



اثر ضد اضطرابی آلفالینولئیک اسید در موش‌های صحرایی مدل آلزایمر با افزایش بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز، میانجی‌گری می‌شود

نهایه توفیقی^۱، معصومه اصل‌روستا^{۲*}، مهدی رهنما^۳، رحیم امینی^۴

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۳۰، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۷

چکیده

مقدمه: یکی از شاخصه‌های بیماری آلزایمر، رسوب پپتید آمیلوئیدبتا (A β) در مغز است. A β علاوه بر پیدایش استرس اکسیداتیو و التهاب، بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) را کاهش می‌دهد و حتی قبل از مختل نمودن حافظه، اختلالات رفتاری نظیر اضطراب را ایجاد می‌کند. آلفالینولئیک‌اسید یک اسیدچرب غیراشباع امگا-۳ است که اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و نوروپروتکتیو دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر آلفالینولئیک‌اسید بر اضطراب القا شده توسط A β ₁₋₄₂ و نقش احتمالی BDNF در این اثر انجام شد.

مواد و روش‌ها: رت‌های نر نژاد ویستار به چهار گروه کنترل، آلفالینولئیک‌اسید، آمیلوئیدبتا و آمیلوئیدبتا-آلفالینولئیک‌اسید تقسیم شدند. پس از تزریق درون هیپوکامپی A β ₁₋₄₂ حیوانات به مدت ۱۴ روز متوالی، آلفالینولئیک‌اسید را با دوز ۱۵۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ به صورت زیرپوستی دریافت کردند. در پایان دوره، رفتار اضطرابی حیوانات با استفاده از ماز به‌علاوه مرتفع ارزیابی شد و بیان mRNA BDNF در هیپوکامپ نیز توسط real time PCR سنجیده شد. سطح معنی‌داری آماری اختلاف بین گروه‌ها، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: در آزمون ماز به‌علاوه مرتفع، آلفالینولئیک‌اسید موجب افزایش چشمگیر درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در بازوی باز در رت‌های دریافت‌کننده A β ₁₋₄₂ شد ($P < ۰/۰۰۱$). آلفالینولئیک‌اسید، بیان mRNA BDNF را نیز در هیپوکامپ این حیوانات افزایش داد ($P < ۰/۰۰۵$). **نتیجه‌گیری:** براساس نتایج مطالعه، آلفالینولئیک‌اسید در رت‌های مدل آلزایمر اثر ضد اضطرابی دارد و این اثر، تا حد زیادی از طریق افزایش BDNF اعمال می‌شود. همچنین احتمالاً آلفالینولئیک‌اسید در کاهش نورودژنراسیون مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آلفالینولئیک‌اسید، اضطراب، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز، پپتید آمیلوئیدبتا.

*نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران، تلفن: ۰۹۱۲-۵۶۰۶۲۲۷، شماره: ۰۲۴۳۳۴۶۰۴۶۳، Email: mrousta58@gmail.com

ارجاع: توفیقی نهایه، اصل‌روستا معصومه، رهنما مهدی، امینی رحیم. اثر ضد اضطرابی آلفالینولئیک‌اسید در موش‌های صحرایی مدل آلزایمر با افزایش بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز، میانجی‌گری می‌شود. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۰؛ ۱۶(۳): ۹-۱۴.

