



Effect of voluntary exercise in enriched environment on AGEs expression, amyloid beta accumulation, and rate of death cell in hippocampus Wistar rats with type III diabetes

Shiva Khoramshahi¹, Mohammad Reza Kordi^{2*}, Fatemeh Shabkhiz², Abbas Ali Gaeini²

1. Ph.D in Exercise Physiology, Faculty of Sport Science and Health, University of Tehran, Tehran, Iran.

2. Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Aim: Alzheimer's is a neuroendocrine disease related to insulin signaling, due to the association of Alzheimer's disease with the reduction of insulin production and resistance, the term type III or cerebral diabetes has become popular in this regard. Accumulation of Advanced glycation end products (AGEs) is associated with aging, inflammation, and neurodegenerative diseases. AGEs increase the accumulation of amyloid oligomers in the brain causing neurotoxicity. The beneficial effect of physical activity on the brain has been established, but the effect of voluntary exercise in an enriched environment had been less investigated. Therefore, the aim of this study was to identify the effect of eight weeks of voluntary exercise in an enriched environment on the expression of AGEs protein, amyloid beta, and cell death rate in the hippocampal tissue of male Wistar rats with type III diabetes. **Materials and Methods:** Twenty 10-week-old male rats were randomly divided into four groups including healthy control, sham, type III diabetes, and type III diabetes + voluntary exercise in an enriched environment. The intervention group trained in the cage two hours a day for eight weeks. To analyze the data, one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used at a significance level of $p \leq 0.05$. **Results:** Voluntary exercise in the enriched environment caused a significant decrease in AGEs protein expression and amyloid beta accumulation in the hippocampus ($p=0.0001$). Also, the rate of cell death in the voluntary exercise group was significantly reduced compared to the control of diabetes type III ($p=0.0001$). **Conclusion:** It seems that the activity in the enriched environment probably changes of AGEs and amyloid beta by improving insulin resistance and increasing insulin production, and has favorable effects in reducing the signs of dead cells and improving cognitive function in type III diabetes.

Keywords: Type III diabetes, Voluntary exercise in an enriched environment, Advanced glycation end products, Amyloid beta, Death cell.

Cite this article:

Khoramshahi, S., Kordi, M.R., Shabkhiz, F., & Gaeini, A.A. (2024). Effect of voluntary exercise in enriched environment on AGEs expression, amyloid beta accumulation, and rate of death cell in hippocampus Wistar rats with type III diabetes. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 12(29), 22-35.

* Corresponding Author, Address: Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, North Amirabad, Tehran, Iran;

Email: mrkordi@ut.ac.ir

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.6048.1761>





تأثیر هشت هفته تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده بر بیان پروتئین AGES، تجمع آمیلوئید بتا و میزان مرگ سلولی در هیپوکمپ رت های نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع III

شیوا خرم شاهی^۱، محمدرضا کردی^{۲*}، فاطمه شب خیز^۲، عباسعلی گائینی^۲

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، ایران.

۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آلزایمر یک بیماری نورواندوکرینی مرتبط با پیام رسانی انسولین است و به دلیل ارتباط این بیماری با مقاومت به انسولین، اصطلاح دیابت نوع III یا مغزی رایج شده است. تجمع محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته (AGES) با پیری، التهاب و بیماری های تخریب عصبی در ارتباط است و AGES، تجمع الیگومر آمیلوئید را در مغز و مسمومیت عصبی را باعث می شود. تاثیر فعالیت های بدنی بر بهبود فعالیت مغز مشخص شده، اما اثر تمرینات اختیاری در محیط غنی سازی شده، کم تر بررسی گردیده است. هدف از پژوهش حاضر، تاثیر هشت هفته تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده بر بیان AGES، آمیلوئید بتا و میزان مرگ سلولی در هیپوکمپ رت های نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع III بود. **روش تحقیق:** تعداد ۲۰ سر رت نر ۱۰ هفته ای، به شکل تصادفی به چهار گروه شامل کنترل سالم، شم، کنترل دیابت نوع III و دیابت نوع III+ تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده؛ تقسیم شدند. گروه مداخله، دو ساعت در روز به مدت هشت هفته به تمرین در قفس پرداختند. برای تحلیل داده ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $p \leq 0/05$ بهره برداری گردید. **یافته ها:** تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده باعث کاهش معنی دار بیان AGES و تجمع آمیلوئید بتا در هیپوکمپ شد ($p=0/0001$) و نرخ مرگ سلولی را در مقایسه با گروه کنترل دیابت نوع III، کاهش ($p=0/0001$) داد. **نتیجه گیری:** به نظر می رسد تمرین در محیط غنی شده، AGES و آمیلوئید بتا را از طریق بهبود مقاومت به انسولین و افزایش تولید انسولین، تغییر می دهد و اثرات مطلوبی بر کاهش میزان مرگ سلولی و بهبود عملکرد شناختی در دیابت نوع III دارد.

واژه های کلیدی: دیابت نوع III، تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده، محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته، آمیلوئید بتا، مرگ سلولی.

مقدمه

بنا بر گزارش جهانی، هر سه ثانیه یک فرد در جهان به زوال عقل^۱ مبتلا می شود (گلد و بدسون^۲، ۲۰۰۸). بالا رفتن سن و رسیدن به دوره سالمندی، به موضوعی نگران کننده در جهان تبدیل شده است، زیرا که جمعیت جهان روز به روز در حال پیرتر شدن است؛ روندی که مشکلات و بیماری های زیادی را گریبانگیر جوامع بشری خواهد کرد (کپلان^۳ و دیگران، ۲۰۱۷). پیش بینی می شود که تعداد افراد مسن در جهان تا سال ۲۰۵۰، دو برابر شود و به حدود ۲/۱ میلیارد نفر برسد (چانگ^۴ و دیگران، ۲۰۱۹). پیری می تواند به عنوان یک عامل خطر، ابتلا به بیماری های قلبی - عروقی، دیابت و آلزایمر را افزایش دهد (کالیسایا و نوکاسا^۵، ۲۰۱۷). از طرفی، بیماری آلزایمر شایعترین علت زوال عقل در میان افراد مسن است و از این رو، این بیماری یک بیماری تحلیل رونده مغزی است که به تدریج با اختلال در عملکرد سیناپس ها و تجمع پروتئین های نامحلول و سمی، به نام پپتیدهای آمیلوئید بتا^۶ (A β) در مغز و مایع مغزی نخاعی، آسیب به فعالیت های سیناپسی و مرگ نورونی؛ همراه است که به ویژه، به سلول های ناحیه هیپوکمپ آسیب می زند. به علاوه، این بیماری منجر به ضعف شدن بدن، تحلیل رفتن عضلات، کاهش حجم مغز، و از دست دادن حافظه و ایجاد فراموشی می شود؛ بدین ترتیب، به مرور فرد ناتوان می شود و زندگی اش پایان می یابد (چن و مبلی^۷، ۲۰۱۹؛ تدوروا و بلاکلند^۸، ۲۰۱۷). ناهنجاری های شناسایی شده در مغز و هیپوکمپ بیماران مبتلا به آلزایمر و ناهنجاری های مشابه شناسایی شده در بیماران دیابت، دال بر رابطه مهم میان دیابت و آلزایمر است (پوگاژنتی^۹ و دیگران، ۲۰۱۷). مشخص شده است که آلزایمر نوعی بیماری نورواندوکرینی^{۱۰} مرتبط با پیام رسانی انسولین مغزی است و سازوکارهای سلولی - مولکولی مشترکی بین این بیماری و دیابت وجود دارد. از این رو و به دلیل آن که مغز بیماران آلزایمری با کاهش تولید و مقاومت به انسولین و در ادامه، با نقص یا کاهش حافظه و عوامل شناختی همراه است؛

