



اثرات طولانی مدت (سه ماه) ورزش هوازی تردمیل و عصاره رزماری (۱۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن) بر نورودژنراسیون هیپوکامپ در موش صحرایی 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

شیمیا 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

کلیدواژه‌ها

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

زمینه و هدف: پیری، پدیده‌ای است که با توالی تغییرات وابسته به زمان، باعث نورودژنراسیون و کاهش عملکرد فیزیولوژیکی مغز می‌گردد. استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های موثر در نورودژنراسیون و فرایند پیری سیستم عصبی است. از آنجاکه اثرات آنتی‌اکسیداتی 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 توأم 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 گاوآژ 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 هیپوکامپ رنگ شده با نیسل افزایش معنی‌داری در موش‌های گروه‌های ورزش و ورزش-رزماری ($p < 0.001$) و رزماری ($p < 0.05$) 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 ($p < 0.001$) 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 توأم 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

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 به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



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](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

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 می شد. تلاش گردید شرایط نگهداری و کار با حیوانات بر اساس توصیه های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (National Institutes of Health-NIH) انجام گیرد.

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

۱. گروه دست نخورده پیر (Intact Old-IO): که هیچ کاری روی آن ها انجام نشد.
۲. گروه حامل پیر (Vehicle Old-VO): که روزانه به مدت ۱۲ هفته آب مقطر گاوژ شده و روزی ۱۰ دقیقه در تردمیل خاموش قرار داده شدند.
۳. گروه ورزش پیر (Exercise Old-EO): که به آن ها طبق پروتکل ورزشی به مدت ۱۲ هفته تمرینات ورزشی با تردمیل مخصوص جوندگان داده شد. لازم به ذکر است که موش ها 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 میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی - الکی رزماری (containing 40% carnosic acid, evaluated by HPLC, Batch Number: CAP40-111002, China) را به صورت گاوژ دریافت نمودند.

۵. گروه ورزش - رزماری پیر (Exercise - Rosemary Old-ERO): که همزمان تمرینات ورزشی و گاوژ عصاره را دریافت نموده اند (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 میلی گرم بر کیلوگرم و گزیزیلین ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم دچار بیهوشی عمیق شدند و با تزریق محلول فیکساتیو پارافرمالدئید ۴٪ حل شده در بافر فسفات

در حال حاضر، کشور ایران مرحله انتقال ساختاری سنی جمعیت، از جوانی به سالخوردگی را تجربه می نماید. طبق آمارهای رسمی کشور، رشد جمعیت سالمندان ایران تا ۲۰ سال دیگر به ۱۳ میلیون نفر خواهد رسید (۱). در حال حاضر، فرضیه رادیکال های آزاد و متعاقب آن استرس اکسیداتیو به عنوان عامل پیش برنده فرایند اضمحلال (دژنراسیون) سلولی در پیری مورد توجه می باشد (۲). یکی از گیاهان حاوی مواد آنتی اکسیدانت که از زمان های 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 می باشند (۳). کارنوسیک اسید یک آنتی اکسیدان چربی دوست است که به علت داشتن دو عامل OH روی کربن شماره ۱۱ و ۱۲ خود قدرت حذف رادیکال های آزاد را دارد (۴). از طرف دیگر، مطالعات روی انسان و حیوان در دو دهه اخیر نشان می دهد 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 آنزیم های آنتی اکسیدانی که به دنبال فعالیت بدنی رخ می دهد، می دانند (۶).

از آنجاکه در اکثر تحقیقات موجود، اثرات آبی یا کوتاه مدت ورزش را بررسی نموده اند، در این تحقیق اثرات طولانی مدت (سه ماه) تمرینات هوازی ورزش تردمیل و همچنین اثرات همزمان این تمرینات با تجویز عصاره گیاه رزماری (که خاصیت آنتی اکسیدانتی قوی دارد) به صورت مکمل غذایی بر علیه دژنره شدن نورون های ناحیه هیپوکامپ در موش های صحرایی 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