مقدمه

آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو و مهم‌ترین عامل فراموشی در جمعیت قابل توجهی از سالمندان است. رسوب پلاک‌های آمیلوئیدی و تشکیل کلافه‌های نوروفیبریل در مغز، از ویژگی‌های بارز این بیماری است. پلاک‌های آمیلوئیدی از پپتید آمیلوئیدبتا ($A\beta$) تشکیل شده‌اند. این پپتید، انواع مختلفی داشته و پس از فیبریل شدن و تجمع یافتن، در فضای خارج سلولی رسوب می‌کند. $A\beta$ 1-42 بیشترین سمیت را در بین انواع این مولکول دارد (۱ و ۲) و نقش مهمی را در استرس اکسیداتیو و نورودژنراسیون موجود در بیماری آلزایمر ایفا می‌کند (۳). از سوی دیگر، $A\beta$ به‌عنوان القاکننده‌ی فعالیت میکروگلیا شناخته شده و موجب پیدایش التهاب عصبی در مغز می‌شود (۴). الیگومرهای $A\beta$ بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) را در مغز کاهش می‌دهند (۵). تضعیف سیگنالینگ فاکتور رشد عصبی و BDNF در هیپوکامپ، محرکی برای آمیلوئیدوژنز است (۶) و این سیکل معیوب ادامه پیدا می‌کند. از سوی دیگر، استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و کاهش فاکتورهای نوروتروفیک، به پیدایش اختلالات رفتاری نظیر اضطراب منجر می‌شود (۷ و ۸) به‌طوری که کاهش BDNF را می‌توان به‌عنوان یک بیومارکر برای پیدایش اضطراب در نظر گرفت (۹). رسوب $A\beta$ در انسان، قبل از تخریب حافظه، رفتارهای اضطرابی را ایجاد می‌کند و به همین علت پیشنهاد شده که اگر از بروز اضطراب ناشی از $A\beta$ جلوگیری شود، نقص حافظه را نیز می‌توان به تأخیر انداخت (۱۰).

آلفالینولتیک اسید یک اسیدچرب غیراشباع امگا-۳ است که در منابع گیاهی مختلفی نظیر گردو، سویا، روغن تخم کتان و غیره وجود دارد (۱۱). آلفالینولتیک اسید می‌تواند استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی را مهار کند و اثر نوروپروتکتیو دارد (۱۲ و ۱۳). ثابت شده که اسیدهای چرب غیراشباع نظیر آلفالینولتیک اسید از فیبریلوژنز $A\beta$ 1-42 نیز جلوگیری می‌کنند (۱۴). بر این اساس، این فرض به وجود آمد که آلفالینولتیک اسید ممکن است از بروز رفتارهای اضطرابی در رت‌های مدل بیماری آلزایمر ممانعت کند. در مطالعه‌ی حاضر، اثر آلفالینولتیک اسید را بر اضطراب القا شده توسط $A\beta$ 1-42 در رت‌ها بررسی نموده و نقش احتمالی BDNF را نیز مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی در مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان انجام شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان به تصویب رسید (کد IR.IAU.Z.REC.1399.073). ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار به وزن ۲۲۰-۲۵۰ گرم در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۳-۲۵ درجه

سانتی‌گراد، ۱۲/۱۲ ساعت طول دوره روشنایی و تاریکی و دسترسی آسان به آب و غذا) نگهداری شدند.

رت‌ها به چهار گروه (هر گروه ۱۰ سر) تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل (C): در این رت‌ها، طی جراحی استریوتاکسی، حلال $A\beta$ 1-42 (بافر فسفات سالین) به‌صورت درون هیپوکامپی تزریق شد.

۲- گروه لینولتیک اسید (LA): حیواناتی که آلفالینولتیک اسید را با دوز $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ به‌صورت زیر پوستی و به‌مدت ۱۴ روز دریافت کردند (۱۵).

۳- گروه آمیلوئیدبتا ($A\beta$): در این حیوانات، $A\beta$ 1-42 به‌صورت درون هیپوکامپی و دوطرفه به مقدار ۴ میکروگرم به هر طرف تزریق شد (۱۶).

۴- گروه آمیلوئیدبتا-لینولتیک اسید ($A\beta$ -LA): علاوه بر تزریق آمیلوئیدبتا، آلفالینولتیک اسید را نیز به‌مدت ۱۴ روز دریافت کردند.

