HFIP جمع آوری شد. محلول الیگومر A β 1-42 تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.^(۱)

موش های ماده BALB/c عموماً با تجویز داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم ۰/۲ درصد (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بی هوش شدند و سپس، در دستگاه استریوتاکسیک (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) قرار گرفتند. الیگومر A β 1-42 در غلظت ۵۰ میکرومولار یا ۰/۹ درصد سالیین استریل با غلظت ۱ میلی مولار (۱ میکرولیتر، با سرعت ۰/۲ میکرولیتر در دقیقه) به ناحیه شکنج دندان دار دو طرفه (DG) هیپوکامپ پشتی موش های C57BL/6 تزریق شد (۱۹).

برای اجرای پروتکل تمرین ورزشی، حیوانات گروه تمرین و تمرین + مکمل به مدت دو هفته با نحوه انجام تمرین روی نوارگردان مخصوص حیوانات آشنا شدند. سپس، برنامه تمرین (جدول ۱) با شیب صفر و سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه شروع شد و در هفته هشتم به ۲۷ متر در دقیقه و مدت ۴۰ دقیقه رسید (۲۰).

مکمل فیسستین از شرکت Sigma-Aldrich (ایالات متحده آمریکا) خریداری شد. این مکمل با غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت هشت هفته و به صورت خوراکی با استفاده از گاواژ مصرف شد (۱۸).

1-Hexafluoroisopropanol (HFIP)
2-Supernatants

چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و ۱۲ ساعت ناشتایی، از ترکیب ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر کتامین و ۲۰ میلی گرم در میلی لیتر محلول زایلازین برای بیهوشی موش ها استفاده شد. ابتدا، متخصصان آزمایشگاه برای تشخیص بیهوشی، آزمایش درد انجام دادند. پس از اطمینان از بیهوشی کامل، مغز حیوانات باز شد و بافت مغزی برداشت شده و بلافاصله در نیتروژن قرار داده شد.

توالی نوکلئوتیدی پرایمر معکوس مکمل $TGF-\beta$ و FGF2 به دست آمد (جدول ۲). ژن ها از طریق نرم افزارهای Oligo7 و Beacon designer طراحی شدند. در نهایت، Real-Time PCR به وسیله کیت SYBR Green و دستگاه های Corbtt Rotor gene 6000 انجام شد. در این تحقیق، از ژن B2M به عنوان ژن خانه داری استفاده شد. تجزیه و تحلیل بیان ژن با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه و ارزیابی گردید.

داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون های آماری شاپیرو-ویلک، لوین، تحلیل واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

RNA از بافت هیپوکامپ مغز با استفاده از معرف تریزول و طبق پروتکل سازنده (یکتا تجهیز آزما) استخراج شد. پس از آن، سنتز cDNA طبق پروتکل کیت BIOFACT انجام شد و بعد، توالی ژن هدف از سایت NBCI و توالی نوکلئوتیدی پرایمر جلو و

جدول ۱: برنامه تمرینی هوازی

هفته ها	سرعت دویدن (متر در دقیقه)	مدت زمان هر جلسه (دقیقه)
اول	۱۰ متر بر دقیقه	۳۰ دقیقه
دوم	۱۸ متر بر دقیقه	۳۵ دقیقه
سوم	۱۸ متر بر دقیقه	۳۵ دقیقه
چهارم	۲۲ متر بر دقیقه	۳۵ دقیقه
پنجم	۲۲ متر بر دقیقه	۳۵ دقیقه
ششم	۲۷ متر بر دقیقه	۴۰ دقیقه
هفتم	۲۷ متر بر دقیقه	۴۰ دقیقه
هشتم	۲۷ متر بر دقیقه	۴۰ دقیقه