از سال ۲۰۰۵ اصطلاح دیابت نوع III برای بیماری آلزایمر مطرح شده است (کاندیمالا^{۱۱} و دیگران، ۲۰۱۷). آسیب شناسی دقیق بیماری آلزایمر مبهم است، با این حال رسوب پلاک های A β جزئی از عوامل اصلی آن به شمار می روند (سلکو و هاردی^{۱۲}، ۲۰۱۶). محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته^{۱۳} (AGEs) عناصری از متابولیسم طبیعی هستند که در دامنه گسترده ای از بیماری ها و در دوران پیری تجمع می یابند. مقاومت به انسولین، اختلال در مسیرهای پیام رسانی انسولین، تخریب گیرنده های انسولین و در نهایت، هایپرگلیسمی ایجاد شده در مغز بیماران آلزایمری، می تواند باعث تجمع AGEs و منجر به تولید گونه های فعال اکسیژن^{۱۴} (ROS) و آسیب سلولی شود (درنس^{۱۵} و دیگران، ۲۰۱۷). عوامل AGEs، تجمع الیگومر آمیلوئید را افزایش می دهند و باعث سمیت عصبی بیماری آلزایمر می شوند (کاندیمالا و دیگران، ۲۰۱۷). این پروتئین شکل گیری اشکال جمع آوری شده از A β و تائو^{۱۶} را افزایش داده و آن را پایدار می کند. این تغییرات منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو شده و در نهایت، اختلال در عملکرد عصبی و مرگ سلولی را موجب می شود. بنابراین، اندازه گیری AGEs سمی در سرم یا مایع مغزی - نخاعی، یک نشانگر بالقوه برای تشخیص زود هنگام آلزایمر، سندروم متابولیک، مقاومت به انسولین و دیابت در نظر گرفته می شود (لی^{۱۷} و دیگران، ۲۰۱۲).

بر اساس نتایج پژوهش ها، فعالیت ورزشی منظم در پیشگیری از مسیرهای تخریبی و التهاب عصبی، به خصوص در هیپوکمپ، مفید است. همچنین مشخص شده است که فعالیت ورزشی منظم آثار اثبات شده ای بر بهبود عملکرد شناختی، افزایش بیان عوامل رشد مغز و عصب زایی، انعطاف پذیری سیناپسی، کاهش استرس اکسیداتیو و به تعویق افتادن مسیر بیماری های عصبی دارد؛ ضمن آن که به طور بالقوه، باعث کندتر شدن سرعت پیشرفت بیماری آلزایمر می شود (وس^{۱۸} و دیگران، ۲۰۱۰؛ آدلارد^{۱۹} و دیگران، ۲۰۰۵). در پژوهشی نادری و دیگران (۲۰۱۸) نشان داده اند که شش هفته تمرین پر شدت اجباری در رت های

1. Demence

2. Gold & Budson

3. Kaplan

4. Chang

5. Callisaya & Nosaka

6. Amyloid beta

7. Chen & Mobley

8. Todorova & Blokland

9. Pugazhenti

10. Neuroendocrine

11. Kandimalla

12. Selkoe & Hardy

13. Advance glycation end products

14. Reactive oxygen species

15. Drenth

16. Tau

17. Li

18. Voss

19. Adlard

اخلاق با شناسه IR.UT.SPORT.REC.1399.007 از دانشگاه تهران اخذ گردید. رت ها در آزمایشگاه حیوانات در شرایط کنترل شده نور، دما (23 ± 2 درجه سانتی گراد)، و رطوبت (45 ± 5 درصد) و در قفس هایی استاندارد (با ابعاد 27×43 سانتی متر مکعب) نگه داری شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. پیش از شروع پژوهش، سه سر رت به صورت پایلوت جهت بررسی میزان فعالیت شان، به مدت یک هفته در قفس محیط غنی حرکتی مورد بررسی قرار گرفتند. سپس رت ها (با میانگین سنی ۱۰ هفته) به شکل تصادفی ساده به چهار گروه پنج تایی شامل (۱) گروه کنترل سالم که در هیچ فعالیتی شرکت نداشتند؛ (۲) گروه شم که عمل جراحی با تزریق سالین روی آن ها صورت گرفت و در هیچ فعالیتی شرکت نکردند؛ (۳) گروه کنترل دیابت نوع III که تزریق STZ درون بطنی مغز^۶ (ICV-STZ) را تجربه کردند و هیچ فعالیتی نداشتند؛ (۴) گروه تمرین اختیاری با تزریق ICV-STZ در قفس محیط غنی با فعالیت اختیاری؛ تقسیم شدند.

نحوه تزریق STZ داخل مغز (ICV-STZ): رت ها پس از هفت روز نگهداری در محیط آزمایشگاه و سازگاری با محیط، بعد از یک استراحت شبانه روزی، با تزریق کتامین^۷ و زایلازین^۸ (نسبت شش به ۶۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شده و پوست بالای جمجمه آن ها برداشته شد. با استفاده از دستگاه استریوتاکسی و اطلس پکسینوس^۹ (قدامی خلفی 0.9 میلی متر، جانبی پنج میلی متر و پشت بطنی $3/2$ میلی متر)؛ مختصات مربوط به بطن های جانبی اندازه گیری شد. با ایجاد سوراخی در جمجمه، یک تزریق به داخل هر بطن جانبی صورت گرفت و پس از آن، STZ در گروه های تمرینی و کنترل دیابت III به میزان سه میلی گرم/کیلوگرم تزریق شد. پس از عمل جراحی در محل بخیه، با سرنگ انسولین به منظور کنترل درد، لیدوکائین^{۱۰} تزریق شد. بعد از گذشت هفت روز از جراحی، تأیید القای مدل دیابت نوع III با آزمون رفتاری ماز آبی موریس^{۱۱} مورد تأیید قرار گرفت (بروملی - بریتس^{۱۲} و دیگران، ۲۰۱۱).

