

The Effect of Aerobic Training and Resveratrol on Ferroptosis in a Rat Model of Alzheimer's Disease

Shiva Habibi, Ahmad Abdi*, Saeid Fazelifar

Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

Article Info:

Received: 28 Sep 2023

Revised: 9 Nov 2023

Accepted: 4 Dec 2023

ABSTRACT

Introduction: Ferroptosis is a type of iron-dependent cell death that has been identified in the brains of patients with Alzheimer's disease (AD). Exercise and resveratrol (RSV) can delay neurodegenerative diseases, especially AD. The present study aimed to investigate the effect of aerobic training and RSV on hippocampal ferroptosis in a rat model of AD. **Materials and Methods:** In this experimental study, 35 male Wistar rats were divided into 5 groups: Control (CTRL), AD, AD-Training (ADT), AD-RSV (ADRSV), and AD-Training-RSV (ADTRSV). The ADRSV and ADTRSV groups received 20 mg/Kg of RSV orally during the intervention period. An aerobic exercise program including running on a treadmill with a speed of 6-18 meters per minute, was performed 5 days a week for eight weeks. Iron and GSH levels were measured by ELISA and gene expression by Real time-PCR method. **Results:** AD induction caused a significant increase in iron level and a decrease in GSH, Gpx4, Nrf2, and HO-1 expression compared to the CTRL group. Exercise and RSV decreased iron and increased GSH, Nrf2, and HO-1 values compared to the AD group. Moreover, a significant increase was observed in the levels of GSH, Gpx4, Nrf2, and HO-1 in the ADTRSV group compared to the ADT and ADRSV groups compared to the other groups. **Conclusion:** AD induction was associated with an increase in ferroptosis indices, and aerobic exercise activity and RSV administration improved this process. Considering the effect of aerobic training and RSV, these two treatment methods can be used together to improve neurodegenerative diseases, such as AD.

Keywords:

1. Exercise
2. Resveratrol
3. Ferroptosis
4. Alzheimer Disease

*Corresponding Author: Ahmad Abdi

Email: a.abdi58@gmail.com



اثر تمرین هوازی و رزوراترول بر فروپتوز در مدل موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر

شیوا حبیبی، احمد عبدی*، سعید فاضلی‌فر

گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۱۳ آذر ۱۴۰۲

اصلاحیه: ۱۸ آبان ۱۴۰۲

دریافت: ۶ مهر ۱۴۰۲

چکیده

مقدمه: فروپتوز نوعی مرگ سلولی وابسته به آهن می‌باشد که در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر (AD) شناسایی شده است. فعالیت ورزشی و رزوراترول (RSV) می‌تواند بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی، به ویژه AD را به تاخیر بیاورد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرین هوازی و رزوراترول بر فروپتوز مدل موش AD انجام شد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به پنج گروه کنترل (AD)، (CTRL)، آلزایمر-تمرین (ADT)، آلزایمر-رزوراترول (ADRSV) و آلزایمر-تمرین-رزوراترول (ADTRSV) تقسیم شدند. گروه‌های ADRSV و ADTRSV طی دوره مداخله روزانه ۲۰ میلی گرم RSV را به صورت خوراکی دریافت کردند. برنامه تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۸-۶ متر در دقیقه، پنج روز هفته به مدت هشت هفته اجرا شد. سطوح آهن و GSH به روش الایزا و بیان ژن‌ها به روش Real time-PCR اندازه‌گیری شد. **یافته‌ها:** القای AD باعث افزایش معنی‌داری در آهن و کاهش GSH، Nrf2، Gpx4، HO-۱ نسبت به گروه CTRL شد. تمرین و RSV باعث کاهش آهن و افزایش مقادیر GSH، Nrf2، Gpx4، HO-۱ نسبت به گروه AD شد. همچنین افزایش معنی‌داری در میزان GSH، Nrf2، Gpx4، HO-۱ در گروه ADTRSV نسبت به گروه‌های ADT و ADRSV مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** القای AD با افزایش شاخص‌های فروپتوز همراه بود و فعالیت ورزشی هوازی و تجویز RSV این روند را بهبود بخشید. با توجه به اثر فعالیت‌بدنی و RSV، می‌توان از این دو روش درمانی برای بهبود بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی از قبیل AD استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی:

- ۱- فعالیت ورزشی
- ۲- رزوراترول
- ۳- فروپتوز
- ۴- بیماری آلزایمر

*نویسنده مسئول: احمد عبدی

پست الکترونیک: a.abdi58@gmail.com

مقدمه

در چند دهه اخیر، کشف اشکال جدیدی از مرگ سلولی تنظیم شده که پیامدهای بسیار زیادی هم برای سلامتی و هم برای بیماری دارد، افزایش یافته است. فروپتوز نوعی مرگ سلولی وابسته به آهن می باشد که دارای ویژگی های بیوشیمیایی و ژنتیکی متفاوتی است که آن را از آپوپتوز، نکروز، اتوفازی و سایر روش های مرگ سلولی متمایز می سازد (۱). ویژگی های فروپتوز شامل تغییرات خاص در ساختار سلولی، تجمع پراکسیدهای لیپیدی و گونه های فعال اکسیژن (ROS) وابسته به آهن، کاهش گلوکاتایون (GSH) و غیرفعال شدن گلوکاتایون پراکسیداز ۴ (GPX4) و تغییر در برخی ژن های تنظیم کننده است (۲). نشانه های فروپتوز، مانند تجمع بیش از حد آهن، پراکسیدهای لیپیدی بالا و تولید ROS در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر (AD) و موش های مدل AD شناسایی شده است (۳). تجمع آهن در مغز بیماران AD مشاهده شده و تجمع بیش از حد آهن در مغز با کاهش سرعت شناختی در بیماران مبتلا به AD همراه است (۳). یکی از ویژگی های متمایز سرکوب فروپتوز، ظرفیت قوی حذف کننده های پراکسید لیپید برای جلوگیری از مرگ سلولی ناشی از فروپتوز است. یکی از سرکوبگرهای درون زای فروپتوز سلنواگزیم Gpx4 است. Gpx4 به گلوکاتایون، آنتی اکسیدان سلولی اصلی به عنوان یک بستر نیاز دارد از این رو فروپتوز نیز به سطح گلوکاتایون وابسته است (۴). نقش دقیق آهن در فروپتوز نامشخص است. با این وجود نشان داده شده که آهن در فرآیند مرتبط با رادیکال آزاد (مستقل از فعالیت لیپواکسیژناز)، فروپتوز را تقویت می کند (۵). کاهش گلوکاتایون و کاهش سیگنالینگ فاکتور شبه هسته ای ۲ مشتق از اریترئوئید ۲ (Nrf2) یکی از شواهد غیرمستقیم فروپتوز و تخریب سیستم عصبی است (۶). Nrf2 مسئول تنظیم صدها ژن آنتی اکسیدانی است و قادر است فرآیند فروپتوز را تنظیم کند. در هسته، Nrf2 با عناصر پاسخ آنتی اکسیدانی (AREs) در ناحیه پروموتور ژن های هدف تعامل کرده و منجر به فعال سازی آنزیم های دفاعی آنتی اکسیدانی و هم-اکسیژناز ۱ (HO-1) می شود (۷). جالب این که تقریباً تمام ژن هایی که در فروپتوز نقش دارند، توسط Nrf2 تنظیم می شوند (۸). علاوه بر این، Nrf2 در تنظیم لیپیدها از طریق فاکتور رونویسی PPAR γ نقش دارد. Nrf2 و PPAR γ به طور متقابل تنظیم شده، با فعال شدن هر یک اثر تنظیمی مثبت بر دیگری دارد. PPAR γ تنظیم کننده اصلی متابولیسم لیپید است و توسط لیپیدهای اکسید شده به دنبال شروع فروپتوز فعال می شود. از این رو Nrf2/HO-1 و PPAR γ از طریق تاثیر بر متابولیسم لیپیدها بر فروپتوز تاثیر دارد (۹).