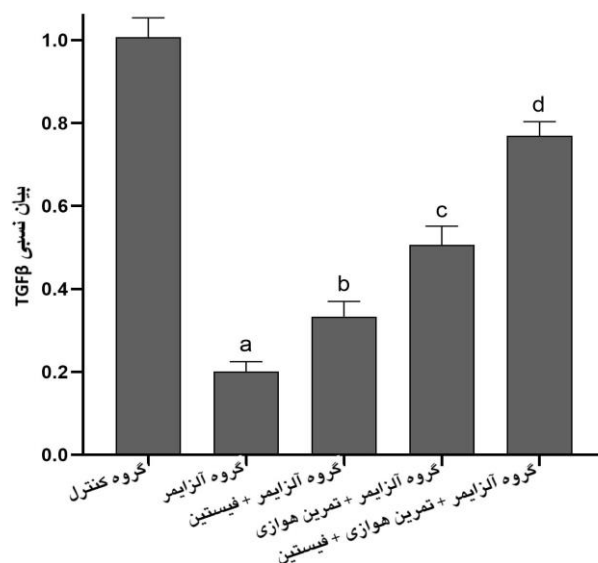
جدول ۲: توالی پرایمر متغیرهای تحقیق

Genes	Primer sequences	Temperature (°C)
B2m	F: 5'-ACAGTTCCACCCGCTCACATT-3' R: 5'-TAGAAAGACCAGTCCTTGCTGAAG-3'	105
TGF- β	F: 5'-TACCTGAACCCGTGTTGCTCTC-3' R: 5'-GTTGCTGAGGTATCGCCAGGAA-3'	133
FGF2	F: 5'-TGTTCTGTCGCACCCAGTGCGTA-3' R: 5'-TTCCAACGTCACGGTCCTGAT-3'	114

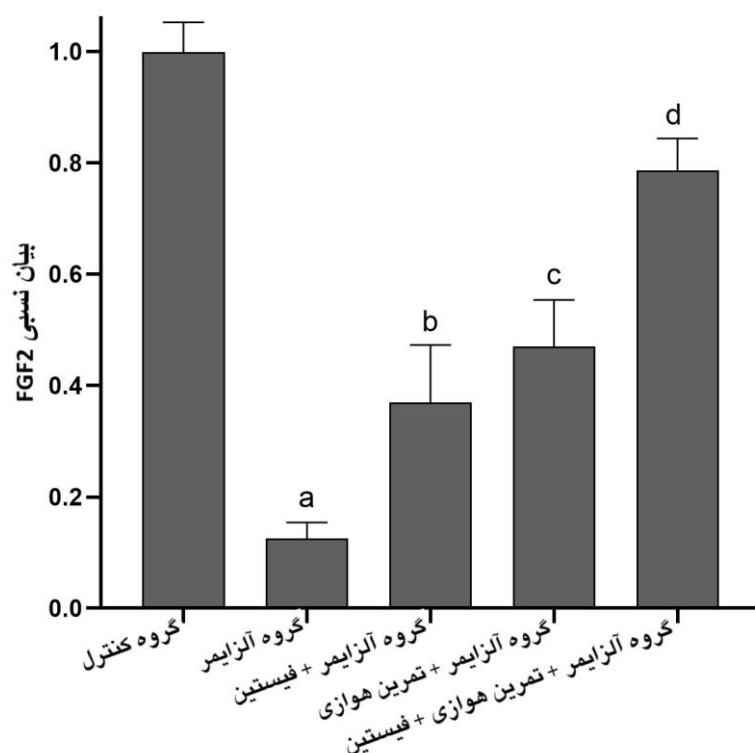
یافته‌ها

آزمون آنالیز واریانس یکطرفه تفاوت بین گروهی معنی‌داری را از پس از هشت هفته تمرین هوازی در بیان ژن TGF-β در بافت مغز موش‌های سالمند نشان داد ($p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان TGF-β در گروه‌های AD کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم داشت ($p=0/001$) و نیز بیان آن در گروه‌های AD + تمرین + فیسستین ($p=0/001$)، AD + تمرین ($p=0/001$) و AD + فیسستین ($p=0/001$) در مقایسه با گروه AD به طور معنی‌داری افزایش یافته بود. همچنین، میزان بیان آن در گروه AD + تمرین + فیسستین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های AD + تمرین ($p=0/001$) و AD + مکمل فیسستین ($p=0/001$) بود. علاوه بر این، بیان آن در گروه AD + تمرین نسبت به AD + فیسستین افزایش معنی‌داری داشت ($p=0/001$) (شکل ۱).

پس از هشت هفته تمرین هوازی، تحلیل آنالیز واریانس یک راهه نشان داد که بین مقادیر بیان ژن FGF2 در بافت مغز موش‌های سالمند گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌داری دارد ($p=0/001$). بر اساس نتایج آزمون توکی، کاهش معنی‌داری در بیان ژن FGF-2 در گروه‌های AD نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد ($p=0/001$)، اما این متغیر در گروه‌های AD + تمرین + فیسستین ($p=0/001$)، AD + تمرین ($p=0/001$) و AD + فیسستین ($p=0/001$) در مقایسه با گروه AD افزایش معنی‌داری داشت. همچنین، بیان آن در گروه AD + تمرین + فیسستین به طور معنی‌داری بالاتر از گروه AD + تمرین ($p=0/001$) و AD + فیسستین ($p=0/001$) بود و نیز بیان آن در گروه AD + تمرین نسبت به AD + فیسستین به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p=0/001$) (شکل ۲).