آزایمیری شده، باعث بهبود عوامل شناختی، کاهش تجمع A β و عوامل التهابی در هیپوکامپ می شود. هرینگ^۱ و دیگران (۲۰۰۸) گزارش کرده اند که چهار ماه قرار دادن رت های ترنس ژنیک TgCRND8 در محیط غنی سازی شده (چرخ دوار، توپ، تونل، نردبان و ...)، گیرنده AGE (RAGE)^۲ که جریان رو به داخل A β از میان سد خونی - مغزی را موجب می شود؛ تنظیم (منفی) می کند. این حالت پاکسازی A β مغزی به خون را تسهیل می نماید. در پژوهش دیگری توسط ناکانو^۳ و دیگران (۲۰۱۸) نشان داده شده که محیط غنی سازی شده، از اختلالات شناختی ناشی از دیابت در رت های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین^۴ (STZ) جلوگیری می کند. تزریق داخل بطنی STZ در هیپوکامپ رت ها، منجر به ایجاد حالت کمبود انسولین (به دلیل کاهش بیان ژن انسولین) و مقاومت به انسولین (به دلیل کاهش بیان گیرنده آن)، و کاهش میل ترکیبی آن می شود. این عوامل در نهایت باعث اختلال در عملکرد شناختی، التهاب عصبی، افزایش استرس اکسیداتیو، مرگ سلولی و از دست رفتن نورون ها در مغز می شوند (دلانته^۵، ۲۰۱۹).

با توجه به بررسی های انجام شده و بر اساس دانش ما، در پژوهش های موجود، کمتر به بررسی اثر قرارگیری کوتاه مدت در محیط غنی سازی شده، بر تجمع A β ، AGEs و میزان مرگ سلولی در هیپوکامپ رت های نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع III پرداخته شده است. لذا پژوهش حاضر با هدف مطالعه تاثیر هشت هفته تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده بر بیان پروتئین AGE، تجمع آمیلوئید بتا و میزان مرگ سلولی در هیپوکامپ رت های نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع III به اجرا در آمد.

روش تحقیق

پژوهش حاضر به شکل تجربی به اجرا درآمد. مطالعه بر روی ۲۰ سر رت نژاد ویستار تهیه شده از مؤسسه تحقیقات پاستور با میانگین وزنی 220 ± 30 گرم و میانگین سنی هشت هفته صورت گرفت. تمام اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران رعایت شد و برای مطالعه کد

1. Herring
2. Receptor for advanced glycation end products
3. Nakano
4. Streptozotocin
5. de la Monte

6. Intracerebroventricular Streptozotocin injections
7. Ketamine
8. Xylazine
9. Paxinos

10. Lidocaine
11. Morris water maze
12. Bromley-Brits

پروسه بافتی و قالب‌گیری: پس از جدا کردن، نمونه‌ها به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در محلول فرمالین^۱ ۱۰ درصد (به منظور نگهداری سلول‌ها و بافت‌های بدن در حالت مشابه و نزدیک به حالت زنده) قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها توسط الکل اتیلیک^۲ آب‌گیری شدند. پس از آب‌گیری، نمونه‌ها در زایلول قرار گرفتند تا بتوان از پارافین برای سخت شدن و آماده‌سازی بافت‌ها برای قالب‌گیری و برش بافتی استفاده کرد.

نحوه سنجش Aβ به روش رنگ آمیزی تیوفلاوین^۳: ابتدا لام‌ها را دپارافینه کرده و مراحل آب‌دهی انجام شد. سپس به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه، محلول تیوفلاوین یک درصد (شرکت T1892-Sigma) در تاریکی بر روی لام‌ها ریخته شد. سپس لام‌ها با اتانول ۸۰ درصد برای دو مرتبه و هر مرتبه سه دقیقه، شستشو داده شده و به مدت سه دقیقه در اتانول ۹۵ درصد قرار داده شدند. پس از آن، نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شد و محلول گلیسرول^۴ و بافر فسفات سالین^۵ (PBS) بر روی نمونه‌ها ریخته شد و لامل به منظور عکس برداری فلورسنت^۶ با میکروسکوپ Olympus بر روی لام قرار داده شد (بارتون^۷ و دیگران، ۲۰۲۱).

پروتکل تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده: ابتدا به منظور یافتن میزان و زمان فعالیت مناسب در محیط غنی سازی شده، پیلوت یک هفته‌ای انجام شد. پروتکل تمرینی رت در محیط غنی سازی شده، پنج روز در هفته به میزان دو ساعت در روز (از ساعت ۱۰ الی ۱۲) به مدت هشت هفته اجرا گردید. این محیط همانند محیط‌های ورزش، شامل انواع محرک‌های تمرینات مقاومتی، تعادلی و هوازی طراحی گردید و نردبان افقی و عمودی، نوارگردان، لوله، انواع توپ‌ها، طناب، مکعب‌های رنگی، سرسره و سایر ادوات را در برداشت. اندازه قفس طراحی شده به صورت مکعب مربع با طول و عرض یک متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر بود؛ به گونه‌ای که حیوانات از دیواره‌های آن برای پیمایش‌های عمودی استفاده کنند. تمامی شرایط محیط و قفس محیط غنی سازی شده بر اساس استاندارد تعیین شده برای حمایت از حیوانات مهره‌دار با اهداف آزمایشگاهی در نظر گرفته شد (هرینگ و دیگران، ۲۰۰۸). شکل یک ویژگی‌های قفس محیط غنی را نشان می‌دهد.

آزمون رفتاری ماز آبی موریس: طبق آزمون موریس، ابتدا حیوان را در یک مخزن آب فلزی با دیواره سیاه به ارتفاع ۵۰ تا ۶۰ سانتی‌متر و قطر ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متر که تا ارتفاع ۲۵ تا ۳۰ سانتی‌متری از آبی با دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد پر شده؛ قرار دادیم. حیوان با استفاده از علائم بینایی و نشانه‌هایی که در فضای بیرونی ماز قرار

نحوه سنجش Aβ به روش رنگ آمیزی تیوفلاوین^۳: ابتدا لام‌ها را دپارافینه کرده و مراحل آب‌دهی انجام شد. سپس به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه، محلول تیوفلاوین یک درصد (شرکت T1892-Sigma) در تاریکی بر روی لام‌ها ریخته شد. سپس لام‌ها با اتانول ۸۰ درصد برای دو مرتبه و هر مرتبه سه دقیقه، شستشو داده شده و به مدت سه دقیقه در اتانول ۹۵ درصد قرار داده شدند. پس از آن، نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شد و محلول گلیسرول^۴ و بافر فسفات سالین^۵ (PBS) بر روی نمونه‌ها ریخته شد و لامل به منظور عکس برداری فلورسنت^۶ با میکروسکوپ Olympus بر روی لام قرار داده شد (بارتون^۷ و دیگران، ۲۰۲۱).

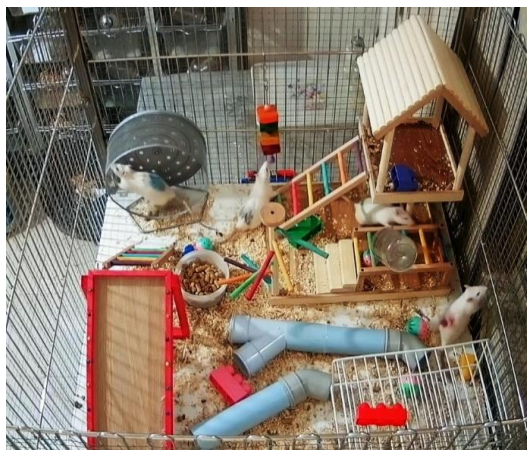
نحوه سنجش نرخ مرگ سلولی به روش رنگ آمیزی کریستال ویولت^۸: ابتدا لام‌ها را دپارافینه کرده و مراحل آب‌دهی انجام شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول یک درصد کریستال ویولت در دمای ۳۷ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس با آب مقطر شستشو داده شدند و به مدت دو تا سه دقیقه، در الکل ۹۵ درصد قرار گرفتند. در ادامه، لام‌ها در آب شستشو داده شدند و پس از خشک شدن، لامل روی نمونه چسبانده شد و با میکروسکوپ نوری LABOMED، عکس برداری صورت گرفت.