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

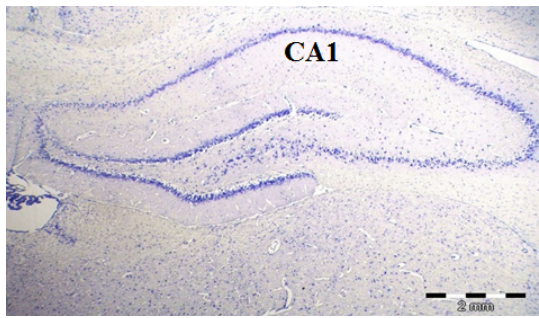
با توجه به روش (Schmued, LC (2000 انجام شد. ابتدا لام‌ها جهت پارافین زدایی در محلول‌های گزین قرار گرفتند. سپس، به ترتیب در محلول هیدروکسید سدیم ۱٪ تهیه شده در الکل ۸۰٪، الکل ۷۰٪، آب مقطر (هر مرحله ۲ دقیقه) و محلول پرمنگنات پتاسیم ۰۰۰۶٪ (۱۰ دقیقه روی صفحه متحرک Rotating platform) قرار گرفتند. پس از شستشو 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 گزین 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 فلورجیدی توسط میکروسکوپ OLYMPUS, AX70 با بزرگ‌نمایی ۴۰۰X 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 نوروها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان می‌شود. جهت آنالیز آماری برای شمارش نوروهای 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

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 دیپارافینه شدن توسط گزین و الکل‌های نزولی طی شد و پس از شستشو با آب مقطر، لام‌ها توسط محلول رنگ (Cresyl violet acetate 0.1% C1791-5g; Sigma, Germany) پس از شستشوی نمونه‌ها، از محلول‌های الکل صعودی و گزین قبل از چسباندن لامل روی لام استفاده شد. در این بررسی، نوروهای هر می (با هسته واضح و حدود سیتوپلاسمی مشخص) در ناحیه CA1 به صورت گسترش داخلی - 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 فلوروجید بی: فلوروجید یک فلورسین پلی آنیونیک بسیار حساس و به طور ویژه‌ای به نوروهای دژنره متصل می‌شود. مراحل این رنگ‌آمیزی



تصویر ۱- تراکم نورون‌ها در ناحیه CA1 هیپوکامپ.

معنی‌داری در میانگین تعداد نورون‌های دست نخورده بین گروه‌های IO و VO با همه گروه‌های تیماری EO و ERO ($P < 0.001$) و RO ($P < 0.05$) نشان داد (نمودار ۱ و تصاویر ۱ و ۲).

میانگین تعداد نورون‌ها \pm خطای استاندارد مربوط به گروه‌های IO، VO، EO، RO و ERO به ترتیب عبارتند از $61/67 \pm 8/68$ ، $71/25 \pm 6/11$ ، $34/5 \pm 8/17$ ، $40/67 \pm 5/3$ و $38/75 \pm 4/57$.

مقایسه بین حیوانات گروه‌های پیر، اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های IO و VO با گروه‌های تیمار EO، RO و ERO نشان داد ($P < 0.001$)، (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).

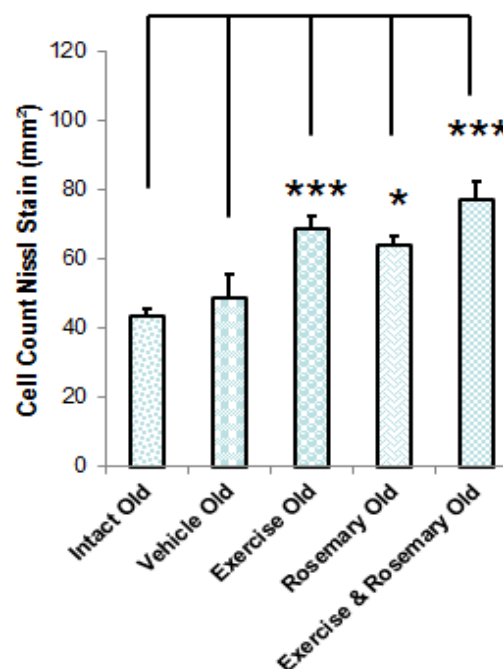
یک مطالعه تجربی نشان داد که عصاره رزماری می‌تواند اثرات سمی اسید کاینیک را در هیپوکامپ موش‌های صحرایی بهبود بخشد (۱۱). پوساداس و همکارانش در سال ۲۰۰۹ گزارش دادند که مصرف عصاره رزماری باعث کاهش فعالیت کاتالاز، پراکسیداسیون لیپیدها و سطح گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species-ROS) در مغز موش‌های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

H و برای Post hoc از Tukey's test استفاده شد. در تمامی محاسبات، اختلاف $P < 0.05$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار منظور گردید.