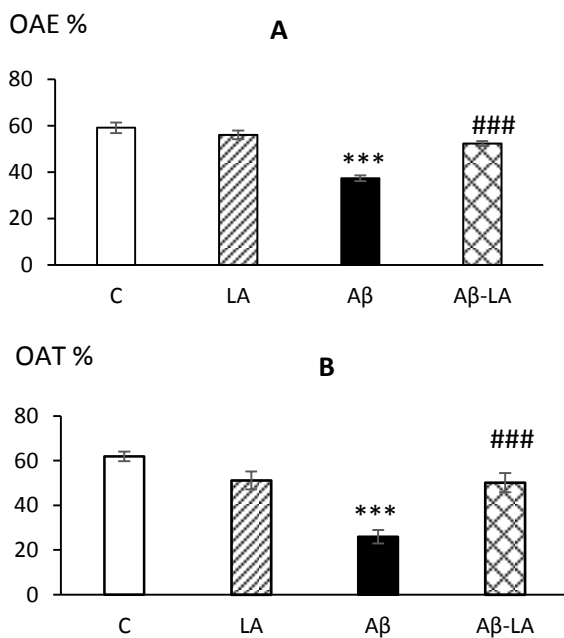
$A\beta$ 1-42 در بافر فسفات سالین ($2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) حل شده و به‌مدت یک هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس تا زمان تزریق در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. آلفالینولتیک اسید نیز در روغن زیتون ($1 \mu\text{g}/2 \mu\text{l}$) حل شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای جراحی، ابتدا رت‌ها را توسط کلرال هیدرات ($400 \text{ mg}/\text{kg}$) بیهوش کرده و در استریوتاکس قرار دادیم. مختصات نقطه تزریق توسط اطلس مغز رت تعیین شد (۱۷). مختصات محل تزریق عبارت بود از: AP: -3.84 mm, L: $\pm 2.2 \text{ mm}$, V: 2.5 mm. تزریق $A\beta$ 1-42 یا حلال آن توسط سرنگ همیلتون انجام گرفت و سوزن به‌مدت ۲ دقیقه پس از تزریق در محل تزریق باقی ماند.

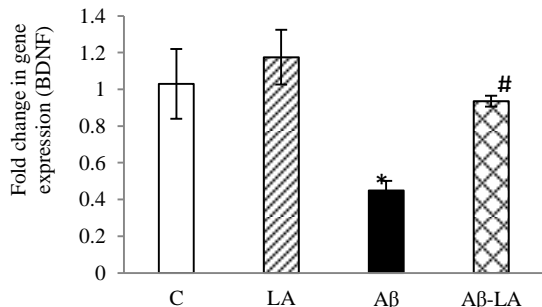
در پایان دوره‌ی ۱۴ روزه، آزمون ماز به‌علاوه‌ی مرتفع برای بررسی رفتارهای اضطرابی مورد استفاده قرار گرفت. ماز از دو بازوی باز بدون دیواره و دو بازوی بسته با دیواری به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر تشکیل شده است و در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین قرار دارد. لامپ کم نوری در اتاق تست به‌عنوان منبع روشنایی در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری تعبیه می‌شود. در این آزمون، هر حیوان یک بار در مربع میانی به سمت بازوی باز قرار گرفته و ۵ دقیقه در بازوها حرکت کرد. تعداد ورود به بازوها و زمان سپری شده در آنها ثبت شد. در نهایت، مجموع تعداد ورود به بازوها، درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان سپری شده در بازوی باز محاسبه شد (۱۸).

پس از ارزیابی رفتار اضطرابی، حیوانات با استنشاق CO_2 بیهوش شده و پس از جدا شدن سر توسط گیوتین، هیپوکامپ آنها (۵ رت از هر گروه) برای تعیین سطح بیان mRNA بDNF برداشته شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. استخراج RNA از بافت

رتها مجموع ورود به بازوها در بین گروه‌های مختلف مقایسه شد و اختلاف معنی‌داری در این زمینه مشاهده نشد. تزریق $A\beta_{1-42}$ باعث کاهش معنی‌دار بیان BDNF در هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0.05$) و تیمار ۱۴ روزهی آلفالینولئیک‌اسید توانست بیان این فاکتور نوروتروفیک را در رت‌های دریافت‌کنندهی آمیلوئیدتا به‌طور معنی‌داری افزایش دهد ($P < 0.05$) (نمودار ۲). بیان BDNF در گروه لینولئیک‌اسید تفاوت معنی‌داری با کنترل نداشت.



شکل ۱- اثر آلفالینولئیک‌اسید بر سطح اضطراب رت‌های دریافت‌کنندهی $A\beta_{1-42}$ که با استفاده از ماز به‌علاوهی مرتفع سنجش شد. نتایج حاصل از A. درصد ورود به بازوی باز (OAE) و B. درصد زمان ماندن در بازوی باز (OAT) نمایش داده شده است. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار ارایه شده و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد. $P < 0.001$ *** در مقایسه با در مقایسه با گروه کنترل (C) و $P < 0.001$ ### در مقایسه با گروه Aβ.