نحوه سنجش AGEs به روش ایمونوهیستوشیمیایی DAB^۹: ابتدا نمونه‌ها با PBS شست و شو داده شد. پس از ریختن آنتی‌بادی اولیه رقیق شده (یک به ۱۰۰) روی نمونه‌ها، حدود ۶۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها سه مرتبه و هر بار به مدت پنج دقیقه، با PBS شست و شو داده شدند. ۱۰۰ لاندا از Linker (Di-

1. Formalin
2. Acohol ethylic
3. Thioflavin
4. Glycerol

5. Phosphate buffered saline
6. Fluorescent
7. Barton
8. Crystal violet

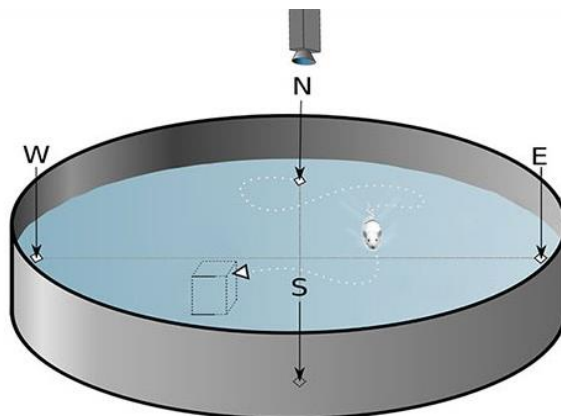
9. Immunohistochemistry DAB
10. Hematoxylin



شکل ۱. شمایی از تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده

شنا می کرد تا سکوی پنهان زیر آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد. اگر موش قادر به پیدا کردن سکو در مدت ۶۰ ثانیه نبود، با دست به طرف آن هدایت می شد. در صورتی حیوان نمی توانست سکو را پیدا کند، به مدت ۳۰ ثانیه روی سکو قرار می گرفت و استراحت می کرد و مجدداً آزمایش تکرار می شد. مدت زمان پیدا کردن سکو و ثبت می شد. مرحله سوم آزمون انتقال: ۲۴ ساعت بعد از آخرین روز آموزش، حافظه فضایی حیوانات مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مرحله رت ها فقط یک بار در یک آزمون ۶۰ ثانیه ای که طی آن سکو از داخل آب برداشته می شد، مورد ارزیابی قرار گرفتند و مدت زمان صرف شده و مسافت طی شده در ربع دایره هدف (NE zone) که قبل از سکو در آن قرار داشت، اندازه گیری شد (ورس و ویلیام، ۲۰۰۶).

داشت، مکان سکوی مخفی در زیر آب را به یاد می آورد. حوضچه آب به چهار ربع فرضی تقسیم شد و در فاصله یک تا پنج سانتی متری زیر سطح آب، در وسط یکی از ربع ها؛ یک سکوی فلزی تیره با قطر ۱۰ تا ۱۱ سانتی متر قرار داشت (شکل دو). این سکو به منزله راه فرار حیوان از آب بود و برای حیوان قابل مشاهده نبود. این آزمون در سه مرحله انجام شد. مرحله اول سازش یافتن: به منظور عادت کردن به ماز، ۲۴ ساعت قبل از آموزش، رت ها به مدت دو دقیقه در مخزن فاقد صفحه پلکسی گلاس، شنا کردند. مرحله دوم یادگیری: در این مرحله، رت ها به مدت پنج روز و هر روز در چهار نوبت آزمایش جداگانه، هر بار به مدت یک دقیقه جهت یافتن سکوی پنهان که در وسط ربع سوم شمال شرقی قرار داشت، تحت آموزش قرار گرفتند. بدین شکل که حیوان به طور تصادفی از یکی از چهار جهت اصلی به نحوی داخل آب رها شد که سر حیوان به سمت دیواره حوضچه قرار داشته باشد. حیوان



شکل ۲. ماز آبی موریس؛ حروف انگلیسی چهار جهت اصلی را نشان می دهد.

نمودارها، از نرم افزار اکسل^۴ ۲۰۱۰ استفاده گردید.

یافته ها

در جدول یک به توصیف و مقایسه (نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه) میزان مرگ سلولی، تجمع پلاک های $\alpha\beta$ و پروتئین AGES طی هشت هفته فعالیت در گروه های مختلف پرداخته شده است. بر این اساس، متغیرهای وابسته بین گروه های مختلف، تفاوت معنی داری دارند.

روش های تجزیه و تحلیل آماری: به منظور توصیف و ارزیابی داده‌ها، از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. برای آزمون فرضیه های تحقیق، از آمار استنباطی استفاده گردید. برای سنجش توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه^۲ و آزمون تعقیبی توکی^۳ در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ بهره برداری گردید. برای کلیه محاسبات آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و به منظور عملیات و رسم

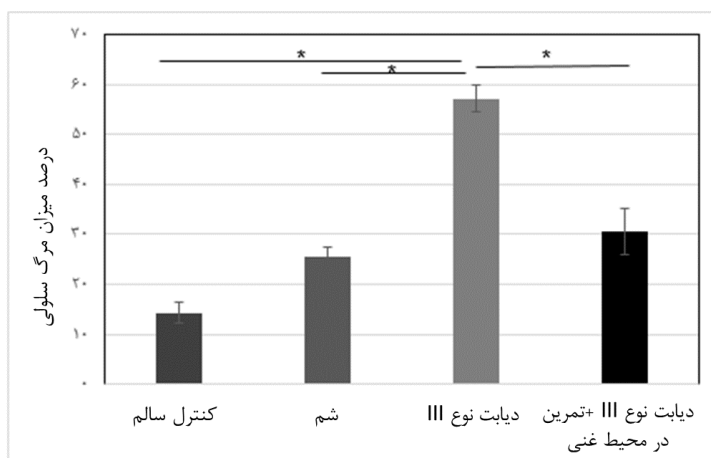
جدول ۱. توصیف (میانگین و انحراف استاندارد) و مقایسه میزان مرگ سلولی، تجمع $\alpha\beta$ و پروتئین AGES در گروه های مختلف

متغیرها	کنترل سالم	شم	کنترل دیابت نوع III	دیابت نوع III + محیط غنی	F	p
میزان مرگ سلولی (%)	۱۴/۳۲±۲/۰۳	۲۵/۳۷±۲/۰۵	۵۷/۱۴±۲/۲۰	۳۰/۵۳±۴/۵۵	۱۰۶/۷۰	۰/۰۰۰۱*
خطای معیار میانگین (Std E)	۱/۱۷	۱/۱۸	۱/۲۷	۲/۶۳	-	-
میانگین تجمع $\alpha\beta$ (%)	۵/۹۶۷±۱/۱۹	۷/۲۶۷±۱/۷۱	۳۷/۱۳±۳/۴۵	۱۳/۸۰±۲/۸۶	۸۷/۰۵	۰/۰۰۰۱*
خطای معیار میانگین (Std E)	۰/۶۸۸	۰/۹۸۷	۱/۹۹۴	۱/۶۵۲	-	-
پروتئین AGES (%)	۹/۴۳۴±۲/۲۰	۱۵/۳۹±۳/۳۰	۵۰/۶۰±۲/۶۲	۳۳/۶۲±۲/۹۴	۱۲۲/۴۰	۰/۰۰۰۱*
خطای معیار میانگین (Std E)	۱/۲۷	۱/۹۰	۱/۵۱	۱/۷۰	-	-

*نشانه وجود تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p \leq 0.05$.