فعالیت ورزشی با شدت مناسب می تواند بیماری های تخریب کننده عصبی، به ویژه AD را به تاخیر بیاورد. رابطه معکوسی بین یک زندگی فعال و خطر ابتلا به زوال شناختی مستند شده است و تمرینات ورزشی هوازی پرکاربردترین نوع فعالیت ورزشی برای کاهش تاثیر منفی پیری بر عملکرد شناختی می باشد (۱۰). اثرات مفید فعالیت ورزشی بر روی ترمیم فراتر از تاثیر آن بر عملکرد عضلات است و شامل مجموعه ای از تغییرات در مغز، از جمله آنژیوژنز، سیناپتوژنز و بیان بیش از حد عوامل نوروتروفیک می شود (۱۱). مهم تر از آن، گزارش شده است که فعالیت بدنی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش بیان پروتئین های مرتبط با فروپتوز، از جمله Nrf2 و Gpx4 می شود (۱۲). علاوه بر این فعالیت ورزشی قادر به کاهش اضافه بار آهن و مالون دی آلدئید (MDA) و افزایش GSH و Gpx4 بوده و از این طریق اثرات ضد فروپتوز داشته باشد (۱۳). علاوه بر فعالیت ورزشی، تلاش ها برای پیدا کردن آنتی اکسیدان های که از پیشرفت بیماری AD جلوگیری می کند، هنوز ادامه دارد. روزراترول (RSV: 3, 4'-tri-hydroxystilbene) پلی فنول طبیعی است که در پوست انگور، آلو، بادام زمینی، زغال اخته و شکلات تلخ یافت می شود (۱۴). اثرات مثبت بیولوژیکی RSV، باعث افزایش سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی، از جمله فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) و کاهش ROS می شود (۱۵). RSV به دلیل خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی بالای که دارد برای درمان بیماری های تخریب کننده عصبی (مانند AD، بیماری پارکینسون و اسکروز جانبی آمیوتروفیک) بسیار مفید می باشد (۱۶). ژانگ و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهشی نشان دادند که RSV قادر است فروپتوز را در سلول های β پانکراس موش ها مهار کند (۱۷). علاوه بر این نشان داده شده که RSV به عنوان یک آنتی اکسیدان قادر است سطح Nrf2، SOD-1، GPx و CAT را در نورن ها کاهش دهد (۱۸). با توجه به موارد ذکر شده، به نظر می رسد فروپتوز در پاتوژنز AD نقش دارد. با این وجود شواهد مستقیم اثر فروپتوز در پاتولوژی AD به خوبی شناسایی نشده است. با توجه به تاثیر مفیدی که فعالیت ورزشی با شدت متوسط بر حافظه فضایی موش ها دارد، رویکرد موثری برای بهبود بیماری AD است. هر چند نشان داده شده که در تمرین ورزشی داوطلبانه پاسخ های استرسی کمتری ایجاد می شود؛ تمرین روی ترمیم به دلیل کنترل شدت و زمان تمرین، طرح آزمایشی بهتری است (۱۹). همچنین نشان داده شده که تمرین با شدت بالا در بیماری های آسیب مغزی باعث افزایش اختلالات فیزیولوژیکی و روانی می شود (۲۰). علاوه بر این استفاده از RSV به

¹ Reactive oxygen species

² Glutathione

³ Glutathione peroxidase 4

⁴ Alzheimer's disease

⁵ NF-E2-related factor 2

⁶ Antioxidant Responsive Element

⁷ Heme oxygenase-1

⁸ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

⁹ Resveratrol

¹⁰ Superoxide Dismutase

¹¹ Catalase

به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش‌ها به صورت تصادفی به پنج گروه هفت سری (شامل ۱) طبیعی (NO)، ۲) آلزایمر (AD)، ۳) آلزایمر-تمرین (ADT)، ۴) آلزایمر-رزوراترول (ADRSV)، ۵) آلزایمر-تمرین-رزوراترول (ADTRSV) قرار گرفتند. گروه NO یا گروه سالم: هیچ تغییری بر آن‌ها اعمال نشد. گروه AD: با استفاده از تزریق آمیلوئید بتا ($A\beta^{12}$) به آلزایمر دچار شدند. گروه ADT: بعد از القای AD، این گروه در یک برنامه ورزشی شرکت داده شدند. گروه ADRSV: بعد از القای AD، به این گروه مکمل RSV خورانده شد. و گروه ADTRSV: این گروه بعد از القای AD، علاوه بر شرکت در برنامه تمرینی، مکمل RSV نیز به آن‌ها خورانده شد (تصویر ۱).