شکل ۱: میزان تغییرات بیان نسبی ژن TGFβ در گروه‌های مختلف، a, b, c, d: کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ b, c, d: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه آلزایمر؛ c, d: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه آلزایمر و آلزایمر + فیسستین؛ d: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های آلزایمر، آلزایمر + فیسستین و آلزایمر + تمرین هوازی



شکل ۲: میزان تغییرات بیان نسبی ژن FGF2 در گروه‌های مختلف، a, b, c, d: کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ b, c, d: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه آلزایمر؛ c, d: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه آلزایمر و آلزایمر + فیسستین؛ d: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های آلزایمر، آلزایمر + فیسستین و آلزایمر + تمرین هوازی

بحث

تنهایی، بیان ژن‌های TGF β و FGF2 را پس از هشت هفته تمرین هوازی فزاینده در موش‌های سالمند مبتلا به بیماری آلزایمر در مقایسه با گروه کنترل آلزایمر به طور معنی‌داری افزایش داد. علاوه بر این، ترکیب فیسستین و تمرین هوازی نسبت به تمرین هوازی و مکمل تنها و نیز تمرین هوازی نسبت به مصرف فیسستین تنها، تأثیر معنی‌دار بیشتری داشت.^۱

تمرین ورزشی و استفاده از مکمل‌های گیاهی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند تأثیرات سینرژیک در بهبود و پیشگیری آلزایمر در سالمندی داشته باشد (۱). بنابراین، هدف از این مطالعه تعیین تأثیر هشت هفته تمرین هوازی فزاینده و مصرف مکمل فیسستین بر بیان ژنی TGF β و FGF2 در موش‌های سالمند مبتلا به آلزایمر بود.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، ترکیب تمرین هوازی فزاینده و مکمل فیسستین و هر یک از آنها به

1-Cytotoxic microglia

TGF-β یک عامل تغذیه‌ای است که در رشد اعصاب و انعطاف‌پذیری سیناپسی نقش دارد (۲۱). اختلال در سیگنالینگ TGF-β1 با تشدید رسوب Aβ و تشکیل گره‌های عصبی فیبری همراه است که باعث تخریب نورون‌ها می‌شود. پیری و التهابات مزمن، سیگنالینگ TGF-β1/Smad نرمال را کاهش می‌دهد و باعث فعال شدن سیتوتوکسیک میکروگلیا^(۸) و آسیب عصبی می‌شود. کاهش اختلال سیگنالینگ TGF-β1 ممکن است یک استراتژی دارویی جدید برای درمان آلزایمر به حساب آید (۵). TGFβ1 یک سیتوکین ضدالتهابی است که سلول‌های عصبی را تغذیه و محافظت می‌کند. مسیر گیرنده TGFβ1(TβRI) در پیشرفت بیماری نورودژنراتیو نقش حیاتی دارد. ژن TGF-β1 به شدت در مننژها و شبکه کوروئیدی، به ویژه در هیپوکامپ و قشر مغز بیان می‌شود. TGF-β1 به دلیل نقش محافظتی‌اش به عنوان یک عامل نوروتروفیک مادام‌العمر شناخته شده است (۲۲). اختلالات مسیر سیگنالینگ TGF-β1 در بیماران مبتلا به AD گزارش شده است. اختلال در مسیر سیگنالینگ TGF-β1 در سلول‌های نوروبلاستوما^(۹) منجر به دیستروپی عصبی و افزایش سطح آمیلوئید بتا می‌شود (۲۳). این اختلال در بیماری آلزایمر ممکن است نتیجه کاهش بیان گیرنده نوع دوم TGF-β (TβRII)، اختلال اسمد (Smad) فعال شده با TGF-β1 یا افزایش ژنوتیپ cc TGF-β1 باشد (۲۱). TGF-β1 به TβRII متصل می‌شود و باعث تجمع گیرنده‌های نوع اول و دوم می‌شود، سپس پروتئین اسمد ۲ و اسمد ۳ را