شده، کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دیابت نوع III داشت ($p=0.0001$)، به علاوه، در گروه کنترل ($p=0.0001$) و گروه شم ($p=0.0001$) از گروه دیابت نوع III؛ و در گروه شم از گروه کنترل ($p=0.0001$)؛ به طور معنی دار پایین تر بود. از طرف دیگر، بین گروه شم و تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده، تفاوت معنی داری وجود نداشت ($p < 0.05$).

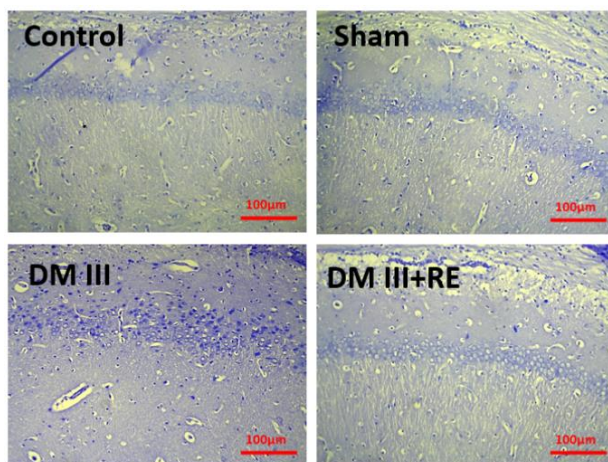
با استفاده از آزمون تعقیبی توکی (شکل های سه، پنج، هفت)، مشخص شد که میزان مرگ سلولی، تجمع پلاک های $\alpha\beta$ و میزان پروتئین AGES در گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده، کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دیابت نوع III دارد (برای هر سه متغیر $p=0.0001$). میزان مرگ سلولی در گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی



شکل ۳. مقایسه درصد میزان مرگ سلولی گروه های مختلف شرکت کننده با گروه دیابت نوع III؛ *نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p \leq 0.05$.

است. این تغییر بین گروه های کنترل و دیابت نوع III، شم و دیابت نوع III، شم و کنترل نیز معنی دار است ($p=0/0001$)؛ در حالی که بین گروه شم و تمرین اختیاری در محیط غنی شده، تفاوت معنی داری وجود ندارد.

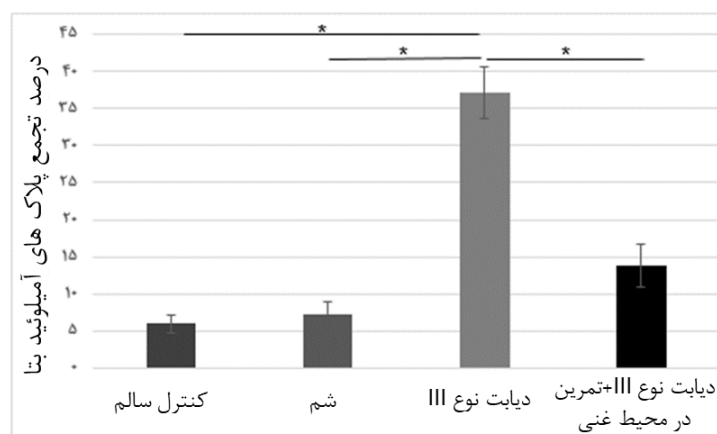
شکل چهار با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی کریستال ویولت مرگ سلولی در هیپوکمپ را در چهار گروه رت ها نشان می دهد. همان طور که در شکل مشاهده می شود، میزان مرگ سلولی در گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده، نسبت به گروه کنترل دیابت نوع III، کاهش یافته



شکل ۴. مقایسه میزان مرگ سلولی با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی کریستال ویولت در بافت هیپوکمپ رت ها؛ رنگ بنفش تیره نشان دهنده مرگ سلولی است.

تغییرات (کاهش) بین گروه های کنترل و دیابت نوع III ($p=0/0001$)، گروه شم و دیابت نوع III ($p=0/0001$)، گروه شم و تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده ($p=0/0001$) نیز معنی دار بود؛ در حالی که بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی داری بدست نیامد ($p<0/05$).

در شکل پنج، درصد تجمع پلاک های $A\beta$ در گروه های مختلف با هم مقایسه شده است. طبق نتایج آزمون تعقیبی توکی (شکل پنج)، تجمع پلاک های $A\beta$ در گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده، کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دیابت نوع III ($p=0/0001$) دارد. این

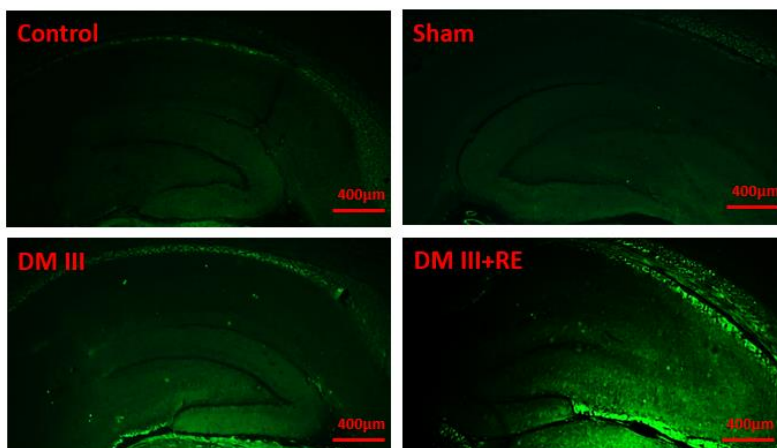


شکل ۵. مقایسه درصد تجمع پلاک های $A\beta$ در گروه های مختلف شرکت کننده؛ *نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p<0/05$.