نحوه القای آلزایمر

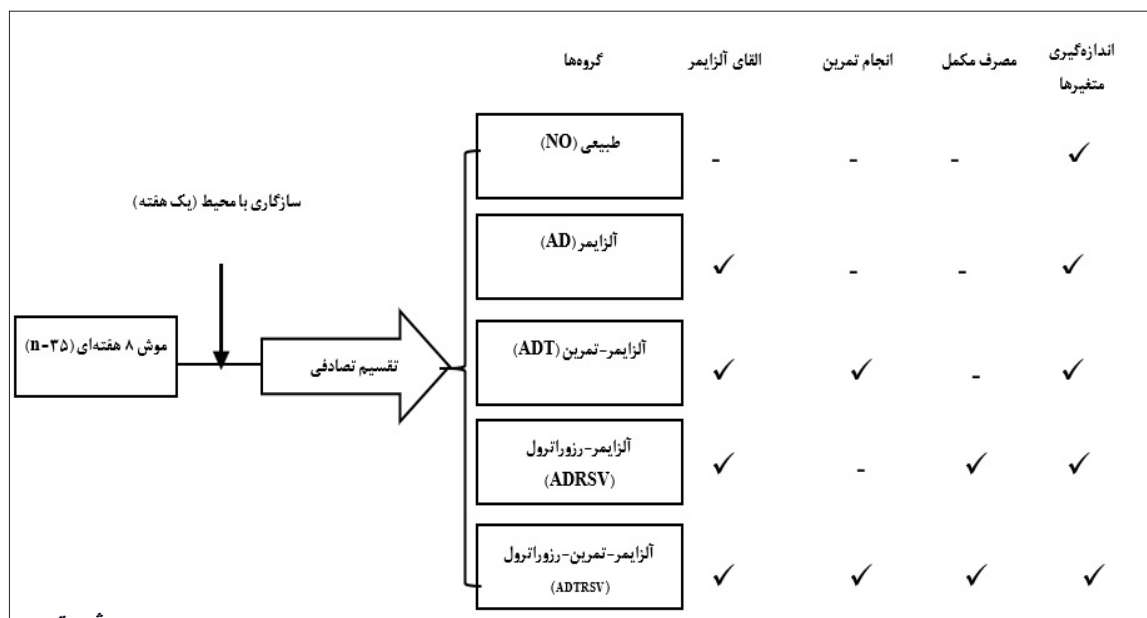
برای القای آلزایمر از آمیلوئید بتای ۱-۴۲ ($A\beta$) خریداری شده از شرکت سیگما-آلدريج (No:HB9805) استفاده شد. ابتدا آمیلوئید بتای ۱-۴۲ در آب مقطر دو بار استریل شده حل و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد آنکوبه شد. موش‌ها با تزریق کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. موهای روی سر تراشیده،

دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی مفید، می‌تواند در کاهش فروپتوز ناشی از AD نقش داشته باشد. با توجه به شواهد محدودی که در خصوص اثرات همزمان تمرین و مصرف RSV بر فروپتوز بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی AD وجود دارد، فرض محقق این است که استفاده از تمرین هوازی و مکمل RSV به صورت همزمان دارای اثرات هم‌افزایی داشته و باعث بهبود بهتر شرایط فروپتوز در موش‌های صحرایی AD می‌شود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های پژوهش

تحقیق حاضر از نظر هدف توسعه‌ای و با توجه به ماهیت و روش اجرای آن در زمره تحقیقات آزمایشگاهی و تجربی است. در این پژوهش همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (براساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای مؤسسه ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. همچنین این پژوهش با تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله املی با کد IR.IAU.AMOL.REC.1402.104 به تصویب رسیده است. تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزن $223/17 \pm 9/08$ گرم از مؤسسه پاستور تهیه شد و به آزمایشگاه حیوانی منتقل شدند. دمای محیط 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی



تصویر ۱- شماتیک طرح پژوهش

روش‌های آزمایشگاهی

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) حیوانات با استفاده از کلروفرم بی‌هوش و قربانی شدند. بافت هیپوکامپ بلافاصله پس از جداسازی و شست و شو با سالین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای -80°C درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تاثیر آهنگ شبانه روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و ۱۱:۳۰ به اتمام رسید.

طراحی و آماده‌سازی پرایمر

جدول ۱ الگوی پرایمر را نمایش می‌دهد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

انجام Real time-PCR

۲۰ میلی‌گرم از بافت با استفاده از اسکالپر خرد و

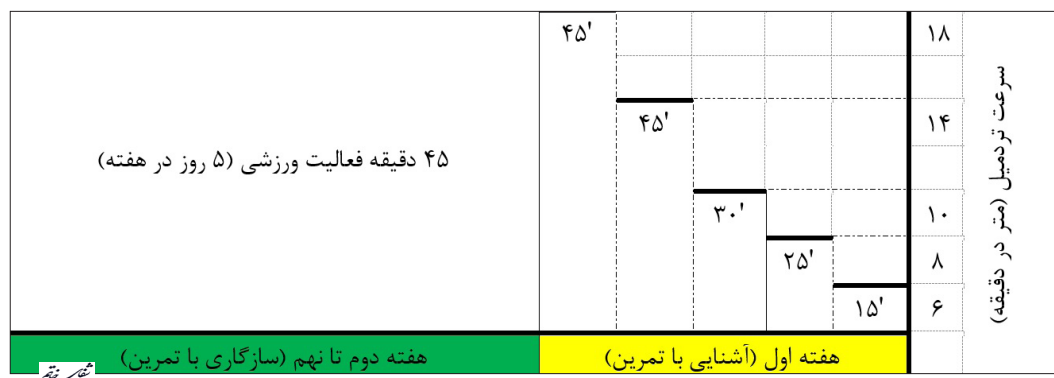
و درز برگما و لامبدا با یک برش ساجیتال مشخص شد. در ادامه ناحیه CA1 هیپوکامپ علامت‌گذاری شد و مجسمه به آرامی سوراخ گردید. از سرنگ همیلتون برای تزریق $A\beta$ استفاده شد. دو میکرولیتر $A\beta$ در مغز به آرامی در حدود یک دقیقه تزریق شد (۲۱).