شکل ۲- اثر آلفالینولئیک‌اسید بر بیان BDNF در رت‌های دریافت‌کنندهی $A\beta_{1-42}$

فریز شده با کیت استخراج GeneAll (Seoul, Korea) انجام گرفت، غلظت و کیفیت RNA با اسپکتروفتومتر در ۲۶۰ nm و همچنین نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ سنجیده شد، سپس ۱ μg از RNA هر نمونه برای سنتز cDNA با استفاده از کیت مخصوص ExcelRTTM (SMOBIO, Taiwan) استفاده شد. واکنش real time PCR با دستگاه real time PCR مدل Applied ABI StepOnePlus (Applied Biosystems, USA) انجام شد، برنامه‌ی زمانی- دمایی دستگاه در سه مرحله تنظیم شد: مرحله اول که منجر به دناتوره شدن DNA الگو و فعال شدن آنزیم پلیمرز شد، در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۵ ثانیه انجام گرفت. در مرحله‌ی دوم، واکنش تکثیر DNA با ۴۰ سیکل و با دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه انجام شد و مرحله‌ی پایانی برای ترسیم منحنی تفکیک با دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. واکنش‌های real time PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به‌صورت دو تکرار در پلیت‌های ۹۶ چاهکی شرکت ABI انجام شد و در این مطالعه از ژن Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد و کمی کردن داده‌ها (نسبت بیان ژن موردنظر به ژن مرجع) با روش $-\Delta\Delta\text{CT}$ انجام گرفت. پرایمرها نیز از شرکت Bioneer که طبق جدول ۱ سفارش داده شد (۱۹ و ۲۰).

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای بررسی بیان ژن‌ها

ژن	پرایمر
BDNF	Forward: CATAAGGACGCGGACTTGAC
	Reverse: AGCAGAGGAGGCTCCAAAGG
GAPDH	Forward: GCTACACTGAGGACCAAGTTGTCT
	Reverse: CCCAGCATCAAAGGTGGAA

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (IBM SPSS Statistics 26.0) به صورت میانگین \pm انحراف معیار جمع‌آوری شده و از روش‌های آماری مناسب نظیر ANOVA یک‌طرفه و تست Tukey و LSD استفاده شد. $P < 0.05$ ملاک معنی‌داری اختلاف بین گروه‌ها قرار گرفت.

نتایج

برای سنجش اضطراب، درصد ورود به بازوی باز (OAE) و درصد زمان ماندن در بازوی باز (OAT) محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده، بیانگر پیدایش اضطراب در گروه Aβ است زیرا درصد OAE و OAT در این گروه در مقایسه با کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.001$) و مصرف آلفالینولئیک‌اسید موجب افزایش معنی‌دار هر دو فاکتور در رت‌های دریافت‌کنندهی $A\beta_{1-42}$ شد ($P < 0.001$). این فاکتورها در گروه لینولئیک‌اسید تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشتند (نمودار ۱). برای بررسی اثر احتمالی داروها بر فعالیت حرکتی

شبه اضطرابی در موش‌های مواجه شده با استرس هیپوکسی می‌شود (۲۷). بنابراین احتمال دارد تغییر بیان BDNF در مطالعه‌ی ما نیز در کاهش رفتارهای اضطرابی ناشی از $A\beta$ 1-42 توسط آلفالینولئیک اسید دخالت داشته است.

در مجموع نتیجه‌گیری می‌شود که تیمار آلفالینولئیک اسید، رفتار اضطرابی را در رت‌های مدل بیماری آلزایمر (القا شده توسط $A\beta$ 1-42) کاهش می‌دهد و حداقل بخشی از این اثر به واسطه‌ی افزایش بیان BDNF در هیپوکامپ این حیوانات است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری ارزشمند خانم نگین محمدی در انجام جراحی استریوتاکس قدردانی می‌کنند.

