

The synergistic effect of physical activity in an enriched environment and ursolic acid supplementation on improving the oxidative stress index SOD/MDA in the serum of aged male rats

Fariba Yousefi¹ - Foad Feizolahi^{*2} - Amir Sarshin³ - Alireza Rahimi⁴

1.Ph.D. Student, Department of Exercise Physiology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran 2,3.Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran 4.Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

(Received:2025/10/16; Accepted:2026/06/13)

Abstract

Oxidative stress is the result of an imbalance between the production of free radicals and their scavenging systems and has been proposed as one of the hypotheses of aging. In the present study, the effect of simultaneous administration of physical activity in an enriched environment and ursolic acid supplementation on the SOD to MDA ratio in aged male rats was investigated. In this experimental study, 20 male Wistar rats (18–20 months old and weighing 320–350 g) were divided into 4 groups including solvent group, supplement group (ursolic acid gavage, 250 mg/kg body weight, 5 days per week), activity group (activity duration of 4 weeks, 5 sessions per week, each session of 30 minutes in an enriched environment), and activity supplement group. Two-way analysis of variance was used to examine the data. All calculations were analyzed using SPSS27 software ($p \geq 0.05$). There was no significant interaction between interventions for the MDA variable, but there was a significant interaction for SOD and the SOD to MDA ratio. In general, the SOD/MDA ratio increased with supplementation and physical activity. Perhaps simultaneous administration of ursolic acid supplementation and regular voluntary physical activity in an enriched environment in aging can increase the amount of antioxidants and reduce oxidative stress, ultimately improving SOD/MDA.

Keywords

Aging, MDA, Physical Activity, SOD, Ursolic Acid.

* Corresponding Author, E-Mail: foad.feizolahi@iau.ir

اثر هم‌افزایی فعالیت بدنی در محیط غنی‌سازی شده و مصرف مکمل اورسولیک اسید بر بهبود شاخص استرس اکسایشی SOD/MDA در سرم موش‌های صحرایی نر پیر

فریبا یوسفی^۱ - فواد فیض‌الهی^{۲*} - امیر سرشین^۳ - علیرضا رحیمی^۴

۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران ۲ و ۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران ۴. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۲۵، تاریخ تصویب: ۱۴۰۵/۰۳/۲۲)

چکیده

استرس اکسایشی نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های پاکسازی‌کننده آن است و به‌عنوان یکی از فرضیه‌های سالمندی مطرح بوده است. در مطالعه حاضر به بررسی اثر تجویز هم‌زمان فعالیت بدنی در محیط غنی‌سازی شده و مکمل اورسولیک اسید بر نسبت SOD به MDA در موش‌های صحرایی نر پیر پرداخته شد. در این پژوهش تجربی، تعداد ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۱۸-۲۰ ماهه) و محدوده وزنی ۳۵۰-۳۲۰ گرم به ۴ گروه شامل گروه حلال، گروه مکمل گاواژ اورسولیک اسید، ۲۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، ۵ روز در هفته، گروه فعالیت (مدت‌زمان فعالیت چهار هفته، پنج جلسه در هر هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه در محیط غنی‌سازی شده) و گروه مکمل+فعالیت تقسیم شدند. از آزمون تحلیل واریانس دو راهه جهت بررسی داده‌ها استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS27 در سطح $P < 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. کاهش معنی‌داری بین مداخلات در مورد متغیر MDA وجود نداشت، اما در مورد SOD و نسبت SOD به MDA تعامل معنی‌دار بود و به‌طور کلی با مصرف مکمل و فعالیت بدنی، نسبت $\frac{SOD}{MDA}$ افزایش یافت. شاید تجویز هم‌زمان مکمل اورسولیک اسید و فعالیت بدنی داوطلبانه و منظم در محیط غنی‌سازی شده در پیری بتواند باعث افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش استرس اکسایشی شده و نهایتاً $\frac{SOD}{MDA}$ بهتر شود.

واژه‌های کلیدی:

SOD، MDA، اورسولیک اسید، پیری، فعالیت بدنی.

مقدمه

لیپید با اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA) صورت می‌گیرد (۵). مطالعات نشان داده‌اند که سطوح MDA با افزایش سن به‌طور معناداری افزایش می‌یابد و این افزایش با تشدید آسیب‌های اکسیداتیو و افزایش خطر بیماری‌های مرتبط با سالمندی همراه است (۶). از طرفی، سوپراکساید دیسموتاز (SOD) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون سلولی، نقش کلیدی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد سوپراکسید و حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ایفا می‌کند. کاهش فعالیت SOD در سالمندان با افزایش حساسیت به بیماری‌های مزمن، التهاب سیستمیک و کاهش ظرفیت عملکردی همراه است و بررسی وضعیت این آنزیم در کنار MDA می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در مورد وضعیت تعادل اکسیداتیو و طراحی استراتژی‌های پیشگیرانه و درمانی در جمعیت سالمند فراهم آورد (۶).

امروزه روش‌های مختلفی در جهت کاهش استرس اکسایشی و پیامدهای حاصل از آن مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از این روش‌ها استفاده از داروهای گیاهی و عصاره‌های موجود در برخی مواد طبیعی از جمله اورسولیک اسید است. اورسولیک اسید، یک ترکیب تری ترپنوئیدی پنج حلقه‌ای است که به‌طور طبیعی در محصولات غذایی مانند سیب، ریحان، رزماری و همچنین در بیش از ۱۲۰ گونه گیاهی وجود دارد که از آن‌ها به‌عنوان گیاهان دارویی در فرمولاسیون‌های سنتی استفاده می‌شود. اورسولیک اسید دارای طیف گسترده‌ای از خواص بیولوژیکی از جمله آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است و اثر درمانی بر

کاهش آسیب‌پذیری در برابر ایجاد شرایط پاتولوژیک مزمن، مانند بیماری‌های قلبی-عروقی، عضلانی و بیماری‌های عصبی، منجر به افزایش امید به زندگی و جمعیت سالمندی شده است. سالمندی یک فرایند فیزیولوژیک چندعاملی است که یکی از عوامل اصلی در ایجاد پیری سلولی و بیماری‌های وابسته به افزایش سن، استرس اکسایشی است. مطابق تحقیقات انجام شده، استرس اکسایشی به‌تدریج در طول پیری افزایش می‌یابد و احتمال ابتلا به بیماری و مرگ‌ومیر را بیشتر می‌کند (۱). استرس اکسایشی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها از جمله آترواسکلروز، فشار خون، اسکیمی قلبی، دیابت، سرطان، آرتریت روماتوئید، التهاب و هم‌چنین پیری دخیل است (۲).