پروتکل تمرین

برنامه تمرین موش‌های صحرایی AD در تصویر ۲ آورده شده است. تمرین ورزشی روی تردمیل از ۲ ماهگی آغاز شد. تمرین به دو مرحله آشنایی با تمرین (دو هفته) و سازگاری با تمرین (هشت هفته) تقسیم شد. در مرحله آشنایی با تمرین، موش‌ها در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت ۱۵-۴۵ دقیقه با سرعت ۱۸-۶ متر در دقیقه تمرین ورزشی را انجام دادند. در ادامه موش‌ها هشت هفته و پنج روز در هفته با شدت ۱۸ متر در دقیقه و به مدت ۴۵ دقیقه فعالیت ورزشی اصلی را روی تردمیل مخصوص حیوانات انجام دادند (۲۲).

مصرف رزوراترول

رزوراترول (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از سیگما آلدیچ) یا حجمی معادل آن سالین (محلول نمکی) هر روز صبح (بین ساعت ۸ صبح تا ۱۰ صبح) به مدت ۲ ماه (۸ هفته) به صورت خوراکی و گاواژ به موش‌ها تجویز شد (۲۳، ۲۴).



تصویر ۲- پروتکل تمرین

جدول ۱- الگوی پرایمر

ژن‌ها	پرایمرهای جلو	پرایمرهای معکوس
Gpx4	5'-GCAGGAGCCAGGAAGTAATCAA-3'	5'-ACCACGCAGCCGTTCTTATC-3'
Nrf2	5'-TTGTAGATGACCATGAGTCGC-3'	5'-TGTCCTGCTGTATGCTGCTT-3'
HO-1	5'-GTAAATGCAGTGTGGCCCC-3'	5'-ATGTGCCAGGCATCTCCTTC-3'
GAPDH	5'-AGAAGGCTGGAGAAGATGAGG-3'	5'-TTGGTGCCTCGTGTCTTCTGT-3'

شاپیرو ویلک و همگنی واریانس‌ها توسط از آزمون لون، برای تجزیه و تحلیل آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P \geq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین وزن، آهن و گلوتاتیون (GSH) گروه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. * تفاوت با گروه NO، $\pm$ تفاوت با گروه AD، β تفاوت با ADTRSV. NO: طبیعی، AD: آلزایمر، ADT: آلزایمر-تمرین، ADRSV: آلزایمر-رزوراترول، ADTRSV: آلزایمر-تمرین-رزوراترول. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات آهن ($F=16/492$, $P=0/0001$) و GSH ($F=18/041$, $P=0/0001$) بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات آهن در گروه‌های AD ($P=0/0001$)، ADT ($P=0/002$) و ADRSV ($P=0/003$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین کاهش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($P=0/028$)، ADRSV ($P=0/020$) و ADTRSV ($P=0/0001$) نسبت به AD؛ و ADTRSV نسبت به گروه ADT ($P=0/035$) و ADRSV ($P=0/048$) مشاهده شد. همچنین نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات GSH در گروه‌های AD ($P=0/0001$)، ADT ($P=0/001$) و ADRSV ($P=0/002$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($P=0/029$)، ADRSV ($P=0/013$) و ADTRSV ($P=0/0001$) نسبت به AD؛ و ADRSV ($P=0/039$) مشاهده شد (جدول ۲). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان Gpx4 بافت هیپوکامپ بین

وارد میکروتیوپ شده، سپس با استفاده از محلول تیازول، RNA کل سلول‌ها استخراج شد. cDNA سنتز شده و جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. cDNA سنتز شده با استفاده از SYBR Green master mix (Thermo Scientific, USA) و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۲ تکثیر شد. برای اندازه‌گیری mRNA، ۱ میکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم RQ1 RNase-free DNase-I (Promega) و -ret- (ro-transcribed RT) تیمار شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل: ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل ۲۰ ثانیه‌ای در حرارت ۹۵، ۳۰ ثانیه در ۶۰ و ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ بود. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای طبیعی سازی بیان ژن از فرمول (کنترل) -CT (هدف) $\Delta CT = CT$ استفاده گردید. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن‌ها با ΔCT ، برای کمی‌کردن نتیجه حاصل از تغییرات CT نمونه‌ها، این عدد در فرمول $2^{-\Delta CT}$ وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد.

روش اندازه‌گیری آهن و گلوتاتیون (GSH)

سطح آهن با استفاده از کیت سنجش آهن (BioAs- say Systems, Hayward, CA, USA) طبق دستورالعمل سازنده ارزیابی شد. گلوتاتیون (GSH) بر اساس روش المن انجام شد (۲۵). ۱۰۰ میکرولیتر هموزن با ۹۰۰ میکرولیتر از معرف Ellman تهیه شده در بافر tris-HCl مخلوط شد. پس از همگن شدن، مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. چگالی نوری در ۴۱۲ نانومتر خوانده شد. نتایج بر حسب میلی مول در هر گرم پروتئین ارائه شد.

تجزیه و تحلیل یافته‌ها

پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون

جدول ۲- میانگین وزن گروه‌ها در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	(n=7) طبیعی	(n=7) آلزایمر	(n=7) آلزایمر-تمرین	(n=7) آلزایمر-رزوراترول	(n=7) آلزایمر-تمرین-رزوراترول
وزن (گرم)	۲۱۹/۷۱ $\pm$ ۱۰/۶۱	۲۲۵/۵۷ $\pm$ ۱۱/۲۸	۲۲۴/۷۱ $\pm$ ۹/۴۱	۲۲۲ $\pm$ ۶/۴۲	۲۲۳/۸۶ $\pm$ ۸/۴۹
آهن ($\mu\text{g/dl}$)	۱۷/۹۱ $\pm$ ۳/۵۲	۳۰/۴۶ $\pm$ ۳/۹۴	۲۵/۰۳ $\pm$ ۲/۵۹ $\pm \beta^*$	۲۴/۸ $\pm$ ۳/۶۳ $\pm \beta^*$	۱۹/۷۷ $\pm$ ۱/۹۵ $\pm$
GSH ($\mu\text{mol/g}$)	۲۷/۰۵ $\pm$ ۵/۱۲	۱۰/۹۹ $\pm$ ۱/۷۰ $\pm$	۱۷/۶۰ $\pm$ ۲/۲۶ $\pm \beta^*$	۱۸/۲۷ $\pm$ ۴/۶۲ $\pm \beta^*$	۲۴/۶۱ $\pm$ ۴/۷۰ $\pm$