References

- Weller J, Budson A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Research*. 2018;7. doi: 10.12688/f1000research.14506.1
- Long JM, Holtzman DM. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*. 2019;179:312-39. doi: 10.1016/j.cell.2019.09.001
- Butterfield DA, Boyd-Kimball D. Amyloid β -Peptide (1-42) Contributes to the Oxidative Stress and Neurodegeneration Found in Alzheimer Disease Brain. *Brain Pathology*. 2004;14:426-32. doi: 10.1111/j.1750-3639.2004.tb00087.x
- Cai Z, Hussain MD, Yan LJ. Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *International Journal of Neuroscience*. 2014;124:307-21. doi: 10.3109/00207454.2013.833510
- Sen A, Nelson TJ, Alkon DL. ApoE4 and $A\beta$ oligomers reduce BDNF expression via HDAC nuclear translocation. *Journal of Neuroscience*. 2015;35:7538-51. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0260-15.2015
- Matrone C, Ciotti MT, Mercanti D, Marolda R, Calissano P. NGF and BDNF signaling control amyloidogenic route and $A\beta$ production in hippocampal neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105:13139-44. doi: 10.1073/pnas.0806133105
- Salim S, Asghar M, Taneja M, Hovatta I, Chugh G, Vollert C, et al. Potential contribution of oxidative stress and inflammation to anxiety and hypertension. *Brain research*. 2011;1404:63-71. doi: 10.1016/j.brainres.2011.06.024
- Hritcu L, Gorgan LD. Intraneuronal lipopolysaccharide induced anxiety and depression by altered BDNF mRNA expression in rat hippocampus. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*. 2014;51:126-32. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.016
- Suliman S, Hemmings SM, Seedat S. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein levels in anxiety disorders: systematic review and meta-regression analysis. *Frontiers in integrative neuroscience*. 2013;7:55. doi: 10.3389/fmint.2013.00055
- Pietrzak RH, Scott JC, Neumeister A, Lim YY, Ames D, Ellis KA, et al. Anxiety symptoms, cerebral amyloid burden and memory decline in healthy older adults without dementia: 3-year prospective cohort study. *The British Journal of Psychiatry*. 2014;204:400-1. doi: 10.1192/bjp.bp.113.134239
- Whelan J, Fritsche K. Linoleic acid. *Advances in nutrition*. 2013;4:311-2. doi: 10.3945/an.113.003772
- Eftekhari MH, Aliasghari F, Babaei-Beigi MA, Hasanzadeh J. Effect of conjugated linoleic acid and omega-3 fatty acid supplementation on inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerotic patients. *ARYA atherosclerosis*. 2013;9:311-8.

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است و ۵ سر رت در هر گروه قرار دارد. $P < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل (C) و $P < 0.05$ در مقایسه با گروه $A\beta$.

بحث

در این تحقیق به دنبال تزریق درون هیپوکامپی $A\beta$ 1-42 رفتارهای اضطرابی در رت‌های نر ظاهر شد و بیان BDNF نیز در هیپوکامپ این حیوانات در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. این نتایج با گزارش‌های پیشین مبنی بر ایجاد اضطراب و کاهش فاکتورهای نوروتروفیک در موش‌های مدل آلزایمر (القا شده توسط $A\beta$) همسو می‌باشد (۲۱ و ۲۲).