استرس اکسایشی نتیجه عدم تعادل بین دو نوع مولکول اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی در بدن است که نقش مهمی در آسیب‌های سلولی دارد (۳). بین دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن و تولید رادیکال‌های آزاد در داخل سلول، تعادلی با نام اکسیداسیون-احیا برقرار است که نقش مهمی در عملکرد سلول دارد. در شرایط عادی رادیکال‌های آزاد فرآورده جانبی متابولیسم اکسیژن در بدن هستند که می‌توانند سبب تخریب غشای سلولی شوند و بروز یا پیشرفت بیماری را افزایش می‌دهند. رادیکال‌های آزاد با اثرگذاری بر غشای چربی و پروتئین سبب پیرشدن سلول‌ها و آسیب به بافت می‌شوند (۴). در واقع، استرس اکسایشی سبب پراکسیداسیون لیپیدی است که آسیب غشائی-لیپیدی و سایر اجزاء سلول را به همراه دارد و اندازه‌گیری پراکسیداسیون

بسیاری از بیماری‌ها دارد (۷). در همین راستا، نتایج پژوهش سالانو و همکاران (۲۰۲۱) نشان‌دهنده اثر محافظتی اورسولیک اسید در برابر آسیب اکسیداتیو در نمونه‌های موش است که با توانایی آن در کاهش استرس اکسیداتیو، اختلالات پورینریژیک و کولینریژیک، همراه با سرکوب همزمان فعالیت پروتئولیتیک گزارش شده است (۸). با این حال، نتایج مطالعه جدید کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد که مکمل‌یاری با اورسولیک اسید به تنهایی و یا به همراه تمرین ورزشی تغییر معناداری در سطوح پلاسمایی MDA و SOD در موش‌های پیر دیابتی ایجاد نکرد (۹).

با توجه به یافته‌های محدود و متناقض، به نظر می‌رسد که برای روشن شدن مکانیزم اثر اورسولیک اسید بر تغییرات مثبت وضعیت MDA و SOD و اختلالات مربوطه، نیاز به بررسی‌های بیشتری می‌باشد. هر چند که یکی از چالش‌های اساسی در استفاده از اورسولیک اسید، محدودیت‌های فارماکوکینتیکی آن از جمله حلالیت پایین در آب، جذب ضعیف در دستگاه گوارش و زیست‌دسترسی محدود است که کارایی درمانی این ترکیب را به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌دهد. نانولیپوزومال‌سازی اورسولیک اسید به‌عنوان یک استراتژی نوآورانه در سیستم‌های دارورسانی، با بهبود حلالیت، افزایش پایداری، تسهیل عبور از غشاهای بیولوژیکی و افزایش زیست‌دسترسی، می‌تواند اثرات بیولوژیکی و درمانی این ترکیب را تقویت کرده و به دستیابی به نتایج بالینی مطلوب‌تر در کاهش استرس اکسیداتیو و بیماری‌های مرتبط با پیری کمک نماید (۱۰).

در راستای کاهش استرس اکسیداتیو، فعالیت بدنی به‌عنوان محرکی حیاتی برای تحریک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز مطرح شده است و در تحقیقات صورت‌گرفته مشخص شده که فعالیت استقامتی سطح پایه‌ای این آنزیم‌ها را افزایش می‌دهد. تحقیقات نشان داده که شش هفته تمرین اختیاری با شدت متوسط موجب کاهش استرس اکسایشی در موش‌های دیابتی شده است. همچنین فعالیت‌های ورزشی در موش‌های سالم با کاهش سطوح MDA همراه بوده که نشان می‌دهد ورزش، توانایی کاهش استرس اکسایشی طولانی‌مدت را دارد (۱۱). در مطالعه جدید دیگری در سال ۲۰۲۳ گزارش شد که ۸ هفته تمرین هوازی در موش‌های مسن، منجر به کاهش معنادار سطوح سرمی MDA و افزایش SOD گردید (۱۲).

ارتباط بین ورزش و استرس اکسایشی به نوع، شدت و مدت ورزش بستگی دارد. تمرینات ورزشی مرتبط، اثرات مفیدی بر استرس اکسایشی و سلامت داشته و ورزش منظم با مکانیسم‌هایی مثل کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اثرات مفیدی بر دفاع آنتی‌اکسیدانی درون بدن دارند (۱۳). در میان انواع مداخلات ورزشی، فعالیت بدنی اختیاری در محیط غنی‌سازی شده به‌عنوان یک رویکرد نوین و فیزیولوژیک مطرح شده است که در آن حیوان به‌صورت آزادانه و بدون اجبار خارجی، در محیطی حاوی محرک‌های حسی، شناختی و حرکتی متنوع به فعالیت می‌پردازد (۱۴). این نوع فعالیت برخلاف تمرینات اجباری مانند تردمیل یا شنا

که همراه با استرس روانی و فیزیولوژیکی قابل توجهی هستند، با کاهش سطوح کورتیزول و فعال‌سازی مسیرهای پاداش مغزی، زمینه بهینه‌تری برای بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فراهم می‌آورد. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت اختیاری در محیط غنی‌سازی شده، علاوه بر کاهش استرس اکسیداتیو، با افزایش نورون‌ها، بهبود عملکرد میتوکندریایی و کاهش التهاب سیستمیک همراه است (۱۵). بنابراین، این رویکرد می‌تواند به‌عنوان یک مدل ترجمه‌پذیرتر برای مطالعه اثرات فعالیت بدنی بر سالمندی و بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شود.

روش‌شناسی پژوهش

در این تحقیق سعی شد که اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در نظر گرفته شود و تمامی مراحل این پژوهش زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و با کد IR.IAU.K.REC.1403.152 انجام شد. پژوهش حاضر از نوع تجربی بود که از نظر هدف جزء تحقیقات بنیادی بوده و طرح تحقیق به‌صورت بین‌گروهی بدون نیاز به کورسازی بود. تعداد ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۱۸ تا ۲۰ ماهه در محدوده وزنی ۳۵۰-۳۲۰ گرم برای بررسی در این تحقیق انتخاب شدند. موش‌های پیر به ۴ گروه شامل گروه حلال، گروه مکمل، گروه ورزش+حلال و گروه مکمل+ورزش تقسیم شده و به مدت ۴ هفته با هدف سازگاری با محیط در قفس‌هایی استاندارد از جنس پلی‌کربنات شفاف، به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتیگراد، رطوبت ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند و روزانه با غذای استاندارد

با توجه به افزایش روزافزون جمعیت سالمند و بار اقتصادی-بهداشتی ناشی از بیماری‌های مرتبط با پیری، شناسایی مداخلات مؤثر برای کاهش استرس اکسیداتیو، اهمیت بالینی و پژوهشی دوچندانی یافته است. اگرچه مطالعات پیشین اثرات مجزای فعالیت بدنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو بررسی کرده‌اند، شواهد محدود و گاه متناقضی در خصوص اثرات هم‌افزایی این دو مداخله وجود دارد (۹). تحقیق حاضر با استفاده از فرمولاسیون نانولیپوزومال اورسولیک اسید، به‌منظور غلبه بر موانع فارماکوکینتیکی و افزایش زیست‌دسترسی آن و ترکیب با فعالیت بدنی اختیاری در محیط غنی‌سازی شده به‌عنوان یک مدل فیزیولوژیک‌تر و کم‌استرس‌تر نسبت به تمرینات اجباری، به دنبال بررسی اثرات هم‌افزایی احتمالی این دو مداخله بر نسبت SOD/MDA به‌عنوان شاخص جامع تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان است. انتخاب

آزمایشگاهی به میزان 10g/kg.BW (با توجه به وزن کشی هفتگی) تغذیه شدند و به صورت آزادانه از طریق بطری‌هایی به آب دسترسی داشتند و برای گروه حلال از محلول 0/5% CMC استفاده شد. دلیل استفاده از حلال، حذف اثر گاوژ در گروه‌های دریافت کننده مکمل بود.