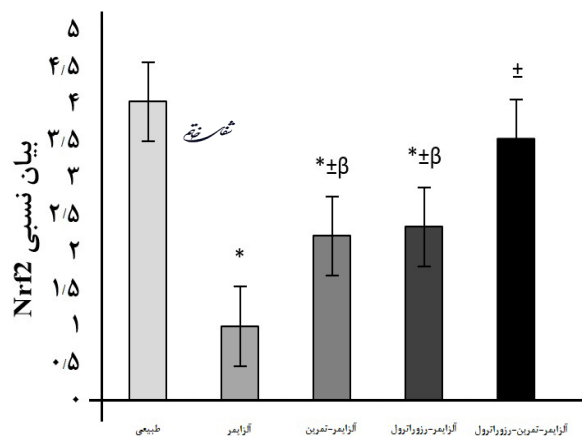
تشنه

معنی‌داری در گروه‌های ADT ($P=0/039$)، ADRSV ($P=0/019$) و ADTRSV ($P=0/001$) نسبت به AD؛ و ADRSV نسبت به گروه ADT ($P=0/023$) و ADRSV ($P=0/046$) مشاهده شد (نمودار ۲).

* تفاوت با گروه NO، $\pm$ تفاوت با گروه AD، β تفاوت با ADTRSV.

NO: طبیعی، AD: آلازایمر، ADT: آلازایمر-تمرین، ADRSV: آلازایمر-رزوراترول، ADTRSV: آلازایمر-تمرین-رزوراترول.

در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها تفاوت معنی‌داری را در میزان تغییرات بیان HO-1 بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف نشان داد ($F=13/197$ ، $P=0/001$) (نمودار ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات HO-1 در گروه‌های AD ($P=0/001$)، ADT ($P=0/028$) و ADRSV ($P=0/038$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($P=0/041$)، ADRSV ($P=0/030$) و ADTRSV ($P=0/001$) نسبت به AD؛ و ADTRSV نسبت به گروه ADT ($P=0/029$) و ADRSV ($P=0/039$) مشاهده شد (نمودار ۳).

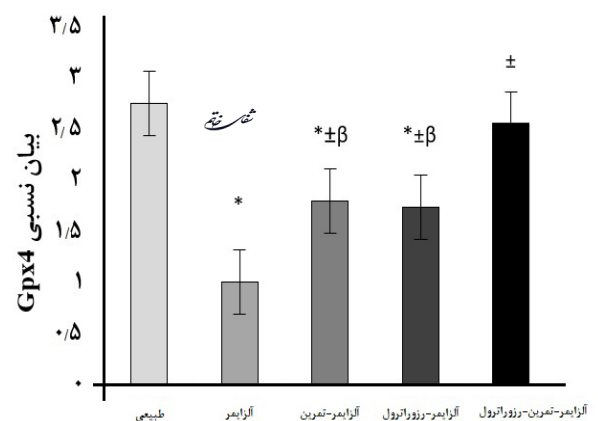


نمودار ۲- تغییرات بیان Nrf2 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $P>0/05$).

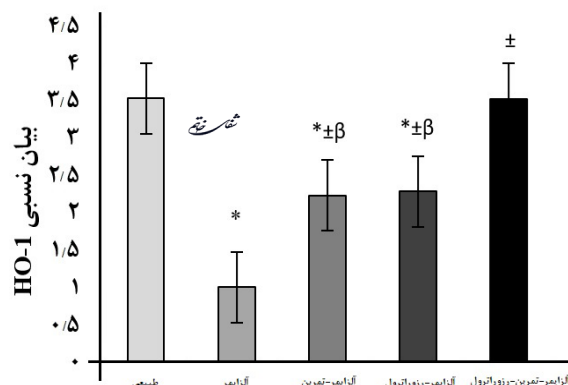
گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=17/615$ ، $P=0/001$) (نمودار ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات Gpx4 در گروه‌های AD ($P=0/001$)، ADT ($P=0/003$) و ADRSV ($P=0/002$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های ADT ($P=0/017$)، ADRSV ($P=0/031$) و ADTRSV ($P=0/001$) نسبت به AD؛ و ADTRSV نسبت به گروه ADT ($P=0/024$) و ADRSV ($P=0/013$) مشاهده شد (نمودار ۱).

* تفاوت با گروه NO، $\pm$ تفاوت با گروه AD، β تفاوت با ADTRSV.

همچنین تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان Nrf2 بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=17/231$ ، $P=0/001$) (نمودار ۲). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات Nrf2 در گروه‌های AD ($P=0/001$)، ADT ($P=0/001$) و ADRSV ($P=0/002$) نسبت به NO وجود دارد. همچنین افزایش



نمودار ۱- تغییرات بیان Gpx4 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $P>0/05$).



نمودار ۳- تغییرات بیان HO-1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح $P>0/05$).

راستا، ابودیا و همکاران (۲۰۲۱) تاثیر فعالیت ورزشی شنا را بر بیان Nrf2 و فشار اکسایشی در بافت هیپوکامپ موش‌های مبتلا به AD را بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد که فعالیت ورزشی بیان Nrf2 را افزایش داده و با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (افزایش TAC^{۲۰} و کاهش MDA) همراه بود. در واقع فعالیت ورزشی با تنظیم افزایشی Nrf2، اثرات محافظت‌کننده عصبی در بیماری AD داشته و منجر به بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت هیپوکامپ شد (۳۴). زارع و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که شش هفته فعالیت ورزشی استقامتی باعث افزایش میزان mRNA Nrf2 و PKB^{۲۱} بافت هیپوکامپ موش‌ها صحرایی شود (۳۵). چن و همکاران (۲۰۲۳) نیز بیان کردند که فعالیت ورزشی قادر به کاهش اضافه بار آهن و MDA و افزایش GSH و Gpx4 بوده و اثرات ضد فروپتوز دارد (۱۳). شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد سازگاری‌های فیزیولوژیکی ناشی از فعالیت ورزشی، بیان ژن‌های مختلف را تحریک می‌کند. زمانی که PKA^{۲۲} به دنبال فعالیت ورزشی استقامتی تحریک می‌شود، قادر است سایر عوامل پایین دستی از قبیل Nrf2 را فعال کند (۳۶). با این وجود آشناس و همکاران (۱۳۹۹) تاثیر تمرینات پیشرونده روی ترمیل (۱۰-۳۰ دقیقه با سرعت ۱ تا ۲۵ متر در دقیقه) بر Nrf2 بافت مغز موش‌های AD بررسی کردند، نشان دادند که تمرین تاثیر معنی‌داری بر افزایش Nrf2 ندارد (۳۷). شاید تفاوت در شدت فعالیت باعث اختلاف در نتایج شده است. مطالعات قبلی نشان داده شدت فعالیت ورزشی بر نشانگرهای زیستی تاثیر زیادی دارد.