تیمار ۱۴ روزه‌ی آلفالینولئیک اسید موجب بهبود عملکرد موش‌های مدل آلزایمر در ماز به علاوه مرتفع شد بنابراین آلفالینولئیک اسید توانست اضطراب را در این حیوانات کاهش دهد. براساس گزارش کلوارد و همکاران (۲۰۱۵)، رژیم غذایی حاوی لینولئیک اسید (به مقدار کم) و آلفالینولئیک اسید (به مقدار زیاد) پس از چهار هفته باعث کاهش رفتارهای اضطرابی در خوک‌ها می‌شود (۲۳). همچنین تیمار آلفالینولئیک اسید موجب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی ناشی از ضربه‌ی کنترل شده‌ی قشری در موش‌ها شده، از کاهش اینترنورون‌های گاباژئیک در هسته بازولترال جلوگیری می‌کند و جریان‌های پس‌سیناپسی ایجاد شده توسط گیرنده GABA_A را افزایش می‌دهد (۲۴) و می‌دانیم که تضعیف گیرنده‌ی مذکور نقش اساسی در پیدایش اضطراب دارد (۲۵). باتوجه به این که استرس اکسیداتیو و التهاب نیز در ایجاد رفتارهای اضطرابی نقش دارند (۷) دلایل دیگری نظیر مهار استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی را هم می‌توان برای اثر ضد اضطرابی آلفالینولئیک اسید در نظر گرفت. به طور مثال، طبق گزارش Ali و همکاران (۲۰۲۰) تیمار خوراکی آلفالینولئیک اسید (۶۰ mg/kg) به مدت ۶ هفته موجب کاهش آمیلوئیدوز و کاهش بیان فاکتورهای التهابی در هیپوکامپ و کورتکس موش‌های سوری آلزایمری شده با $A\beta$ 1-42 می‌شود (۱۳). علاوه بر این، مصرف آلفالینولئیک اسید (۱۹۲۰ میلی‌گرم در روز به مدت دو ماه متوالی) موجب افزایش فعالیت گلوکوکورتیکوئیدها و کاهش سطح مالون‌دی‌الدهید در خون بیماران مبتلا به آترواسکلروز می‌شود بنابراین استرس اکسیداتیو را در این بیماران کاهش می‌دهد (۱۲).

نتایج حاصل از real time PCR نشان داد بیان BDNF در گروه بتامیلوئید- آلفالینولئیک اسید در مقایسه با گروه $A\beta$ افزایش یافت. در تأیید نتایج ما، طی یک مطالعه‌ی انسانی ثابت شد که پس از مصرف یک هفته‌ای ۵۰۰ میلی‌گرم آلفالینولئیک اسید، سطح BDNF در پلاسمای زنان و مردان افزایش می‌یابد (۲۶). همچنین کاهش بیان NF- κ B و به دنبال آن افزایش بیان BDNF موجب کاهش رفتارهای

13. Ali W, Ikram M, Park HY, Jo MG, Ullah R, Ahmad S, et al. Oral administration of alpha linoleic acid rescues A β -induced Glia-mediated neuroinflammation and cognitive dysfunction in C57BL/6N mice. *Cells*. 2020;9:667. doi: 10.3390/cells9030667
14. El Shatshat A, Pham AT, Rao PP. Interactions of polyunsaturated fatty acids with amyloid peptides A β 40 and A β 42. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2019;663:34-43. doi: 10.1016/j.abb.2018.12.027
15. Ngala EM, Ninsiima HI, Valladares MB, Anatole PC. Zinc and Linoleic Acid Protect Against Behavioural Deficits In Rat Model Of Parkinsonism Induced With Rotenone. *African Journal of Biomedical Research*. 2020;23:247-54.
16. Liu H, Li S, Yang C, Jia H, Gu Z, Tu X, et al. D-serine Ameliorates Motor and Cognitive Impairments in β -amyloid 1-42 Injected Mice by Inhibiting JNK Signaling Pathway. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2020;109:101852. doi:10.1016/j.jchemneu.2020.101852
17. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates: Hard cover edition. Elsevier; 2006.
18. Raman S, Asle-Rousta M, Rahnema M. Protective effect of fennel, and its major component trans-anethole against social isolation induced behavioral deficits in rats. *Physiology International* 2020;107:30-9. doi:10.1556/2060.2020.00012
19. Yu HM, Wang Q, Sun WB. Silencing of FKBP51 alleviates the mechanical pain threshold, inhibits DRG inflammatory factors and pain mediators through the NF-kappaB signaling pathway. *Gene* 2017;627:169-75. doi:10.1016/j.gene.2017.06.029
20. Amini R, Asle-Rousta M, Aghazadeh S. Hepatoprotective effect of limonene against chronic immobilization induced liver damage in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 2020;393:2053-9. doi:10.1007/s00210-020-01915-0
21. Song X, Liu B, Cui L, Zhou B, Liu W, Xu F, et al. Silibinin ameliorates anxiety/depression-like behaviors in amyloid β -treated rats by upregulating BDNF/TrkB pathway and attenuating autophagy in hippocampus. *Physiology & Behavior* 2017;179:487-93. doi:10.1016/j.physbeh.2017.07.023
22. Sharma S, Sharma N, Saini A, Nehru B. Carbenoxolone reverses the amyloid beta 1–42 oligomer-induced oxidative damage and anxiety-related behavior in rats. *Neurotoxicity Research* 2019;35:654-67. doi:10.1007/s12640-018-9975-2
23. Clouard C, Gerrits WJ, van Kerkhof I, Smink W, Bolhuis JE. Dietary linoleic and α -linolenic acids affect anxiety-related responses and exploratory activity in growing pigs. *The Journal of Nutrition* 2015;145:358-64. doi:10.3945/jn.114.199448
24. Figueiredo TH, Harbert CL, Pidoplichko V, Almeida-Suhett CP, Pan H, Rossetti K, et al. Alpha-linolenic acid treatment reduces the contusion and prevents the development of anxiety-like behavior induced by a mild traumatic brain injury in rats. *Molecular Neurobiology* 2018;55:187-200. doi:10.1007/s12035-017-0732-y
25. Sanders SK, Shekhar A. Regulation of anxiety by GABAA receptors in the rat amygdala. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1995;52:701-6. doi:10.1016/0091-3057(95)00153-N
26. Hadjighassem M, Kamalidehghan B, Shekarriz N, Baseerat A, Molavi N, Mehrpour M, et al. Oral consumption of α -linolenic acid increases serum BDNF levels in healthy adult humans. *Nutrition Journal* 2015;14:1-5. doi:10.1186/s12937-015-0012-5
27. Olugbemide AS, Ben-Azu B, Bakre AG, Ajayi AM, Femi-Akinlosotu O, Umukoro S. Naringenin improves depressive-and anxiety-like behaviors in mice exposed to repeated hypoxic stress through modulation of oxido-inflammatory mediators and NF-kB/BDNF expressions. *Brain Research Bulletin* 2021;169:214-27. doi:10.1016/j.brainresbull.2020.12.003