فعالیت حیوانات

جهت آشناسازی نمونه‌ها با محیط غنی و پروتکل تمرینی، پیش از شروع دوره اصلی پژوهش که شامل ۴ هفته بود، نمونه‌های گروه ورزش و گروه مکمل + ورزش، یک جلسه به مدت ۳۰ دقیقه در این محیط قرار داده شدند که قفس‌هایی استاندارد از جنس پلی‌کربنات شفاف، به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای 20 تا 24 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 45-55 درصد نگهداری شدند و به آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی که تولید شرکت خوراک دام

به‌پرور است، به صورت آزادانه دسترسی داشتند. سپس این نمونه‌ها بر اساس الگویی از پروتکل تمرینی ژو و گریس (۲۰۲۱)، ۵ جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه، در ساعات صبح در محیط غنی سازی شده قرار داده شدند و به صورت داوطلبانه به فعالیت بدنی در این محیط پرداختند (۱۶). محیط غنی شامل یک قفس (با ابعاد ۱۲۲ سانتی متر × ۶۱ سانتی متر × ۴۶ سانتی متر) بزرگتر از قفس استاندارد از جنس فلز می‌باشد که دارای سازه‌هایی جهت بالا رفتن (مانند رمپ)، فرصت‌هایی برای سرپناه (خانه‌ها، لوله‌های پی وی سی، تونل‌های مقوایی)، مواد جویدنی (تکه‌های چوب)، چرخ دوار و مجموعه‌ای از ۱۴ اسباب بازی و اشیاء مختلف پلاستیکی غیرقابل جویدن (توپ، اشکال هندسی، لگو) می‌باشد (۱۷). این مجموعه از اسباب‌بازی‌ها و اشیاء دو بار در هفته جا به جا و تمیز شدند (شکل ۱).



شکل ۱. محیط غنی‌سازی شده

نحوه تجویز مکمل

گروه‌های مکمل و مکمل + ورزش، مکمل نانولیپوزومال شده اورسولیک اسید را به میزان 250 mg/kg. BW به صورت ناشتا و ۵ روز در هفته مطابق با روزهای تمرین به صورت گاوژ دریافت کردند (۹).

تهیه نمونه

پس از اجرای دوره ۴ هفته‌ای تحقیق، از تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و گاوژ مکمل، نمونه خون تهیه شد. از تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با نسبت ۵ به ۲) این فرایند صورت گرفت و در نهایت موش‌ها بی‌هوش و قربانی شدند.

پس از بی‌هوشی حیوانات، قفسه سینه حیوان شکافته شده و ۵ میلی‌لیتر خون مستقیم از قلب موش‌ها گرفته شد و در لوله‌های ضد انعقاد قرار گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم آن‌ها جدا گردید و بلافاصله به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. سپس غلظت سرمی SOD و MDA به روش الیزا توسط کیت‌های مربوطه و بر اساس دستورالعمل کیت‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

فعالیت آنزیم SOD با استفاده از کیت تجاری (USA, Cayman) با استفاده از دستورالعمل کارخانه سازنده مورد سنجش قرار گرفت. فعالیت SOD با

استفاده از نمک تترازولیوم برای تشخیص رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده توسط اکسیداز زانتین و هیپوزانتین اندازه‌گیری و به رنگ زرد تبدیل شد که با خواندن جذب در ۴۴۰ نانومتر اندازه‌گیری صورت گرفت. سطوح MDA برای محصولات پراکسیداسیون چربی با توجه به روش TBARS مورد سنجش قرار گرفت. محتوای MDA در نمونه‌ها و استاندارد با TBA(Acid Thiobarbituric) به مدت ۲۰ دقیقه، ۵ دقیقه در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد واکنش نشان داد و سپس با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. غلظت MDA به روش طیف‌سنجی با طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی از پیش تعیین شده MDA تعیین گردید (۱۱).

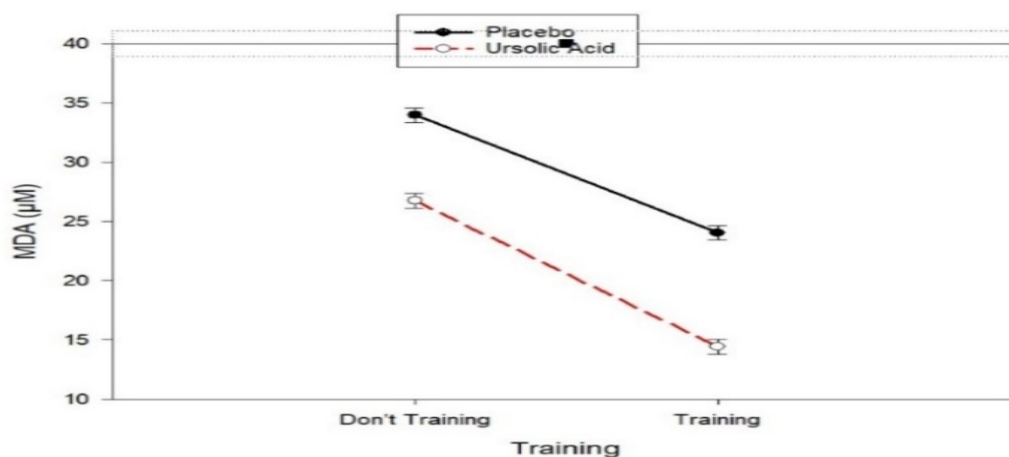
روش تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی شاخص‌های گرایش مرکزی و شاخص‌های پراکندگی از آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. جهت بررسی طبیعی بودن داده‌ها آزمون شاپیر و ویلک، منظور شد. از آنجا که در این تحقیق دو مداخله و هر کدام با دو سطح اعمال شد، جهت بررسی اثر تعاملی تجویز مکمل اورسولیک اسید همراه با فعالیت بدنی در محیط غنی‌سازی شده بر متغیرهای وابسته SOD و MDA موش‌های پیر، از آزمون تحلیل واریانس دوعاملی استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج

پیر شود ($P.E.S=0/959$ ، $P<0/001$ ، $F_{1,8}=188/51$)؛ با این وجود، تعامل معنی‌داری بین این مداخلات در مورد متغیر MDA دیده نشد ($P.E.S=0/323$ ، $P=0/087$ ، $F_{1,8}=3/81$)؛ به عبارت دیگر، تغییرات MDA در اثر یک مداخله‌ی مستقل تمرین و یا مکمل، تحت تأثیر هم‌افزای دو عامل در کنار یکدیگر قرار نگرفت (شکل ۲).