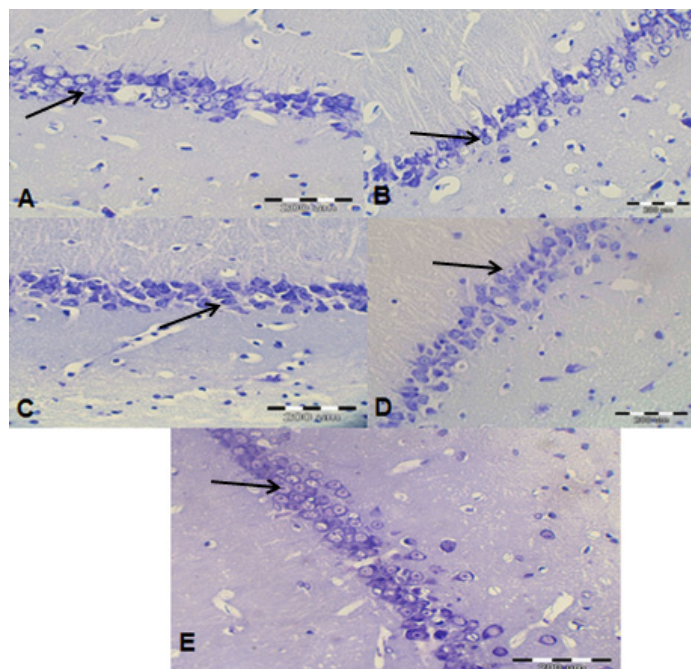
مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی بوده است که تمام مراقبت‌های حیوانی و روش‌های آزمایشگاهی مطابق با کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران (با کد اخلاق IR.IUMS.REC.1394.1074) رعایت گردید و در گروه علوم تشریحی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است.

یافته‌ها

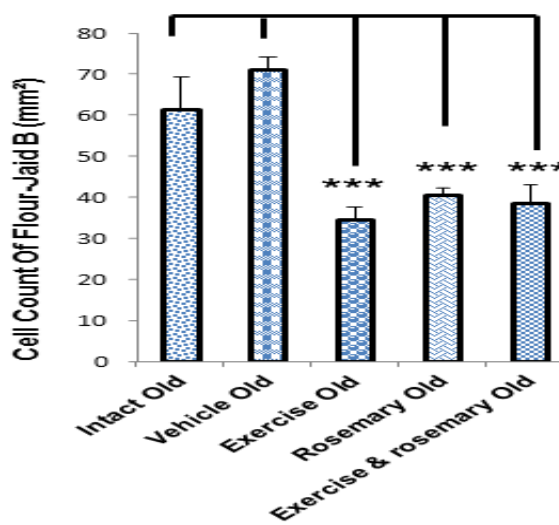
شمارش نورون‌های دست نخورده ناحیه CA1 هیپوکامپ با رنگ‌آمیزی کریزل ویوله (نیسل): میانگین تعداد نورون‌ها \pm خطای استاندارد (Mean \pm SEM) مربوط به گروه‌های IO، VO، EO، RO و ERO به ترتیب عبارتند از $61/67 \pm 8/68$ ، $71/25 \pm 6/11$ ، $34/5 \pm 8/17$ ، $40/67 \pm 5/3$ و $38/75 \pm 4/57$. نتایج، اختلاف



نمودار ۱- شمارش سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ ($P < 0.001$) مقایسه حیوانات پیر گروه‌های Intact Old، Vehicle Old با گروه‌های تیمار Exercise Old، Exercise-Rosemary Old و Rosemary Old ($P < 0.05$). مقایسه حیوانات پیر گروه‌های Intact Old، Vehicle Old با گروه Extract Old. مقادیر برحسب میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.