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف RSV باعث تقویت اثر فعالیت ورزشی بر کاهش آهن و افزایش بیان GPX4، Nrf2 و سطح GSH در موش‌های AD شد. فیتوکمیکال‌های مختلف، که محرک‌های مسیر رونویسی ARE^{۲۳}-Nrf2 هستند، از فروپتوز جلوگیری می‌کنند. اخیراً گزارش شده که چندین ترکیب، مانند کورکومین به‌عنوان القاکننده Nrf2-ARE، از سلول‌های هیپوکامپ موش در برابر فروپتوز محافظت می‌کند (۳۸). کاتو و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که کوئرستین^{۲۴} و RSV با کاهش استرس اکسیداتیو و غلظت Fe2 در سلول‌های سلول‌های هیپوکامپ باعث کاهش تولید رادیکال‌های هیدروکسیل^{۲۵} کاتالیز شده با آهن شده و اثر محافظتی در برابر فروپتوز دارد (۳۹). همچنین ژانگ و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که RSV فروپتوز را در سلول‌های β پانکراس موش مهار می‌کند (۱۷).

* تفاوت با گروه NO، $\pm$ تفاوت با AD، β تفاوت با ADTRSV.

NO: طبیعی، AD: آلزایمر، ADT: آلزایمر-تمرین، ADRSV: آلزایمر-رزوراترول، ADTRSV: آلزایمر-تمرین-رزوراترول.

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر اثر تمرین هوازی و RSV بر شاخص‌های موثر بر فروپتوز هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر را مورد بررسی قرار داد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای AD باعث افزایش معنی‌داری در میزان آهن بافت هیپوکامپ موش‌های AD شد. به نظر می‌رسد بین افزایش آهن در پاتوژنز بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی مانند بیماری پارکینسون (PD^{۱۳})، بیماری هانتینگتون^{۱۴}، اسکروز جانبی آمیوتروفیک (ALS^{۱۵}) و AD ارتباط وجود دارد (۲۶). لی و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که افزایش میزان آهن در رژیم غذایی موش‌ها منجر به از دست دادن نورون‌ها همراه با آپوپتوز، اتوفاجی و فروپتوز شده که در نهایت منجر به بیماری AD می‌شود (۲۷). همچنین اشرف و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تجمع آهن با افزایش پروتئین‌های مربوط به بیماری AD از قبیل $\alpha\beta$ ، تاو^{۱۶} و α -سینوکلائین^{۱۷} همراه است (۲۸). فروپتوز در بیماری AD تحت تاثیر متابولیسم آهن، پراکسیداسیون لیپیدی و محور GSH/GPX4 قرار می‌گیرد (۲۹). علاوه بر این، در پاتوژنز AD نقش آهن در فشار اکسایشی بسیار مهم می‌باشد. در پژوهش حاضر به دنبال القای AD، میزان بیان Nrf2، GPX4 و سطح GSH کاهش معنی‌داری داشت. وانگ و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه‌ای نشان دادند که القای AD قادر به کاهش فعالیت محور GPX4/Nrf2 بوده و باعث افزایش شاخص‌های التهابی می‌شود (۳۰). پانس و همکاران (۲۰۲۰) نیز در مدل‌های حیوانی AD نشان دادند که فعالیت مسیر PGC-1 α -Nrf2-^{۱۸}TFAM^{۱۹} و همچنین پروتئین‌های میتوکندری کاهش یافته که نشان‌دهنده عملکرد معیوب بیوژنز میتوکندری در AD است (۳۱). تقریباً تمامی ژن‌های مرتبط با فروپتوز (از جمله GPX4) توسط رونویسی Nrf2 تنظیم می‌شوند (۳۲). مسیر Nrf2 با مهار NF- κ B باعث کاهش ROS می‌شود و GPX4 به‌عنوان هدف پایین دست Nrf2 از فعال شدن NF- κ B^{۱۹} جلوگیری می‌کند (۳۳). در پژوهش حاضر نشان داده شد که فعالیت ورزشی هوازی قادر به کاهش آهن بافت هیپوکامپ موش‌های AD بوده و بیان Nrf2، GPX4 و سطح GSH را افزایش داد. در همین

¹³ Parkinson's disease

¹⁴ Huntington's disease

¹⁵ Amyotrophic Lateral Sclerosis

¹⁶ Tau

¹⁷ α -synuclein

¹⁸ Mitochondrial Transcription Factor A

¹⁹ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

²⁰ Nuclear factor-Kb

²¹ Total antioxidant capacity

²² Protein kinase A

²³ Protein kinase B

²⁴ Antioxidant Response Element

²⁵ Hydroxyl radicals

یافت و سطوح اکسیداسیون ROS افزایش داشت (۴۴). این یافته‌ها نشان می‌دهد RSV از طریق فعال‌سازی مسیر SIRT1/p53 از پیشرفت فروپتوز جلوگیری می‌کند. از دیگر نتایج پژوهش حاضر اثرات ضد فروپتوز ترکیب تمرین و RSV نسبت به هر کدام به تنهایی بیشتر بود. همانطور که اشاره شد تمرین هوازی و هم مصرف RSV می‌تواند بر شاخص‌های موثر بر فروپتوز تاثیر داشته باشد. در پژوهشی نشان داده شد که تمرین و RSV ترکیب این دو باعث افزایش SIRT1 و کاهش بیان P53 در موش‌های مسن می‌شود (۴۵). به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر اثر هم‌افزایی تمرین و مکمل RSV باعث چنین نتایج شده است. از دیگر محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری SIRT1 و P53 اشاره کرد، که می‌توانست درک بهتری از مسیر تاثیرگذاری RSV بر فروپتوز را نشان دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای AD باعث افزایش آهن و کاهش بیان GPX4، Nrf2 و سطح GSH شد. تمرین هوازی و RSV میزان این شاخص‌ها در هیپوکامپ موش‌های AD بهبود بخشید. با این وجود تاثیر همزمان تمرین و RSV بر این عوامل بیشتر از اثر هر یک به تنهایی بود که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی تمرین و مکمل بود. بنابراین با توجه به نتایج پژوهش حاضر، توصیه می‌شود برای بهبود عملکرد هیپوکامپ در بیماری AD از هر دو متغیر تمرین و مکمل RSV استفاده شده تا عملکرد سلولی سیستم عصبی مرکزی کاهش یابد.