میزان پلاک های $A\beta$ در گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده نسبت به گروه کنترل دیابت نوع III، کاهش یافته است. این تغییرات بین گروه های کنترل و

شکل شش (با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی تیوفلاوین S) تجمع پلاک های $A\beta$ را در چهار گروه آزمودنی نشان می دهد. همان طور که در شکل مشاهده می شود،

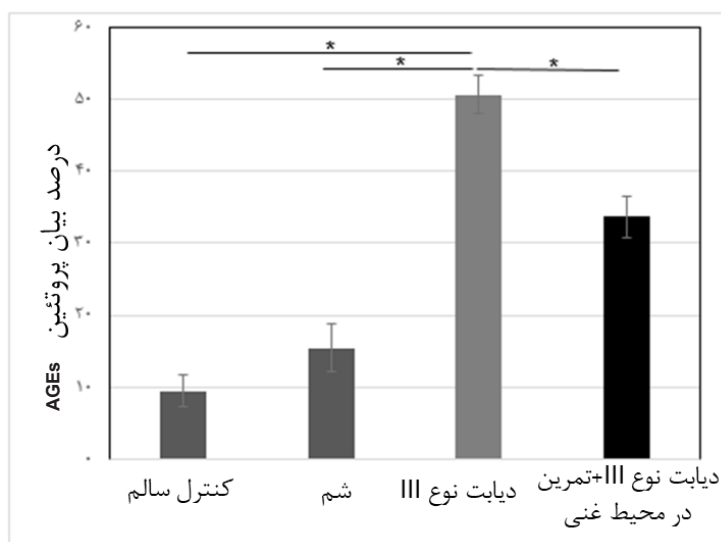
دیابت نوع III، شم و دیابت نوع III، شم و تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده نیز معنی دار بود ($p=0/0001$). از طرف دیگر، بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی داری وجود نداشت.



شکل ۶. تجمع پلاک های Aβ با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی تیوفلاوین در بافت هیپوکامپ گروه های شرکت کننده.

این متغیر در گروه کنترل و گروه شم ($p=0/0001$) به طور معنی دار کمتر از گروه دیابتی نوع III؛ و در گروه شم به طور معنی دار ($p=0/0001$) پایین تر از گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده بود. از طرف دیگر، بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p<0/05$).

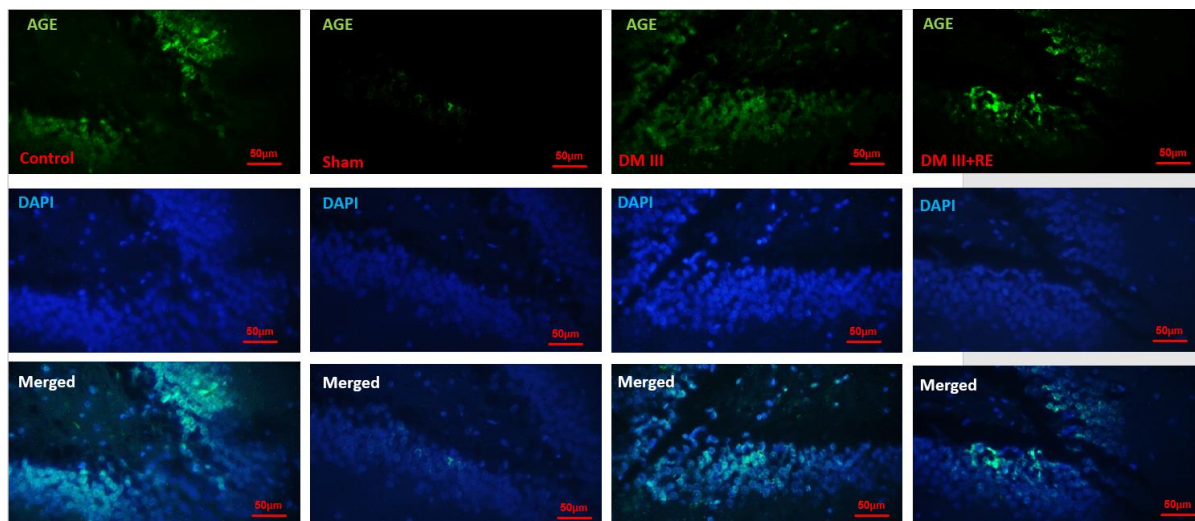
شکل هفت درصد تجمع پروتئین AGEs را در گروه های مختلف نشان می دهد. طبق نتایج آزمون تعقیبی توکی (شکل هفت)، میزان پروتئین AGEs در گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده، کاهش معنی داری ($p=0/0001$) در مقایسه با گروه کنترل دیابت نوع III دارد. ضمن آن که



شکل ۷. مقایسه درصد تجمع پروتئین AGEs بین گروه های مختلف شرکت کننده؛ * نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p<0/05$.

گروه کنترل و دیابت نوع III، گروه شم و دیابت نوع III، گروه شم و تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده؛ به طور معنی دار ($p=0/0001$) کاهش یافته است؛ با این حال، بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی داری وجود ندارد ($p<0/05$).

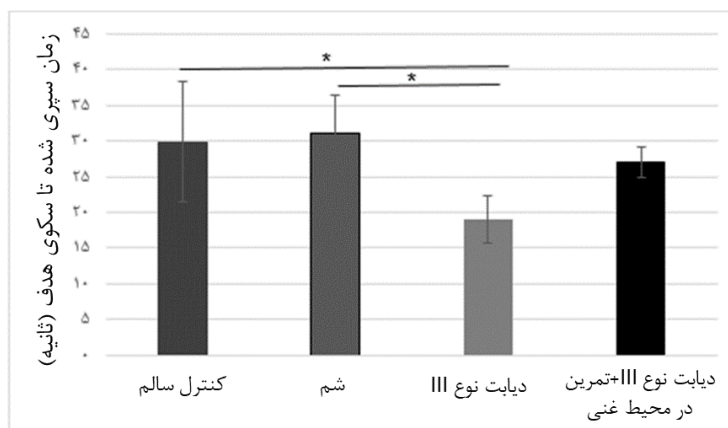
شکل هشت با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی اینوهیستوشیمی، تجمع پروتئین AGEs را در چهار گروه آزمودنی نشان می دهد. همان طور که در شکل مشاهده می شود، تجمع پروتئین AGEs در گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده نسبت به گروه دیابت نوع III،



شکل ۸. تجمع پروتئین AGEs با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی در بافت هیپوکمپ گروه های شرکت کننده

اما این کاهش بین گروه کنترل در مقایسه با گروه شم، گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده در مقایسه با گروه شم، گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده در مقایسه با کنترل، و نهایتاً گروه دیابت نوع III در مقایسه با گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده؛ معنی دار نیست ($p < 0.05$).

شکل نه نتایج مربوط به آزمون تعقیبی توکی در مورد مقایسه رفتار رت ها در ماز آبی موریس (مدت زمان سپری کردن در منطقه سکوی هدف)، نشان می دهد که گروه دیابت نوع III کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دارد ($p = 0.008$)، همچنین گروه دیابت نوع III کاهش معنی داری در مقایسه با گروه شم دارد ($p = 0.008$);



شکل ۹. نتایج مربوط به آزمون ماز آبی موریس؛ * نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p < 0.05$.