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



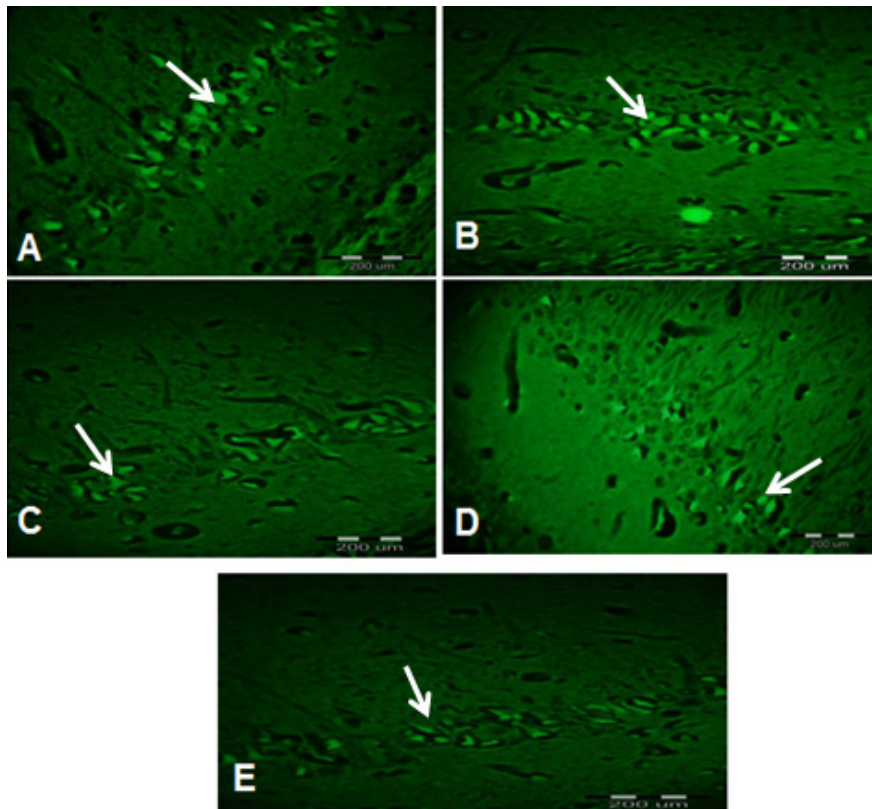
نمودار ۲- شمارش سلول‌های دزتره در ناحیه CA1 هیپوکامپ. $P < 0.001$ اختلاف معنی دار بین گروه‌های Intact Old و Vehicle Old با همه گروه‌های تیمار Exercise Old، Rosemary Old، Exercise-Rosemary Old و Exercise & rosemary Old. مقادیر برحسب میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.

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

۱۴۷

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- α که نقش مهمی در متابولیسم گونه‌های اکسیژن



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

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- مغزی) 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

صحرایی نر 3 تا 5 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 توأم) 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

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):1094-102.

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 oxidizants 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, Nikbakht 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.

باعث خون رسانی بهتر و در نتیجه فراهم شدن اکسیژن و مواد غذایی بیشتر به مغز می‌شوند (۲۷). همچنین پیشنهاد می‌شود که اثرات سودمند دویدن در نتیجه بازگرداندن کاهش مسیر سیگنالینگ فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز (Brain-Derived Neurotrophic Factor- BDNF) می‌باشد. BDNF عضوی از خانواده نوروتروفیک‌ها است، که نقش مهمی در بقا و تمایز 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 که با عصاره، ورزش و عصاره-ورزش تیمار شدند، دژنراسیون نورونی کمتری در اثر پیری نسبت به گروه‌های کنترل رخ داد و این مسئله باعث حفظ تراکم نورونی در گروه‌های تیمار شد.

بنابراین، شواهد نشان می‌دهند که انجام ورزش منظم هوازی و استفاده از عصاره رزماری در طولانی‌مدت می‌تواند تأثیرات مثبتی در جلوگیری از صدمات سلولی در هیپوکامپ موش‌های پیر نشان دهد. تحلیل داده‌ها نشان می‌دهند که ورزش هوازی منظم طولانی‌مدت اثر حفاظتی قوی‌تری (در حفظ تراکم سلولی) نسبت به عصاره رزماری داشته است.

تقدیر و تشکر

بودجه طرح تحقیقاتی با شماره 1047-P مورد حمایت دانشگاه علوم پزشکی ایران بوده است. ملاحظات اخلاقی: کلیه نتایج، داده‌ها و تصاویر که در این مقاله آورده شده‌اند، اصل بوده و توسط نویسندگان تهیه شده است و نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافی با 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.)

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.