همچنین در موش‌های دیابتی نشان داده شده که RSV می‌تواند فروپتوز استئوسیتی^{۲۶} ناشی از التهاب را مهار کند (۴۰). همانطور که قبلاً بیان شده سیگنالینگ NF-κB از مسیرهای اصلی در فروپتوز می‌باشد. NF-κB سیگنالینگ TNF^{۲۷} و همچنین فروپتوز را از طریق سیستم تعدیل کننده سیگنالینگ Xc-/GPX4 تنظیم می‌کند. در تاکید این مسیر سیگنالینگ، لی و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که RSV از طریق تاثیر بر سیگنالینگ NF-κB بر فروپتوز تاثیر دارد (۴۰). نی و همکاران (۲۰۲۳) نیز بیان داشتند که RSV بیان پروتئین‌ها و یون‌های مرتبط با فروپتوز را مهار کرده و عملکرد حرکتی را پس از آسیب نخاعی بهبود می‌بخشد. محققین این پژوهش بیان کردند که RSV فروپتوز را از طریق مسیر Nrf2/GPX4 در سلول‌های عصبی مهار می‌کند (۴۱). علاوه بر این، اثر RSV بر بهبود فروپتوز از مسیر سیگنالینگ SIRT1^{۲۸} است. SIRT1 استیل‌اسیون P53 را کاهش داده تا از پیری سلولی و تصلب شرایین جلوگیری کند (۴۲). مطالعات تایید کردند که p53 با تنظیم بیان SLC7A11، سطوح پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش داد و فروپتوز را القا می‌کند (۴۳). ژانگ و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که RSV با فعال‌سازی SIRT1 منجر به کاهش استیل‌اسیون P53 شده و همچنین میزان بیان GSH و GPX4 را در سلول‌ها افزایش داده و از این مسیر باعث سرکوب فروپتوز می‌شود. در حالی که در موش‌های که بیان SIRT1 مهار شد، میزان GSH و GPX4 کاهش

منابع

- Weiland A, Wang Y, Wu W, Lan X, Han X, Li Q, et al. Ferroptosis and its role in diverse brain diseases. *Molecular neurobiology*. 2019; 56: 4880-93.
- Chen X, Comish PB, Tang D, Kang R. Characteristics and biomarkers of ferroptosis. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2021;9:637162.
- Ayton S, Wang Y, Diouf I, Schneider JA, Brockman J, Morris MC, et al. Brain iron is associated with accelerated cognitive decline in people with Alzheimer pathology. *Molecular psychiatry*. 2020; 25(11): 2932-41.
- Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nature cell biology*. 2014; 16(12): 1180-91.
- Shah R, Shchepinov MS, Pratt DA. Resolving the role of lipoxygenases in the initiation and execution of ferroptosis. *ACS central science*. 2018; 4(3): 387-96.
- Liddell JR, White AR. Nexus between mitochondrial function, iron, copper and glutathione in Parkinson's disease. *Neurochemistry international*. 2018; 117: 126-38.
- Yamamoto M, Kensler TW, Motohashi H. The KEAP1-NRF2 system: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis. *Physiological reviews*. 2018; 98(3): 1169-203.
- Abdalkader M, Lampinen R, Kanninen KM, Malm TM, Liddell JR. Targeting Nrf2 to suppress ferroptosis and mitochondrial dysfunction in neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*. 2018; 12: 466.
- Doll S, Proneth B, Tyurina YY, Panzilius E, Kobayashi S, Ingold I, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nature chemical biology*. 2017; 13(1): 91-8.
- Sofi F, Valecchi D, Bacci D, Abbate R, Gensini GF, Casini A, et al. Physical activity and risk of cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Journal of internal medicine*. 2011; 269(1): 107-17.
- Hortobágyi T, Vetrovsky T, Balbim GM, Silva NCBS, Manca A, Deriu F, et al. The impact of aerobic and resistance training intensity on markers of neuroplasticity in health and disease. *Ageing Research Reviews*. 2022: 101698.