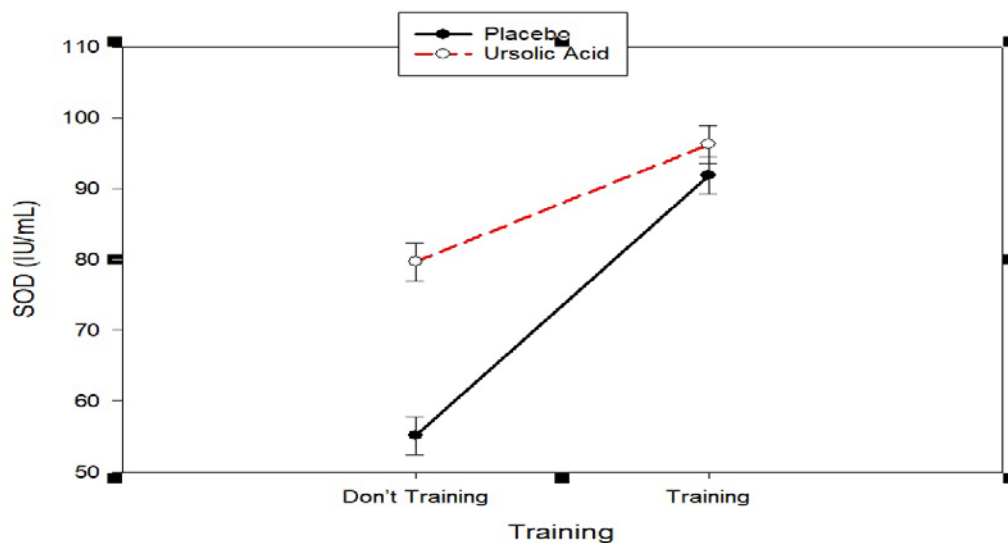
نتایج تحلیل واریانس دوره‌ها نشان داد که عامل فعالیت در محیط غنی سازه شده باعث کاهش میزان MDA موش‌های پیر شد ($P.E.S=0/976$ ، $F_{1,8}=330/12$ ، $P<0/001$)؛ همچنین مصرف مکمل توانست باعث کاهش غلظت میزان MDA موش‌های



شکل ۲. تعامل بین فعالیت در محیط غنی سازی شده و مصرف مکمل اورسولیک در مورد متغیر MDA

در مورد SOD، فعالیت در محیط غنی سازی شده ($P.E.S=0/926$ ، $P<0/001$ ، $F_{1,8}=99/41$) و همچنین مصرف مکمل ($P.E.S=0/785$ ، $P=0/001$ ، $F_{1,8}=29/26$) توانست باعث افزایش غلظت میزان SOD موش‌های پیر شود. علاوه بر این، تعامل معنی‌داری بین این مداخلات در مورد متغیر SOD مشاهده گردید ($P.E.S=0/641$ ، $P=0/005$ ، $F_{1,8}=14/29$) (شکل ۳).

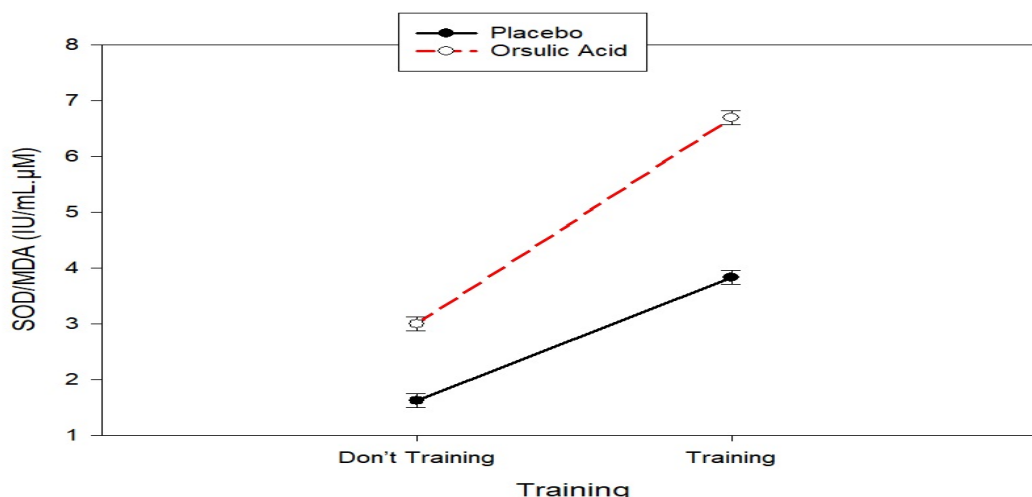
در این شکل نشان داده شده است که در وضعیت فعالیت بدنی، میانگین MDA موش‌ها پائین تر بود که نشان دهنده اثر تمرین است. از طرفی دیگر، میانگین MDA حیوانات در زمانی که مکمل مصرف کرده بودند پایین تر بود. همچنین الگوی تغییرات از تمرین نکرده به تمرین کرده در وضعیت مصرف مکمل یا عدم مصرف مکمل شبیه هم بودند که نشان دهنده عدم تعامل بود.



شکل ۳. عامل بین فعالیت در محیط غنی‌سازی شده و مصرف مکمل اورسولیک اسید بر متغیر SOD در موشهای صحرایی نر پیر

نهایتاً عامل فعالیت در محیط غنی‌سازی شده (P.E.S=۰/۹۸۶ ، $P<۰/۰۰۱$ ، $F_{1,8}=557/85$) و از طرف دیگر مصرف مکمل (P.E.S=۰/۹۷۳ ، $P<۰/۰۰۱$ ، $F_{1,8}=285/39$) توانست باعث افزایش نسبت $\frac{SOD}{MDA}$ موش‌های پیر شود. همچنین تعامل معنی‌داری بین این مداخلات در مورد متغیر $\frac{SOD}{MDA}$ دیده شد (شکل ۴). (P.E.S=۰/۸۱۷ ، $P<۰/۰۰۱$ ، $F_{1,8}=35/65$)

در شکل بالا نشان داده شده است که در وضعیت تمرین، میانگین موش‌ها بالاتر بود که نشان‌دهنده اثر تمرین است. از طرفی دیگر، میانگین SOD حیوانات در زمانی که مکمل مصرف کرده بودند بالاتر بود. همچنین الگوی تغییرات از تمرین نکرده به تمرین کرده در وضعیت مصرف مکمل یا عدم مصرف مکمل شبیه هم نبودند که نشان‌دهنده اثر تعامل است. در واقع الگوی تغییرات در زمان مصرف مکمل و تمرین تفاوت داشت. زمانی که رت‌ها علاوه بر تمرین مکمل مصرف کردند، اثرات تمرین افزایش یافت.