فسفریله می‌کند که به اسمد ۴ متصل می‌شود. اختلال عملکرد آبشار اسمد از فعال شدن کمپلکس‌های اسمد و انتقال آنها به هسته جلوگیری می‌کند (۲۴). هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر، فخرایی و همکاران به بررسی تأثیر چهار هفته توانبخشی با تمرین هوازی بر بیان ژن‌های BDNF و TGF-β1 هیپوکامپ در مدل موش مبتلا شده به AD ناشی از Aβ1-42 پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تمرین هوازی می‌تواند اثرات مضر Aβ را از طریق مسیرهای سیگنالینگ مولکولی BDNF و TGF-β1 خنثی کند (۶). همچنین، هیو و همکاران نشان دادند که سیگنالینگ TGF-β/Smad یک تنظیم‌کننده مهم پاسخ استرس است و در پیامدهای رفتاری اختلال خلق نقش دارد (۲۵). بررسی‌های محدودی در زمینه تأثیر تمرین هوازی و مکمل فستین بر بیان ژن TGFβ و FGF2 در موش‌های سالمند مبتلا به AD انجام شده است.^۱ ناهمسو با نتایج تحقیق حاضر، اسلامی و همکاران نشان دادند که تمرین شنا و مصرف مکمل سیر و ترکیبی از این دو مداخله می‌تواند باعث افزایش VEGF و کاهش TGFβ در رت‌های پیر شود (۲۶). همچنین، نتایج مطالعه سلطانی و همکاران نشان داد که تمرین هوازی در آب باعث کاهش TGFβ بیماران مبتلا به MS شد (۲۷). شاید ناهمخوانی نتایج تحقیق حاضر با بررسی‌های مذکور به تفاوت در نوع آزمودنی‌ها، نوع بیماری و متفاوت بودن برنامه تمرین ورزشی مربوط باشد.

1-Cytotoxic microglia

FGF2 معروف به FGF پایه (bFGF)، یک پروتئین پرتوان است که رشد، تمایز و بقای سلول‌های عصبی را تنظیم می‌کند و در سیستم عصبی مرکزی با محلی‌سازی قابل توجه در غشای پایه عروقی، نورون‌ها، آستروسیت‌ها، میکروگلیا و الیگودندروسیت‌ها بیان می‌شود (۲۸). FGF2 با کاهش مرگ ناشی از گلوتامات از طریق سرکوب تجمع کلسیم درون سلولی، کاهش ترشح آپولیپوپروتئین، مهار تجمع اکسی رادیکال‌ها، کاهش آبشارهای تخریب کننده عصبی ناشی از $A\beta$ ، مهار استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری ناشی از پپتیدهای $A\beta$ ، فعالیت محافظتی عصبی را نشان می‌دهد (۲۹). FGF2 به شدت در توسعه AD نقش دارد و اعتقاد بر این است که این متغیر یک عامل کلیدی در بیورژن $A\beta$ با القای رشد نوریت‌های^(۱) جوانه زده است که در تشکیل پلاک‌های $A\beta$ موثر است. FGF2 بیان mRNA پیش‌ساز $A\beta$ (APP) را در PC12 (خطوط سلولی عصبی) و آستروسیت‌ها افزایش می‌دهد که نشان می‌دهد FGF2 ممکن است به آمیلوئیدوز AD کمک کند (۳۰). هایپرفسفوریلاسیون تاو به وسیله FGF2 باعث افزایش فعالیت گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ (GSK-3) می‌شود؛ کیناز کاندیدایی است که گزارش شده است فسفوریلاسیون تاو را القا می‌کند (۳۱). همچنین، FGF2 به دلیل پتانسیل محافظت عصبی‌اش، یک کاندید درمانی در نظر گرفته شده است (۳۲). تجویز سیستمیک FGF2 باعث کاهش نقص حافظه فضایی، کاهش تجمع $A\beta$ ، تاو، کاهش بیان بتا-سکرتاز ۱