The Anxiolytic Effect of Alpha-Linoleic Acid in Alzheimer's Disease Model Rats is Mediated by Enhanced Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression

Nahaleh Tofighi (Ph.D. Student)¹, Masoumeh Asle-Rousta (Ph.D.)^{1*}, Mehdi Rahnema (Ph.D.)¹, Rahim Amini (Ph.D.)²

1- Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

2- Department of Biology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Received: 20 May 2021, Accepted: 27 September 2021

Abstract:

Introduction: The deposition of amyloid beta peptide (A β) in the brain is one of the hallmarks of Alzheimer's disease. In addition to inducing oxidative stress and inflammation, beta-amyloid reduces the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and causes behavioral disorders such as anxiety even before memory impairment. Alpha-linoleic acid is an omega-3 unsaturated fatty acid that has antioxidant, anti-inflammatory, and neuroprotective effects. This study aimed to investigate the effect of alpha-linoleic acid on anxiety induced by A β 1-42 and examined the possible role of BDNF in this effect.

Methods: Male Wistar rats were divided into four groups included control, alpha-linoleic acid, A β , and A β -alpha-linoleic acid. After intra-hippocampal injection of A β 1-42, the animals received alpha-linoleic acid subcutaneously at a dose of 150 μ g/kg. At the end of the course, the anxious behavior of the animals was assessed using an elevated plus-plus maze test and BDNF mRNA expression in the hippocampus was measured by real-time PCR. The significant level was set at 0.05.

Results: In the elevated plus-maze test, alpha-linoleic acid significantly increased the percentage of open arm entry and the percentage of time spent in open arm in rats receiving A β 1-42 ($P < 0.001$). Alpha-linoleic acid also increased BDNF mRNA expression in the hippocampus of these animals ($P < 0.05$).

Conclusion: Based on the results of the study, alpha-linoleic acid has an anxiolytic effect in Alzheimer's disease model rats, and this effect is largely exerted by an increase in BDNF. Alpha-linoleic acid may be effective in reducing neurodegeneration.

Keywords: Alpha-linoleic acid, Anxiety, Brain-derived neurotrophic factor, Amyloid beta peptide.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** M. Asle-Rousta, **Email:** mrousta58@gmail.com

Citation: Tofighi N, Asle-Rousta M, Rahnema M, Amini R. The anxiolytic effect of alpha-linoleic acid in alzheimer's disease model rats is mediated by enhanced brain-derived neurotrophic factor expression. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2021;16(3):9-14.