شکل ۴. تعامل بین فعالیت در محیط غنی سازی شده و مصرف مکمل اورسولیک اسید در مورت نسبت $\frac{SOD}{MDA}$ موشهای صحرایی نر پیر

این یافته‌ها با نتایج تحقیق چو و همکاران (۲۰۲۳) همسو می‌باشد که نشان دادند ۸ هفته تمرین هوازی در موش‌های مسن، منجر به کاهش معنادار سطوح سرمی MDA و افزایش SOD می‌شود (۱۲). در راستای همین یافته‌ها، اخیراً در پژوهشی فراتحلیلی در سال ۲۰۲۲ گزارش شد که تمرینات ورزشی سنتی منظم در افراد مسن و میانسال، با بهبود سطوح SOD و MDA، استرس اکسیداتیو را کاهش داد (۱۸). هم‌چنین، براتی و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که ۸ هفته تمرین هوازی تداومی و تناوبی در موش‌های پیر توانست بیان پروتئین MDA را کاهش دهد (۱۹). هر چند که شواهد موجود در مورد اثرات فعالیت بدنی منظم اختیاری در محیط غنی‌شده بر نشانگرهای MDA و SOD در جمعیت سالمند محدود هستند؛ در مدل‌های حیوانی، محیط غنی‌سازی شده که ترکیبی از محرک‌های شناختی، اجتماعی و فعالیت بدنی ارادی است، به‌عنوان یک مداخله مؤثر برای تعدیل استرس اکسیداتیو شناخته شده است (۱۴). در همین زمینه،

در شکل بالا نشان داده شده است که در وضعیت تمرین، میانگین موش‌ها بالاتر بود که نشان دهنده اثر تمرین است. از طرف دیگر، میانگین $\frac{SOD}{MDA}$ حیوانات در زمانی که مکمل مصرف کرده بودند بالاتر بود. هم‌چنین الگوی تغییرات از تمرین نکرده به تمرین کرده در وضعیت مصرف مکمل یا عدم مصرف مکمل شبیه هم نبودند و اثر هم افزایی نشان داد.

بحث و نتیجه گیری

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر هم افزایی فعالیت بدنی در محیط غنی سازی شده و مصرف مکمل اورسولیک اسید بر بهبود شاخص استرس اکسایشی $\frac{SOD}{MDA}$ در سرم موشهای صحرایی پیر بود. نتایج تحقیق نشان داد که فعالیت بدنی اختیاری در محیط غنی‌شده به تنهایی توانست سطوح سرمی MDA را کاهش و SOD و هم‌چنین شاخص استرس اکسایشی $\frac{SOD}{MDA}$ را افزایش دهد.

راموس و همکاران (۲۰۲۴)، در یک مرور نظام‌مند روی ۱۶ مطالعه‌ی چوندگان گزارش کرده‌اند که پروتکل‌های مختلف فعالیت در محیط غنی‌سازی‌شده به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از جمله SOD، کاتالاز، GPx و نسبت گلووتاتیون اکسید به احیاء و هم‌زمان کاهش نشانگرهای آسیب اکسیداتیو مانند MDA، کربونیل‌ها، ROS و نیتروتریزین منجر می‌شوند (۲۰). علاوه بر این، در پژوهش جدید دیگری در سال ۲۰۲۴ گزارش شد که محیط غنی‌سازی‌شده در موش‌های مسن در معرض محرومیت خواب مادری، استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی را کاهش داد و این اثر با بهبود عملکرد میتوکندری و فعال‌سازی مسیر Sirt1/PGC-1 α همراه بود (۲۱). با وجود این شواهد، در تحقیق صالحی و همکاران، تأثیر ورزش تردمیل اجباری با شدت متوسط بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی در قلب موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد سطح MDA بافت قلب در موش‌های دیابتی ورزش کرده افزایش یافت. احتمالاً افزایش سطح MDA می‌تواند ناشی از استرس وارد شده به موش‌ها و افزایش کورتیزول در نتیجه ورزش اجباری باشد (۲۲).

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مولکولی دخیل در این اثرات، فعال‌سازی مسیرهای محرک عامل تنفس هسته‌ای-۲ (NRF2) از جمله مسیر Sirt1/PGC-1 α می‌باشد. در شرایط استرس اکسیداتیو، NRF2 از سیتوپلاسم به هسته منتقل شده و به عنصر پاسخ اکسیدانی (ARE) متصل می‌شود و موجب افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز، SOD و GPx می‌شود. این فرآیند نقش مهمی در تقویت سیستم

دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب اکسیداتیو ایفا می‌کند. پیرالی و همکاران در سال ۲۰۲۴ بیان کردند که ورزش با افزایش گذرای استرس اکسایشی این مسیر را فعال می‌کند و سبب افزایش ظرفیت دفاعی سلول در برابر ROS و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش MDA می‌شود (۲۳). در همین راستا، مطابق با تغییرات مشاهده‌شده در یافته‌های ما، فعالیت بدنی منظم در محیط غنی‌شده احتمالاً با القای پدیده هورمسیس اکسیداتیو سبب افزایش خفیف و کنترل‌شده ROS شده و از این طریق مسیرهای حساس به ردوکس نظیر AMPK، NRF2/ARE و PGC-1A را فعال می‌کند؛ فعال‌سازی این مسیرها به افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد به‌ویژه SOD، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز منجر می‌شود. افزایش فعالیت SOD با تسریع تبدیل رادیکال سوپراکسید به هیدروژن پراکسید، بار اکسیداتیو سلول را کاهش داده و از آسیب اکسیداتیو غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA جلوگیری می‌کند؛ در نتیجه سطح MDA کاهش می‌یابد (۲۴). علاوه بر این، محیط غنی‌شده ممکن است از طریق افزایش نوروترن‌هایمانند BDNF، بهبود بیونز میتوکندری، ارتقای اتوفازی و بهینه‌سازی دینامیک میتوکندری موجب افزایش کارایی متابولیک سلول و کاهش تولید ROS وابسته به میتوکندری شود (۲۰). بنابراین، افزایش SOD و کاهش MDA در گروه‌های تمرین در پژوهش حاضر احتمالاً ناشی از فعال شدن این مسیرهای مولکولی محافظتی می‌باشد.