(BACE1: آنزیم کلیدی در تشکیل $A\beta$)^(۲)، افزایش تعداد آستروسیت‌ها در هیپوکامپ و نجات آنها از $A\beta$ آپوپتوز القا شده شد (۳۳). علاوه بر این، انتقال ژن FGF2 به هیپوکامپ مدل موش مبتلا به AD به طور قابل توجهی یادگیری فضایی را بهبود بخشید، تجمع $A\beta$ را کاهش داد و پاکسازی آنها را ارتقا بخشید (۳۴). استراتژی درمانی دیگر مبتنی بر تجویز نانوذره FGF2 به طور قابل توجهی توانایی یادگیری فضایی و LTP را بهبود بخشید، نورون‌ها را در ناحیه زیر بطنی القا کرد و پاکسازی $A\beta$ را در مدل موش AD افزایش داد (۳۴). علاوه بر این، مطالعه ای اثر رزوراترول، با محدودیت کالری بر متغیرهای مختلف از جمله، سطوح FGF-2 را بررسی کرد و افزایش سطح FGF-2 را نشان داد که تا حدی منعکس کننده کاهش التهاب عصبی در بیماران مبتلا به AD می‌باشد (۳۵).^۱ نتایج تحقیق الم و همکاران نشان داد که فاکتورهای رشد فیبروبلاست (FGFs)، که در اصل به عنوان فاکتورهای رگ‌زایی شناخته می‌شوند، خانواده بزرگی از مولکول‌های سیگنالی هستند که در طیف گسترده‌ای از عملکردهای بیولوژیکی در رشد، نگهداری و ترمیم مغز و همچنین در پاتورژن اختلالات مرتبط با مغز از جمله آلزایمر نقش دارند (۳۱). تحقیق حاضر نشان داد که اثر هم‌زمان تمرین هوازی فزاینده و مصرف فیسستین در موش‌های صحرایی مسن آلزایمری باعث افزایش بیان ژن TGF β و FGF2 بافت مغز شد. عبدالله زاده و

1- Neurites
2- β -secretase 1

از روش های دیگر اندازه گیری مانند وسترن بلات و الایزا در پژوهش های آتی پیشنهاد می گردد.

نتیجه گیری

به نظر می رسد ترکیب تمرین هوازی فزآینده و مکمل فیسستین یا هریک از آنها به تنهایی، می تواند از طریق افزایش بیان TGFβ و FGF2 به افزایش آنژیوژنز مغزی در افراد سالمند مبتلا به بیماری آلزایمر کمک کند. لازم به ذکر است که ترکیب فیسستین و تمرین هوازی نسبت به تمرین هوازی و مکمل تنها و نیز تمرین هوازی نسبت به مصرف فیسستین تنها، تأثیر بیشتری دارند. بنابراین، ترکیب تمرین هوازی فزآینده و فیسستین به عنوان مؤثرترین روش درمانی مکمل برای این بیماری توصیه می شود. با این وجود، انجام پژوهش های بیشتر و تکمیلی در این زمینه ضروری است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مطالعه از کلیه کسانی در جمع آوری داده های این مطالعه نقش داشتند و از دانشگاه شهرکرد که با ما همکاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند که هیچ گونه تعارض منافع در خصوص این مطالعه ندارند.

همکاران نتیجه گرفتند که تمرین هوازی و زندگی در محیط غنی شده حرکتی از طریق افزایش عوامل نوتروفیک و گیرنده آنها می تواند بر حافظه فضایی موش های آلزایمری سالمند مؤثر باشد (۳۶). چی و همکاران فعالیت ورزشی را به عنوان یک مداخله بالقوه نورونیک و ضد التهابی برای شناخت در نظر گرفتند (۳۷). تمرین ورزشی بیان FGF-2 را تنظیم می کند که نشان دهنده آن است که احتمالاً عوامل رشدی می توانند واسطه های تأثیرات مثبت ورزش بر مغز باشند (۳۸).

در مطالعه ای، مکمل فیسستین عملکرد شناختی و حافظه را در موش های مبتلا شده به AD به میزان زیادی افزایش داد (۳۹). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که فیسستین با فعال کردن TGFβ و FGF2 در موش های مدل Aβ1-42، این مسیر آنژیوژنز مهم بقای عصبی را انجام می دهد. لازم به ذکر است که مکمل فیسستین می تواند آپوپتوز و تخریب عصبی ناشی از آلومینیوم را در هیپوکامپ مغز موش بالغ کاهش دهد. این نتایج نشان داد که فیسستین به عنوان یکی از فلاونوئیدهای پلی فنلی که از منابع گیاهی استخراج می شود، نقش مهمی در پیشگیری از اختلالات عصبی مرتبط با افزایش سن و از جمله، بیماری آلزایمر دارد (۱۷).