متعدد هستند. بخش وسیعی از این پژوهش ها در حوزه علوم پزشکی با هدف درمان دارویی صورت می گیرد که هزینه های زیادی را بر بیماران تحمیل می کند. پژوهش های متعدد علوم ورزشی نیز همگام با پژوهش های ارزشمند حوزه پزشکی بر این باورند که انجام فعالیت بدنی منظم، راهکاری مناسب و موثر در راستای پیشگیری از بیماری ها و جلوگیری از روند گسترش آن هاست و از طرفی، روشی کم هزینه و بی خطر در مقایسه با روش های

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده، تقریباً ۵۰ درصد میزان مرگ سلولی و تجمع $AB\beta$ هیپوکمپ رت های مبتلا به دیابت نوع III را کاهش می دهد. از طرف دیگر، سطوح پروتئین AGEs نیز در گروه تمرین اختیاری در مقایسه با گروه کنترل دیابت نوع III، حدوداً ۴۰ درصد کاهش یافت. پژوهشگران همواره به دنبال یافتن روش های جدید برای درمان بیماری های

به محیطی گفته می‌شود که استانداردهایی زندگی در محیط پویا را همراه با فعالیت‌های داوطلبانه به دور از عوامل استرس‌زا داشته باشد و اخیراً در پژوهش‌های بسیاری به آن اشاره شده است (کلمنسون^۷ و دیگران، ۲۰۱۸). محیط غنی به دلیل کاهش علائم اضطراب، استرس و افسردگی؛ می‌تواند برای عملکرد مغز مفید باشد (سینقال^۸ و دیگران، ۲۰۱۹). با در نظر گرفتن نتایج پژوهش حاضر می‌توان بیان کرد که فعالیت اختیاری در محیط غنی، از طریق تأثیر مطلوب بر مسیرهای پیام‌رسانی $A\beta$ و AGES، کاهش مقاومت به انسولین و بهبود هیپرگلیسمی؛ توانسته آسیب سلولی و مرگ سلولی‌های عصبی را در هیپوکمپ (مرکز حافظه و یادگیری) کاهش دهد. با توجه به این موضوع، می‌توان رسوب پروتئین‌های $A\beta$ و AGES را اصلی‌ترین عوامل پاتولوژیکی مغزی در دیابت نوع III دانست. مطالعات دال بر آن هستند که محیط غنی سازی شده می‌تواند یک روش درمانی جایگزین برای از بین بردن استرس، جلوگیری از آسیب عصبی در قشر حرکتی مغز، و دستیابی به کنترل قند خون مؤثر در دیابت، همراه با افزایش حافظه و بهبود عملکرد شناختی باشد (پارادو لیمائو^۹ و دیگران، ۲۰۱۸). با توجه به در نظر گرفتن نتایج ماز آبی موریس می‌توان بیان کرد که پژوهش حاضر نیز بر موضوع افزایش حافظه و بهبود عملکرد شناختی دلالت دارد. لازم به ذکر است که اکثر پژوهش‌های جستجو شده در محیط غنی سازی شده، به صورت نگهداری کامل و زندگی طولانی مدت بود و فعالیت بدنی با زمان محدود و مشخص مانند پروتکل فعالیت بدنی اجرا شده در مطالعه حاضر؛ مشاهده نشد.

به دلیل عدم انجام مسیریابی رت‌ها (به علت هزینه‌های بسیار بالا) و عدم دسترسی به این نوع تکنولوژی‌ها، دستیابی به میزان فعالیت واقعی رت‌ها در تحقیق حاضر امکان‌پذیر نبود. این موضوع یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر به شمار می‌رود؛ لذا پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آتی به مقایسه انواع مختلف شیوه‌های فعالیت بدنی و همچنین اجرا در محیط‌های متفاوت بپردازند، تا بتوان به صورت جامع‌تری، درباره آثار مختلف فعالیت‌های بدنی بر عوامل تجمع پلاک‌های $A\beta$ ، AGES و مرگ سلولی نظر داد.

درمان دارویی خواهد بود (فرناندز^۱ و دیگران، ۲۰۲۰). آثار مفید و سودمند فعالیت بدنی منظم در بهبود مقاومت به انسولین، کاهش تجمع $A\beta$ و جلوگیری از اختلالات عصبی در رت‌های دیابتی نوع III؛ مشخص شده است، از این رو، فعالیت بدنی آثار زیان‌بار استرس اکسیداتیو که با روند پیری تسریع می‌شود را نیز تعدیل کرده و پیامد‌های مثبتی در کاهش نشانگرهای التهابی، بهبود شکل‌گیری سیناپس، و ادراک شناختی دارد (فرناندز و دیگران، ۲۰۲۰؛ بینس^۲، ۲۰۱۵). به علاوه، بروز مقاومت به انسولین در مغز و کاهش رسیدن انسولین به نورون‌ها در بیماری دیابت نوع III، باعث اختلال در عملکرد شناختی می‌شود (پامیدی^۳ و دیگران، ۲۰۱۹). این در حالی است که تجمع پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز، ارتباط سلولی را قطع کرده و می‌تواند موجب فعال شدن میکروگلیا^۴ و عوامل التهابی شود؛ وقایعی که در نهایت منجر به آسیب بافتی و مرگ سلولی در مغز می‌شوند (هنکا^۵ و دیگران، ۲۰۱۵).

ناکانو و دیگران (۲۰۲۰) در پژوهشی نشان داده‌اند که محیط غنی سازی شده می‌تواند حافظه فضایی رت‌های آرایمیری شده را نسبت به گروه کنترل بهبود ببخشد. این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر همسو است. قبلاً اشاره شد که چهار ماه قرار دادن رت‌های ترنس ژنیک TgCRND8 در محیط غنی‌سازی شده، گیرنده AGES را به طور منفی تنظیم می‌کند (هرینگ و دیگران، ۲۰۰۸). این حالت پاک‌سازی $A\beta$ مغزی به خون را تسهیل نماید. نتایج پژوهش مذکور نیز با پژوهش حاضر همسو است. ولف^۶ و دیگران (۲۰۰۶) گزارش کرده‌اند که در رت‌های ترنس ژنیک قرار گرفته شده در محیط غنی‌سازی شده؛ علی‌رغم ثابت بودن میزان تجمع پلاک $A\beta$ ، عملکرد ماز آبی موریس بهبود می‌یابد. نتایج مربوط به تجمع پلاک‌های $A\beta$ در مطالعه فوق با یافته‌های پژوهش حاضر (احتمالاً به دلیل زمان‌براری متفاوت در محیط غنی‌سازی شده) ناهمسو است؛ در حالی که نتایج مربوط به عملکرد ماز آبی موریس، همسو هستند.

یکی از راهکارهای مؤثر در بهبود روند زوال عقل و افزایش عملکرد شناختی، قرار گرفتن در محیطی مناسب و غنی‌سازی شده است. محیط غنی سازی شده حرکتی

1. Fernandes
2. Baynes
3. Pamidi

4. Microglia
5. Heneka
6. Wolf

7. Clemenson
8. Singhal
9. Prado Lima

متنوع؛ اثر مطلوبی بر حافظه و عملکرد شناختی بیماران با تخریب عصب (از جمله آلزایمر) دارد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند هیچگونه تعارض منافی در مقاله حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری فیزیولوژی ورزشی می باشد. از تمام اساتید و دانشجویان همکار در تیم پژوهشی دانشگاه تهران که به گونه ای در اجرای این تحقیق یاری نموده اند، تقدیر و تشکر به عمل می آید.