دیگر یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که مکمل‌یاری با اورسولیک اسید نانولیپوزومال به‌طور مستقل منجر به کاهش سطوح سرمی MDA و افزایش SOD و شاخص استرس اکسایشی $\frac{SOD}{MDA}$ می‌گردد. اگرچه با بررسی اندازه‌های اثر می‌توان دریافت که فعالیت بدنی تنها نسبت به اورسولیک اسید تنها، اثر بیشتری در افزایش SOD و SOD/MDA داشت اما اندازه اثر هر دو مداخله به‌صورت مستقل در کاهش MDA تقریباً مشابه بود؛ این یافته‌ها نشان می‌دهد که فعالیت بدنی اختیاری در محیط غنی‌شده احتمالاً در تقویت موثر سیستم آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد نسبت به اورسولیک اسید بهتر عمل می‌کند که مکانیزم‌های احتمالی آن در بخش قبلی ارائه گردید. در مقابل، به نظر می‌رسد اورسولیک اسید نقشی موازی و همسان با فعالیت بدنی در بهبود پراکسیداسیون لیپیدی و نشانگرهای آن از جمله MDA داشته باشد.

همسو با این یافته‌ها، ژائو و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهشی سیستماتیک و فراتحلیلی گزارش کردند که یافته‌های حاصل از مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی نشان می‌دهد که اورسولیک اسید سطح سایتوکاین‌های التهابی را کاهش می‌دهد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بالا می‌برد (افزایش SOD و GSH) و سطح استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (کاهش MDA) که شواهد قانع‌کننده‌ای برای خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی این مکمل ارائه می‌دهد (۲۵). هم‌چنین رودی سلیمانی و همکاران (۲۰۲۵) در پژوهشی مروری گزارش کردند که مکمل‌یاری با اورسولیک اسید، سطوح MDA و ROS را کاهش و

SOD و GPx را افزایش می‌دهد (۲۶). نتایج پژوهش اخیر سالائو و همکاران (۲۰۲۱) نیز نشان دهنده اثر محافظتی اورسولیک اسید در برابر آسیب اکسیداتیو در مغز موش است که با توانایی آن در کاهش استرس اکسیداتیو، اختلالات پورینرژیک و کولینرژیک، همراه با سرکوب همزمان فعالیت پروتئولیتیک نشان داده شده است. مکمل‌یاری با اورسولیک اسید در این تحقیق توانست فعالیت SOD، کاتالاز و گلوتاتیون را افزایش و سطوح MDA را کاهش دهد (۸).

در زمینه مکانیزم اثر احتمالی این مکمل در بهبود وضعیت اکسیداتیو وابسته به افزایش سن در تحقیق حاضر و علی‌الخصوص کاهش MDA، به نظر می‌رسد که اورسولیک اسید از طریق مهار مسیر عامل هسته‌ای کاپا-B (NF- κ B) و کاهش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند عامل نکروزدهنده‌ی تومور-آلفا (TNF- α) و اینترلوکین-۱ بتا (IL-1 β)، فعالیت آنزیم‌های تولیدکننده رادیکال آزاد نظیر NADPH اکسیداز را سرکوب کرده و تولید ROS را محدود می‌کند. این ترکیب هم‌چنین با بهبود عملکرد میتوکندری، تحریک بیوژنز میتوکندریایی از طریق فعال‌سازی PGC-1 α و کاهش نشت الکترونی زنجیره انتقال الکترون، منبع اصلی تولید ROS در سلول‌های سالمند را تعدیل می‌نماید؛ در مجموع، کاهش سطوح ROS ها توسط اورسولیک اسید، نقش محوری در کاهش MDA بازی می‌کند (۲۷). از این رو، یافته‌های پژوهش حاضر بیانگر اندازه اثر بالاتر اورسولیک اسید در کاهش MDA نسبت به افزایش SOD بوده است.

یافته‌های نوین مطالعه‌ی حاضر حاکی از آن است که فعالیت بدنی در محیط غنی‌شده در تعامل با مکمل‌یاری اورسولیک اسید توانست به‌طور هم‌افزایی سطوح SOD و SOD/MDA را افزایش دهد؛ این یافته بیانگر بهبود قابل‌توجه ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی و تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان در موش‌های پیر است. این اثر تعاملی نشان می‌دهد که همزمانی این دو مداخله فراتر از مجموع اثرات مجزای آن‌ها عمل کرده و توانسته است سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را به‌طور سینرژیستیک تقویت کند. با این حال، اثر تعاملی دو مداخله در کاهش MDA به لحاظ آماری معنادار نبود؛ اگرچه اندازه اثر ۳۲ درصدی دو مداخله در تعامل با یکدیگر در کاهش غیرمعنادار MDA نشان‌دهنده تغییرات فیزیولوژیک نسبتاً محسوس در سطح سلولی در نظر گرفته می‌شود؛ در واقع بر این اساس می‌توان دریافت که ترکیب فعالیت بدنی با مکمل اورسولیک اسید، قادر به کاهش سطح MDA نیز می‌باشد اما اثر تعاملی دو مداخله که به معنای سینرژیستیک و فراتر رفتن از اثر تجمعی یا ترکیبی فعالیت بدنی و اورسولیک اسید است، بر کاهش MDA مشاهده نشد. این تفاوت در الگوی پاسخ بین شاخص آنتی‌اکسیدانی SOD و محصول پراکسیداسیون لیپیدی MDA می‌تواند ناشی از تفاوت در حساسیت زمانی، دینامیک تولید و پاکسازی این بیومارکرها و یا اولویت سیستم بیولوژیکی در تقویت مکانیسم‌های دفاعی پیشگیرانه نسبت به کاهش محصولات نهایی آسیب اکسیداتیو باشد. افزایش معنادار نسبت SOD/MDA به‌عنوان شاخص جامع تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان، بیانگر آن است که مداخله ترکیبی توانسته است تعادل کلی سیستم

را به سمت وضعیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر حتی در غیاب کاهش سینرژیستیک معنادار MDA سوق دهد. در راستای این نتایج، محمدی و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف اورسولیک اسید موجب افزایش SOD و کاهش MDA در افراد چاق می‌شود (۳). زارع و همکاران (۱۴۰۴) در پژوهشی مشابه گزارش کردند که فعالیت بدنی منظم در محیط غنی‌شده در تعامل با اورسولیک اسید منجر به افزایش معنادار فعالیت SOD و کاهش غیرمعنادار غلظت MDA در بافت مخچه موش‌های مسن شد (۲۸). هم‌چنین کاظمی پوردنجان و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی همراه با مکمل‌یاری اورسولیک اسید در رت‌های سالمند مبتلا به دیابت نوع ۲، نسبت به هر مداخله به‌تنهایی، موجب کاهش معنی‌دار MDA و افزایش قابل‌توجه SOD شد (۹).