از محدودیت های اصلی تحقیق حاضر می توان به عدم اندازه گیری سایر فاکتورهای مرتبط با عملکرد شناختی و نورونز مغزی اشاره کرد. همچنین، استفاده

حمایت مالی

این تحقیق هیچ گونه کمک مالی از سازمان‌های دولتی، خصوصی و غیر انتفاعی دریافت نکرده است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی از دانشگاه شهر کرد با کد اخلاق IR.SKU.RERC.1402.064 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان به صورت یکسان در تهیه و تنظیم این مقاله نقش داشتند.

REFERENCES

1. Maher P. Fisetin acts on multiple pathways to reduce the impact of age and disease on CNS function. *Frontiers in bioscience* 2015; 7: 58.
2. Abraham D, Feher J, Scuderi GL, Szabo D, Dobolyi A, Cservednak M, et al. Exercise and probiotics attenuate the development of Alzheimer's disease in transgenic mice: role of microbiome. *Experimental Gerontology* 2019; 115: 122-31.
3. Li MO, Sanjabi S, Flavell RA. Transforming growth factor-β controls development, homeostasis, and tolerance of T cells by regulatory T cell-dependent and-independent mechanisms. *Immunity* 2006; 25(3): 455-71.
4. Sousa VDO, Almeida JC, Eller CM, Alcantara Comes FC. Characterization of TGF-β1 type II receptor expression in cultured cortical astrocytes. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal* 2006; 42: 171-5.
5. Chalmers KA, Love S. Neurofibrillary tangles may interfere with Smad 2/3 signaling in neurons. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 2007; 66(2): 158-67.
6. Fakhraei S, Almasi MR, Peeri M, Gharakhanlou R. The effect of 4-Week rehabilitation by aerobic exercise on hippocampus BDNF and TGF-β1 gene expressions in Aβ 1–42-induced rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Neuroscience* 2022; 95: 106-11.
7. Tesseur I, Zou K, Esposito L, Bard F, Berber E, Van Can J, et al. Deficiency in neuronal TGF-β signaling promotes neurodegeneration and Alzheimer's pathology. *The Journal of Clinical Investigation* 2006; 116(11): 3060-9.
8. Li XX, Cai ZP, Lang XY, Pan RY, Ren TT, Lan R, et al. *Coelloglossum viride* var. *bracteatum* extract improves cognitive deficits by restoring BDNF, FGF2 levels and suppressing RIP1/RIP3/MLKL-mediated neuroinflammation in a 5x FAD mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Functional Foods* 2021; 85: 104612.
9. Tsai CL, Pai MC, Ukropec J, Ukropcová B. Distinctive effects of aerobic and resistance exercise modes on neurocognitive and biochemical changes in individuals with mild cognitive impairment. *Current Alzheimer Research* 2019; 16(4): 316-32.
10. Kashef M, Salehpour M, Sadegh Ghomi M. Effect of eight weeks swimming exercise training on VEGF-A and FGF-2 of hippocampus tissue and Lee's index in male wistar rats. *Journal of Sport and Biomotor Sciences* 2019; 22(22): 10-8.
11. Debove L, Bru N, Couderc M, Noé F, Paillard T. Physical activity limits the effects of age and Alzheimer's disease on postural control. *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* 2017; 47(4): 301-4.
12. Abdullahi A, Wong TW-L, Ng SS-M. Understanding the mechanisms of disease modifying effects of aerobic exercise in people with Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews* 2024; 1(94): 1-13.
13. Atri A. The Alzheimer's disease clinical spectrum: diagnosis and management. *Medical Clinics* 2019; 103(2): 263-93.
14. Puoyan-Majd S, Parnow A, Rashno M, Heidari moghadam R, Komaki A. The protective effects of high-intensity interval training combined with q10 supplementation on learning and memory impairments in male rats with amyloid-β-induced Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2024; 99(s1): S67-80.
15. Montero-Odasso M, Zou G, Speechley M, Almeida QJ, Liu-Ambrose T, Middleton LE, et al. Effects of exercise alone or combined with cognitive training and vitamin D supplementation to improve cognition in adults with mild cognitive impairment: a randomized clinical trial. *JAMA Network Open* 2023; 6(7): e2324465.
16. Nameni F, Rasoli Z. Investigating the effects of melilot extract and resistance training on protein expression APP in the hippocampus of Alzheimer's model rats. *Sport Physiology & Management Investigations* 2024; 15(4): 195-297.
17. Ahmad A, Ali T, Park HY, Badshah H, Rehman SU, Kim MO. Neuroprotective effect of fisetin against amyloid-beta-induced cognitive/synaptic dysfunction, neuroinflammation, and neurodegeneration in adult mice. *Molecular Neurobiology* 2017; 54: 2269-85.
18. Wang Y, Wu X, Ren W, Liu Y, Dai X, Wang S, et al. Protective effects of fisetin in an Aβ1-42-induced rat model of Alzheimer's disease. *Folia Neuropathologica* 2023; 61(2): 196-208.
19. Yang L, Wang Y, Li Z, Wu X, Mei J, Zheng G. Brain targeted peptide-functionalized chitosan nanoparticles for resveratrol delivery: impact on insulin resistance and gut microbiota in obesity-related Alzheimer's disease. *Carbohydrate Polymers* 2023; 310: 120714.