نتیجه گیری: با مرور نتایج پژوهش های گذشته و با استناد به یافته های پژوهش حاضر، استراتژی فعالیت ورزشی در محیط غنی سازی شده می تواند بر (کاهش) علائم پاتولوژیک بیماری آلزایمر اثرگذار باشد. فعالیت ورزشی در محیطی غنی سازی شده حرکتی به دور از استرس، به صورت اختیاری و داوطلبانه همراه با تعاملات اجتماعی بالا (تعقیب و گریزها، جست و جو کردن ها، ماهیت رقابتی بودن محیط برای استفاده از برخی وسایل مانند نردبان، نوار گردان، سرسره، کشتی گرفتن ها، بار یادگیری بالا، بار شناختی بالا و غنی بودن حرکات) و همراه با محرک های

منابع

- Adlard, P.A., Perreau, V.M., Pop, V., & Cotman, C.W. (2005). Voluntary exercise decreases amyloid load in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 25(17), 4217-4221. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0496-05.2005>
- Amiri, H., Shabkhiz, F., Pournemati, P., Quchan, A.H.S.K., & Fard, R.Z. (2023). Swimming exercise reduces oxidative stress and liver damage indices of male rats exposed to electromagnetic radiation. *Life Sciences*, 317, 121461. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121461>
- Barton, S.M., To, E., Rogers, B.P., Whitmore, C., Uppal, M., Matsubara, J.A., & Pham, W. (2021). Inhalable thioflavin S for the detection of amyloid beta deposits in the retina. *Molecules*, 26(4), 835. <https://doi.org/10.3390/molecules26040835>
- Baynes, H.W. (2015). Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes Metabolism* 6(5), 1-9. <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541>
- Bromley-Brits, K., Deng, Y., & Song, W. (2011). Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *Journal of Visualized Experiments*, (53), e2920. <https://dx.doi.org/10.3791/2920>
- Callisaya, M., & Nosaka, K. (2017). Effects of exercise on type 2 diabetes mellitus-related cognitive impairment and dementia. *Journal of Alzheimer's Disease*, 59(2), 503-513. <https://dx.doi.org/10.3233/JAD-161154>
- Chang, A.Y., Skirbekk, V.F., Tyrovolas, S., Kassebaum, N.J., & Dieleman, J.L. (2019). Measuring population ageing: an analysis of the global burden of disease study 2017. *The Lancet Public Health*, 4(3), e159-e167. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(19\)30019-2](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(19)30019-2)
- Chen, X.Q., & Mobley, W.C. (2019). Alzheimer disease pathogenesis: insights from molecular and cellular biology studies of oligomeric A β and tau species. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 659. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00659>
- Clemenson, G.D., Gage, F.H., & Stark, C.E. (2018). Environmental enrichment and neuronal plasticity. *The Oxford Handbook of Developmental Neural Plasticity*, 85, 283-284. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780190635374.013.13>
- de la Monte, S.M. (2019). The full spectrum of Alzheimer's disease is rooted in metabolic derangements that drive type 3 diabetes. *Diabetes Mellitus: A Risk Factor for Alzheimer's Disease*, 45-83. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3540-2_4

- de Sousa Fernandes, M.S., Ordônio, T.F., Santos, G.C.J., Santos, L.E.R., Calazans, C.T., Gomes, D.A., & Santos, T.M. (2020). Effects of physical exercise on neuroplasticity and brain function: a systematic review in human and animal studies. *Neural Plasticity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8856621>
- Gold, C.A., & Budson, A.E. (2008). Memory loss in Alzheimer's disease: implications for development of therapeutics. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 8(12), 1879-1891. <https://doi.org/10.1586/14737175.8.12.1879>
- Heneka, M.T., Carson, M.J., El Khoury, J., Landreth, G.E., Brosseron, F., Feinstein, D.L., ... & Kummer, M.P. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, 14(4), 388-405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Herring, A., Yasin, H., Ambrée, O., Sachser, N., Paulus, W., & Keyvani, K. (2008). Environmental enrichment counteracts Alzheimer's neurovascular dysfunction in TgCRND8 mice. *Brain Pathology*, 18(1), 32-39. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00094.x>
- Kandimalla, R., Thirumala, V., & Reddy, P.H. (2017). Is Alzheimer's disease a type 3 diabetes? A critical appraisal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1078-1089. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.08.018>
- Kaplan, M.A., & Inguanzo, M.M. (2017). The social, economic, and public health consequences of global population aging: Implications for social work practice and public policy. *Journal of Social Work in the Global Community*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.5590/JSWGC.2017.02.1.01>
- Li, X.H., Lv, B.L., Xie, J.Z., Liu, J., Zhou, X.W., & Wang, J.Z. (2012). AGEs induce Alzheimer-like tau pathology and memory deficit via RAGE-mediated GSK-3 activation. *Neurobiology of Aging*, 33(7), 1400-1410. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.02.003>
- Naderi, S., Habibi, A., Kesmati, M., Rezaie, A., & Ghanbarzadeh, M. (2018). The effects of six weeks high intensity interval training on Amyloid beta1-42 peptide in hippocampus of rat model of Alzheimer's disease induced with STZ. *Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences*, 7(2). [In Persian]. <https://doi.org/10.5812/jcrps.86866>
- Nakano, M., Kubota, K., Hashizume, S., Kobayashi, E., Chikenji, T.S., Saito, Y., & Fujimiya, M. (2020). An enriched environment prevents cognitive impairment in an Alzheimer's disease model by enhancing the secretion of exosomal microRNA-146a from the choroid plexus. *Brain, Behavior & Immunity-Health*, 9, 100149. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100149>
- Pamidi, N., Yap, C.G., & Nayak, S. (2019). Protective effect of environmental enrichment on the morphology of neurons in the motor cortex of diabetic and stressed rats. *Archives of Biochemistry and Molecular Biology*, 10(4), 52-70. <https://doi.org/10.26502/abmb.008>
- Prado Lima, M.G., Schimidt, H.L., Garcia, A., Daré, L.R., Carpes, F.P., Izquierdo, I., & Mello-Carpes, P.B. (2018). Environmental enrichment and exercise are better than social enrichment to reduce memory deficits in amyloid beta neurotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(10), E2403-E2409. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718435115>

- Pugazhenth, S., Qin, L., & Reddy, P.H. (2017). Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1037-1045. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.04.017>
- Selkoe, D.J., & Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, 8(6), 595-608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>
- Singhal, G., Morgan, J., Jawahar, M.C., Corrigan, F., Jaehne, E.J., Toben, C., ... & Baune, B.T. (2019). Short-term environmental enrichment, and not physical exercise, alleviate cognitive decline and anxiety from middle age onwards without affecting hippocampal gene expression. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 19(5), 1143-1169. <https://doi.org/10.3758/s13415-019-00743-x>
- Todorova, V., & Blokland, A. (2017). Mitochondria and synaptic plasticity in the mature and aging nervous system. *Current Neuropharmacology*, 15(1), 166-173. <https://doi.org/10.2174/1570159X14666160414111821>
- Vorhees, C.V., & Williams, M.T. (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), 848-858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.116>
- Voss, M.W., Prakash, R.S., Erickson, K.I., Basak, C., Chaddock, L., Kim, J.S., ... & Kramer, A.F. (2010). Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2, 32. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00032>
- Wolf, S.A., Kronenberg, G., Lehmann, K., Blankenship, A., Overall, R., Staufenbiel, M., & Kempermann, G. (2006). Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, 60(12), 1314-1323. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.04.004>