اثر هم‌افزایی مشاهده‌شده بر افزایش SOD و نسبت SOD/MDA در مطالعه حاضر از طریق فعال‌سازی همزمان و تقویت متقابل چندین مسیر مولکولی قابل تبیین است. فعالیت بدنی و محرک‌های محیط غنی‌شده از طریق افزایش موقت ROS در حد متوسط، مسیر Keap1-Nrf2 را فعال می‌کنند (۲۹). در شرایط استرس اکسیداتیو ملایم، اکسیداسیون باقی‌مانده‌های سیستئین در پروتئین Keap1 منجر به آزادسازی فاکتور رونویسی Nrf2 و انتقال آن به هسته می‌شود و نهایتاً بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی شامل SOD، کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز و آنزیم‌های سنتز گلوکاتیون را افزایش می‌دهد (۲۳). از سویی دیگر،

اورسولیک اسید نانولیپوزومال، با افزایش زیست‌دسترسی و نفوذ سلولی، به‌طور مستقیم مسیر Nrf۲ را از طریق مکانیسم‌های متعددی تقویت می‌کند. این ترکیب می‌تواند از طریق اکسیداسیون مستقیم Keap۱ یا مهار فعالیت یوبیکوئیتین لیگاز آن، تخریب پروتئازومی Nrf۲ را کاهش داده و نیمه‌عمر و فعالیت رونویسی آن را افزایش دهد (۳۰). در نتیجه اثر هم‌افزایی مشاهده‌شده بر افزایش SOD در پژوهش حاضر احتمالاً می‌تواند ناشی از فعال‌سازی همزمان و موازی مسیر Keap۱-Nrf۲ از طریق دو مسیر مستقل فعالیت بدنی در محیط غنی و اورسولیک اسید باشد که این همگرایی مسیرها منجر به افزایش سینرژیست در سطوح SOD و همچنین نسبت SOD/MDA می‌شود. عدم مشاهده اثر تعاملی معنادار بر کاهش MDA، علی‌رغم اندازه اثر قابل توجه، می‌تواند به دلایل مکانیکی متعددی مرتبط باشد. اولاً، MDA به‌عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی، شاخصی تأخیری از آسیب اکسیداتیو است، در حالی که SOD به‌عنوان آنزیم دفاعی خط اول، شاخصی پیشرو محسوب می‌شود (۶). بنابراین، افزایش SOD ممکن است زودتر از کاهش معنادار MDA قابل مشاهده باشد و به مدت زمان طولانی‌تری برای ایجاد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه همراه با کاهش محسوس محصولات آسیب اکسیداتیو نیاز دارد. ثانیاً، MDA نه‌تنها از پراکسیداسیون لیپیدی بلکه از مسیرهای متابولیسمی دیگری نظیر متابولیسم پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها نیز تولید می‌شود که این مسیرها ممکن است به‌طور مستقیم تحت تأثیر مداخلات مورد مطالعه‌ی ما قرار نگیرند [۵]. ثالثاً، سیستم‌های

پاکسازی MDA شامل آلدئید دهیدروژنازها و گلوکاتایون S-ترانسفرازها نیز در تعیین سطوح سرمی آن نقش دارند و ممکن است فعالیت این آنزیم‌ها به‌اندازه کافی تحت تأثیر مداخلات قرار نگرفته باشد تا اثر سینرژیستیک معناداری ایجاد شود (۳۱). هرچند مطالعات بیشتری برای تایید یافته‌های مطالعه حاضر و کمک به این خط تحقیقاتی در روشن شدن مکانیزم‌های اثر احتمالی دو مداخله مورد نیاز است.

در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که فعالیت بدنی و مصرف اورسولیک اسید، به‌ویژه به‌صورت ترکیبی، موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان می‌شوند. این اثرات احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیرهای NRF2، AMPK-PGC-۱α و مهار مسیرهای التهابی اعمال می‌شوند. افزایش نسبت SOD به MDA در گروه ترکیبی نشان‌دهنده بهبود وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو است. با توجه به پیشینه پژوهش موجود و محدود بودن پژوهش‌ها در زمینه اثرات تعاملی اورسولیک اسید و فعالیت بدنی بر نسبت بین SOD و MDA به نظر می‌رسد که تأثیرات هم‌افزایی فعالیت‌های بدنی به همراه اورسولیک اسید در دوران سالمندی به مطالعات بیشتر برای بررسی دقیق‌تر سازوکارهای مولکولی و اثرات بلندمدت این مداخلات نیاز دارد. در نتیجه، یافته‌های این مطالعه به‌طور کلی نشان می‌دهد که ترکیب فعالیت بدنی در محیط غنی‌شده با مکمل‌یاری اورسولیک اسید نانولیپوزومال، استراتژی مؤثری برای تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود تعادل

اکسیدان-آنتی‌اکسیدان در سالمندی است؛ اگرچه مطالعه حاضر دارای محدودیت‌هایی نیز بود که اثرات آن بر کاهش محصولات آسیب اکسیداتیو ممکن می‌توان به عدم اندازه‌گیری سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، است نیازمند مدت زمان طولانی‌تر یا بهینه‌سازی بیشتر پروتکل مداخله باشد.

سایتوکاین‌های التهابی و ضدالتهابی اشاره کرد که پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی این موارد بررسی شوند.

References

1. Verhaegen, D., K. Smits, N. Osório, and A. Caseiro, *Oxidative stress in relation to aging and exercise*. Encyclopedia, 2022. 2(3): p. 1545-1558.
2. Meagher, E. and D.J. Rader, Antioxidant therapy and atherosclerosis: animal and human studies. *Trends in cardiovascular medicine*, 2001. 11(3-4): p. 162-165.
3. Mohammadi, M., H. Mojtahedi, and M. Mohammadi, The effect of high intensity interval training (HIIT), and ursolic acid supplementation on biomarkers of oxidative stress and body composition index in obese adolescent student boys. *Research in Sport Sciences Education (RISSE)*, 2024. 1(3): p. 49-58.
4. Allen, R. and M. Tresini, Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000. 28(3): p. 463-499.
5. Ansley, D.M. and B. Wang, Oxidative stress and myocardial injury in the diabetic heart. *The Journal of pathology*, 2013. 229(2): p. 232-241.
6. Santos DF, Simão S, Nóbrega C, Bragança J, Castelo-Branco P, Araújo IM; ALFA Score Consortium. Oxidative stress and aging: synergies for age related diseases. *FEBS Lett*. 2024 Sep;598(17):2074-2091. doi: 10.1002/1873-3468.14995
7. Ahmadzadeh, S. and N. Bakhtiari, Ursolic Acid: 5 cyclic triterpenoid in apple peel With a wide range of therapeutic effects. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 2019. 32(2): p. 133-146.
8. Salau VF, Erukainure OL, Ayeni G, Ibeji CU, Islam MS. Modulatory effect of ursolic acid on neurodegenerative activities in oxidative brain injury: An ex vivo study. *Journal of Food Biochemistry*. 2021;45(2):e13597. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13597>
9. Kazemi Pordanjani M, Banitalebi E, Roghani M, Hemmati R. Ursolic acid enhances the effect of exercise training on vascular aging by reducing oxidative stress in aged type 2 diabetic rats. *Food Science & Nutrition*. 2023;11(2):696-708. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3105>
10. Sandhu SS, Rouz SK, Kumar S, Swamy N, Deshmukh L, Hussain A, Haque S, Tuli HS. Ursolic acid: a pentacyclic triterpenoid that exhibits anticancer therapeutic potential by modulating multiple oncogenic targets. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 2023;39(2):729-59. <https://doi.org/10.1080/02648725.2022.2162257>