- 20.Fathi A, Namvar S. Six weeks of continuous aerobic training increases the neuronal density in the CA1 area of the hippocampus and improves memory performance in aged AD model rats. *Metabolism and Exercise* 2021; 11(2): 113-28.
- 21.Ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF- β -Smad signalling. *Trends in Biochemical Sciences* 2004; 29(5): 265-73.
- 22.Güven G, Köseoğlu P, Lohmann E, Samancı B, Şahin E, Bilgiç B, et al. Peripheral Expression of IL-6, TNF- α and TGF- β 1 in Alzheimer's Disease Patients. *Turkish Journal of Immunology* 2024; 12(1): 28-34.
- 23.Tesseur I, Nguyen A, Chang B, Li L, Woodling NS, Wyss-Coray T, et al. Deficiency in neuronal TGF- β signaling leads to nigrostriatal degeneration and activation of TGF- β signaling protects against MPTP neurotoxicity in mice. *Journal of Neuroscience* 2017; 37(17): 4584-92.
- 24.Kapoor M, Chinnathambi S. TGF- β 1 signalling in alzheimer's pathology and cytoskeletal reorganization: a specialized tau perspective. *Journal of Neuroinflammation* 2023; 20(1): 72.
- 25.Hiew LF, Poon CH, You HZ, Lim LW. TGF- β /Smad signalling in neurogenesis: implications for neuropsychiatric diseases. *Cells* 2021; 10(6): 1382.
- 26.Eslami A, Habibian M, Farzanegi P. Effect of swimming exercise and garlic extract consumption on some of growth factors involved in angiogenesis and neurogenesis in the brain tissue of old rats. *Daneshvar Med* 2016; 23(121): 13-20.
- 27.Soltani M, Fathi M, Moazzemi M, Golradi N. The effects of aerobic exercise in water on cortisol levels and TGF- β in patients with multiple sclerosis. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences* 2014; 21(2): 207-16.
- 28.Hanneken A, Frautschy S, Galasko D, Baird A. A fibroblast growth factor binding protein in human cerebral spinal fluid. *Neuroreport* 1995; 6(6): 886-8.
- 29.Kole D, Grella A, Dolivo D, Shumaker L, Hermans W, Dominko T. High molecular weight FGF2 isoforms demonstrate canonical receptor-mediated activity and support human embryonic stem cell self-renewal. *Stem Cell Research* 2017; 21: 106-16.
- 30.Xie X, Zhang X, Li S, Du W. Involvement of Fgf2-mediated tau protein phosphorylation in cognitive deficits induced by sevoflurane in aged rats. *Molecular Medicine* 2024; 30(1): 39.
31. Alam R, Mrad Y, Hammoud H, Saker Z, Fares Y, Estephan E, et al. New insights into the role of fibroblast growth factors in Alzheimer's disease. *Molecular Biology Reports*. 2022; 1(49): 1413-1427.
- 32.Zhao R. Can exercise benefits be harnessed with drugs? A new way to combat neurodegenerative diseases by boosting neurogenesis. *Translational Neurodegeneration* 2024; 13(1): 1-28.
- 33.Huang S, Mao J, Ding K, Zhou Y, Zeng X, Yang W, et al. Polysaccharides from *Ganoderma lucidum* promote cognitive function and neural progenitor proliferation in mouse model of Alzheimer's disease. *Stem Cell Reports* 2017; 8(1): 84-94.
- 34.Kiyota T, Ingraham KL, Jacobsen MT, Xiong H, Ikezu T. FGF2 gene transfer restores hippocampal functions in mouse models of Alzheimer's disease and has therapeutic implications for neurocognitive disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2011; 108(49): E1339-E48.
- 35.Moussa C, Hebron M, Huang X, Ahn J, Rissman RA, Aisen PS, et al. Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation* 2017; 14: 1-10.
- 36.Abdollahzadeh M, Nobejari M, Abdoli B, Rana Fayaz Milani R. The effect of aerobic exercise along with living in enriched environment on spatial memory and brain-derived neurotrophic factor in the Hippocampal tissue of Elderly female Wistar rats with Alzheimer's disease. *Journal of Sport and Exercise Physiology* 2024; 17(1): 29-44.
- 37.Wu CW, Chen YC, Yu L, Chen Hi, Jen CJ, Huang AM, et al. Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. *Journal of Neurochemistry* 2007; 103(6): 2471-81.
- 38.Gómez-Pinilla F, Dao L, So V. Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. *Brain Research* 1997; 764(1-2): 1-8.
- 39.Nabizadeh F. Neuroprotective role of Fisetin in Alzheimer's disease: An overview of potential mechanism and clinical findings. *Neurology Letters* 2024; 3(Special Issue (Diagnostic and Therapeutic advances in Neurodegenerative diseases)): 14-25.