.....
²⁶ Osteocytic ferroptosis

²⁷ Tumor necrosis factor

²⁸ Sirtuin 1

12. Liu T, Cui Y, Dong S, Kong X, Xu X, Wang Y, et al. Treadmill training reduces cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis through activation of SLC7A11/GPX4. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022; 2022.
13. Chen J, Zhu T, Yu D, Yan B, Zhang Y, Jin J, et al. Moderate Intensity of Treadmill Exercise Rescues TBI-Induced Ferroptosis, Neurodegeneration, and Cognitive Impairments via Suppressing STING Pathway. *Molecular Neurobiology*. 2023: 1-25.
14. Bhat KP, Kosmeder JW, Pezzuto JM. Biological effects of resveratrol. *Antioxidants and redox signaling*. 2001;3(6):1041-64.
15. Lin Y-T, Wu Y-C, Sun G-C, Ho C-Y, Wong T-Y, Lin C-H, et al. Effect of Resveratrol on Reactive Oxygen Species-Induced Cognitive Impairment in Rats with Angiotensin II-Induced Early Alzheimer's Disease. *Journal of clinical medicine*. 2018; 7(10): 329.
16. Tellone E, Galtieri A, Russo A, Giardina B, Ficarra S. Resveratrol: a focus on several neurodegenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2015; 2015.
17. Zhang X, Jiang L, Chen H, Wei S, Yao K, Sun X, et al. Resveratrol protected acrolein-induced ferroptosis and insulin secretion dysfunction via ER-stress-related PERK pathway in MIN6 cells. *Toxicology*. 2022; 465: 153048.
18. Yammine A, Zarrouk A, Nury T, Vejux A, Latruffe N, Vervandier-Fasseur D, et al. Prevention by dietary polyphenols (resveratrol, quercetin, apigenin) against 7-ketocholesterol-induced oxiaoptophagy in neuronal N2a cells: Potential interest for the treatment of neurodegenerative and age-related diseases. *Cells*. 2020; 9(11): 2346.
19. Svensson M, Rosvall P, Boza-Serrano A, Andersson E, Lexell J, Deierborg T. Forced treadmill exercise can induce stress and increase neuronal damage in a mouse model of global cerebral ischemia. *Neurobiology of stress*. 2016; 5: 8-18.
20. Shen X, Li A, Zhang Y, Dong X, Shan T, Wu Y, et al. The effect of different intensities of treadmill exercise on cognitive function deficit following a severe controlled cortical impact in rats. *International journal of molecular sciences*. 2013; 14(11): 21598-612.
21. Eslimiesfahani D, Oryan S, Khosravi M, Valizadegan F. Effect of fennel extract on the improvement of memory disorders in beta amyloid alzheimer model of male wistar rats. 2019.
22. Wu C, Yang L, Li Y, Dong Y, Yang B, Tucker LD, et al. Effects of exercise training on anxious-depressive-like behavior in Alzheimer rat. *Medicine and science in sports and exercise*. 2020; 52(7): 1456.
23. Monserrat Hernández-Hernández E, Serrano-García C, Antonio Vázquez-Roque R, Díaz A, Monroy E, Rodríguez-Moreno A, et al. Chronic administration of resveratrol prevents morphological changes in prefrontal cortex and hippocampus of aged rats. *Synapse*. 2016; 70(5): 206-17.
24. Zhao H, Li N, Wang Q, Cheng X, Li X, Liu T. Resveratrol decreases the insoluble Aβ1-42 level in hippocampus and protects the integrity of the blood-brain barrier in AD rats. *Neuroscience*. 2015; 310: 641-9.
25. Ellmann G. Quantitative determination of peptides by sulfhydryl (-SH) groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959; 82(1): 70-7.
26. Bao W-D, Pang P, Zhou X-T, Hu F, Xiong W, Chen K, et al. Loss of ferroportin induces memory impairment by promoting ferroptosis in Alzheimer's disease. *Cell Death & Differentiation*. 2021; 28(5): 1548-62.
27. Li L-B, Chai R, Zhang S, Xu S-F, Zhang Y-H, Li H-L, et al. Iron exposure and the cellular mechanisms linked to neuron degeneration in adult mice. *Cells*. 2019;8(2):198.
28. Ashraf A, So P-W. Spotlight on ferroptosis: iron-dependent cell death in Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience*. 2020:196.
29. Zhang G, Zhang Y, Shen Y, Wang Y, Zhao M, Sun L. The potential role of ferroptosis in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2021;80(3):907-25.
30. Wang C, Chen S, Guo H, Jiang H, Liu H, Fu H, et al. Forsythoside a mitigates alzheimer's-like pathology by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation via Nrf2/GPX4 axis activation. *International Journal of Biological Sciences*. 2022;18(5):2075.
31. Panes JD, Godoy PA, Silva-Grecchi T, Celis MT, Ramirez-Molina O, Gavilan J, et al. Changes in PGC-1α/SIRT1 signaling impact on mitochondrial homeostasis in amyloid-beta peptide toxicity model. *Frontiers in pharmacology*. 2020;11:709.
32. Yan H-f, Zou T, Tuo Q-z, Xu S, Li H, Belaidi AA, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal transduction and targeted therapy*. 2021;6(1):49.
33. Qu Z, Sun J, Zhang W, Yu J, Zhuang C. Transcription factor NRF2 as a promising therapeutic target for Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020;159:87-102.
34. Aboudeya HM, Michel TN, Attia MM, Abdou AS. Neuroprotective effect of Exercise on Alzheimer's disease in rats: Role of Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (NRF2). *Bulletin of Egyptian Society for Physiological Sciences*. 2021;41(3):331-43.
35. Zare M, Nayeibifar S, Aminizadeh S, Vahidian

Rezazadeh M. The Effects of Six Weeks of Endurance Training and CGRP Inhibition on Nrf2 and AKT Expression in the Hippocampal Tissue of Male Wistar Rats. *Mediators of Inflammation*. 2022;2022.

36. Xia B, Liu H, Xie J, Wu R, Li Y. Akt enhances nerve growth factor-induced axon growth via activating the Nrf2/ARE pathway. *International journal of molecular medicine*. 2015;36(5):1426-32.

37. Abshenas R, Artimani T, Amiri I, Shahidi S, Najafi R, Soleimani Asl S. Effects of treadmill exercise and preconditioned bone marrow- derived mesenchymal stem cells transplantation on A β -induced neurotoxicity in male rats. *Koomesh journal*. 1399;22(2):325-33.

38. Hirata Y, Tsunekawa Y, Takahashi M, Oh-Hashi K, Kawaguchi K, Hayazaki M, et al. Identification of novel neuroprotective N, N-dimethylaniline derivatives that prevent oxytosis/ferroptosis and localize to late endosomes and lysosomes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2021;174:225-35.

39. Kato K, Takahashi M, Oh-Hashi K, Ando K, Hirata Y. Quercetin and resveratrol inhibit ferroptosis independently of Nrf2-ARE activation in mouse hippocampal HT22 cells. *Food and Chemical Toxicology*. 2023;172:113586.

40. Li Y, Huang Z, Pan S, Feng Y, He H, Cheng S, et al. Resveratrol Alleviates Diabetic Periodontitis-Induced Alveolar Osteocyte Ferroptosis Possibly via Regulation of SLC7A11/GPX4. *Nutrients*. 2023;15(9):2115.

41. Ni C, Ye Q, Mi X, Jiao D, Zhang S, Cheng R, et al. Resveratrol inhibits ferroptosis via activating NRF2/GPX4 pathway in mice with spinal cord injury. *Microscopy Research and Technique*. 2023.

42. Yan P, Li Z, Xiong J, Geng Z, Wei W, Zhang Y, et al. LARP7 ameliorates cellular senescence and aging by allosterically enhancing SIRT1 deacetylase activity. *Cell Reports*. 2021;37(8).

43. Jiang L, Kon N, Li T, Wang S-J, Su T, Hibshoosh H, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression. *Nature*. 2015;520(7545):57-62.

44. Wei Z, Shaohuan Q, Bi T, Heng Z, Chao S. Resveratrol inhibits ferroptosis and decelerates heart failure progression via Sirt1/p53 pathway activation. 2023.

45. Liao Z-Y, Chen J-L, Xiao M-H, Sun Y, Zhao Y-X, Pu D, et al. The effect of exercise, resveratrol or their combination on Sarcopenia in aged rats via regulation of AMPK/Sirt1 pathway. *Experimental Gerontology*. 2017;98:177-83.