11. Mohammadi, E. and F. Nikseresht, effect of 8 weeks of incremental endurance training on the activity of superoxide dismutase enzyme and malondialdehyde levels of cardiac tissue of rats with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 2020. 19(5): p. 261-268.
12. Cho SY, Roh HT. Impact of particulate matter exposure and aerobic exercise on circulating biomarkers of oxidative stress, antioxidant status, and inflammation in young and aged mice. *Life*. 2023;13(10):1952. <https://doi.org/10.3390/life13101952>
13. Pingitore, A., et al., Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition*, 2015. 31(7-8): p. 916-922.
14. Ratuski AS, Weary DM. Environmental Enrichment for Rats and Mice Housed in Laboratories: A Metareview. *Animals*. 2022; 12(4):414. <https://doi.org/10.3390/ani12040414>
15. Rojas-Carvajal M, Sequeira-Cordero A, Brenes JC. The environmental enrichment model revisited: A translatable paradigm to study the stress of our modern lifestyle. *Eur J Neurosci*. 2022 May;55(9-10):2359-2392. doi: 10.1111/ejn.15160.
16. Zhu X, Grace AA. Prepubertal environmental enrichment prevents dopamine dysregulation and hippocampal hyperactivity in MAM schizophrenia model rats. *Biological psychiatry*. 2021;89(3):298-307. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.09.023>.
17. Bellés L, Dimiziani A, Herrmann FR, Ginovart N. Early environmental enrichment and impoverishment differentially affect addiction-related behavioral traits, cocaine-taking, and dopamine D2/3 receptor signaling in a rat model of vulnerability to drug abuse. *Psychopharmacology*. 2021;238(12):3543-57. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05971-z>
18. Chen D, Zhao G, Fu J, Sun S, Huang X, Su L, He Z, Huang T, Chen R, Hu X, Jiang T. Effects of traditional Chinese exercise on oxidative stress in middle-aged and older adults: a network meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(14):8276. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148276>
19. Barati Z, Yaghoubi A, Jalilvand MR. Effect of Continuous and Interval Training on Amyloid β 42 (A β 42) and Malondialdehyde (MDA) Levels in Hippocampus of Elderly Rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2021;30. <https://doi.org/10.18502/ssu.v29i9.7909>
20. Ramos TL, de Sousa Fernandes MS, da Silva Fidélis DE, Santos GCJ, Albuquerque RB, Ferreira DJS, et al. The impact of enriched environments on cerebral oxidative balance in rodents: a systematic review of environmental variability effects. *Front Neurosci*. 2024;18:1366747. doi: 10.3389/fnins.2024.1366747
21. Wei RM, Zhang YM, Zhang KX, Liu GX, Li XY, Zhang JY, Lun WZ, Liu XC, Chen GH. An enriched environment ameliorates maternal sleep deprivation-induced cognitive impairment in aged mice by improving mitochondrial function via the Sirt1/PGC-1 α pathway. *Aging (Albany NY)*. 2024;16(2):1128-1144. doi: 10.18632/aging.205385

22. Salehi, I., M. Mohammadi, and A. Asadi Fakhr, The effect of treadmill exercise on antioxidant status in the hearts of the diabetic rats. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*, 2009. 16(2): p. 20-27.
23. Piralaiy, E. and B.R. Ismael, Aerobic training: an approach to regulate oxidative stress in heart tissue of diabetic rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 2024. 11(2): p. 128-140.
24. Militello R, Luti S, Gamberi T, Pellegrino A, Modesti A, Modesti PA. Physical Activity and Oxidative Stress in Aging. *Antioxidants*. 2024; 13(5):557. <https://doi.org/10.3390/antiox13050557>
25. Zhao M, Wu F, Tang Z, Yang X, Liu Y, Wang F, Chen B. Anti-inflammatory and antioxidant activity of ursolic acid: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in pharmacology*. 2023;14:1256946. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1256946>
26. Roudi HS, Safaei R, Dabbaghi MM, Fadaei MS, Saberifar M, Sakhaee K, Rahimi VB, Askari VR. Mechanistic insights on cardioprotective properties of ursolic acid: regulation of mitochondrial and non-mitochondrial pathways. *Current Pharmaceutical Design*. 2025;31(13):1037-1056. <https://doi.org/10.2174/0113816128344497241120025757>
27. Zhao M, Wu F, Tang Z, Yang X, Liu Y, Wang F, Chen B. Anti-inflammatory and antioxidant activity of ursolic acid: a systematic review and meta-analysis. *Front Pharmacol*. 2023 Sep 28;14:1256946. doi: 10.3389/fphar.2023.1256946.
28. Zare, A., Rahimi, A., Feizolah, F. Interactive Effect of Nanoliposomal Ursolic Acid Supplementation and Enriched Environment on Oxidative Stress, Cerebellar Purkinje Neuron Survival, and Balance Function in Aged Rats. *Research in Exercise Nutrition*, 2025; 4(4): e64296. (In Persian) doi: 10.22034/ren.2026.144440.1125
29. Powers SK, Goldstein E, Schrager M, Ji LL. Exercise Training and Skeletal Muscle Antioxidant Enzymes: An Update. *Antioxidants*. 2023; 12(1):39. <https://doi.org/10.3390/antiox12010039>
30. Malik, J., Mandal, S.C. Pentacyclic triterpenoids: diversity, distribution and their propitious pharmacological potential. *Phytochem Rev*. 2025;24: 4791–4823. <https://doi.org/10.1007/s11101-024-10056-8>
31. Gkaitatzi F, Tsochantaridis I, Pagonopoulou O, Voulgaridou G-P. Reviewing the Implication of Aldehyde Dehydrogenases in Male Reproduction: Prospects for New Therapeutic Approaches. *Pharmaceuticals*. 2026; 19(4):617. <https://doi.org/10.3390/ph19040617>