The Effect of Eight Weeks of Progressive Aerobic Training and Fisetin Supplementation on TGFβ and FGF2 Gene Expression in Aged Mice with Alzheimer's Disease

Jalali Dehkordi A¹, Azamian Jazi A^{1*}, Jalali Dehkordi Kh²

¹Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, ²Department of Sport Physiology, Isfahan(Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Received Date: 30 Aug 2024

Accepted Date: 29 Sep 2024

Abstract

Background & aim: TGFβ and FGF2 are important molecular markers for cerebral angiogenesis, which are significantly reduced in Alzheimer's disease (AD) in brain tissue and may be affected by exercise training. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of eight weeks of progressive aerobic training and fisetin supplementation on TGFβ and FGF2 gene expression in aged mice with AD.

Methods: In the present experimental study conducted in 2023, thirty healthy elderly male C57BL/6 mice with Alzheimer's disease (AD) were equally divided into five groups, including: healthy control, Alzheimer's (AD), AD + Fisetin, AD + Aerobic Training (AT), and AD + AT + Fisetin. Rats of AD groups developed AD by injecting amyloid beta (Aβ1-42) into the hippocampus. Aerobic training protocol started five days a week for eight weeks with zero slope and a speed of 10 meters per minute for 30 minutes and reached 27 meters per minute for 40 minutes in the eighth week. A fisetin supplement, with a concentration of 20 mg/kg, was used for eight weeks. Data analysis was performed using a one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test ($P \geq 0.05$).

Results: The changes in the expression of TGF-β and FGF2 genes in the brain tissue of aged mice were significantly different among the five groups ($P < 0.01$), and also based on the results of the post hoc test, their expression in the AD groups decreased significantly ($P < 0.01$) compared to the healthy control group. Also, their expression increased significantly in AD + exercise + fisetin, AD + exercise, and AD + fisetin groups compared to AD group ($P < 0.01$). In addition, their expression in the AD + exercise + fisetin group was significantly higher than the AD + exercise and also their expression was significantly higher in the AD + exercise group than in the AD + fisetin group ($P < 0.01$).

Conclusion: It seems that the combination of progressive aerobic training and fisetin supplement, or each of them alone, can help to increase cerebral angiogenesis in patients with Alzheimer's disease, maybe through increasing the expression of TGFβ and FGF2. Of course, the combination of fisetin and aerobic training has a more significant effect than aerobic training and supplementation alone, and aerobic training is more effective than taking fisetin alone. Therefore, the combination of progressive aerobic training and fisetin is recommended as the most effective complementary treatment method for this disease.

Keywords: Exercise, Angiogenesis, Dietary Supplements, Alzheimer Disease

***Corresponding Author:** Azamian Jazi A, Department of Sport Physiology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Email: azamianakbar@yahoo.com

Please cite this article as follows: Jalali Dehkordi A, Azamian Jazi A, Jalali Dehkordi Kh. The Effect of Eight Weeks of Progressive Aerobic Training and Fisetin Supplementation on TGFβ and FGF2 Gene Expression in Aged Mice with Alzheimer's Disease. Armaghane-danesh 2025; 30(2):136- 149.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal