



Research Article

## Effect of Saffron Aqueous Extract during Resistance Training on the Expression of Fibronectin Type III Domain-containing Protein 5 in the Hippocampus of Rats with Type 2 Diabetes

Farzad Baratyan<sup>1</sup> , Vahid Valipour Dehnu<sup>2\*</sup> , Amir Khosravi<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Sports Sciences Department, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

<sup>2</sup> Associate Professor, Sports Sciences Department, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Physical Education and Exercise Science, Faculty of Humanities, Ayatollah Ozma Borujerdi University, Borujerd, Iran.

\* **Corresponding author:** Vahid Valipour Dehnu, Department of Sports Sciences, Faculty of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Email: [valipour.v@lu.ac.ir](mailto:valipour.v@lu.ac.ir)

DOI: [10.32592/cmja.14.2.61](https://doi.org/10.32592/cmja.14.2.61)

### How to Cite this Article:

Baratyan F, Valipour Dehnu V, Khosravi A. Effect of Saffron Aqueous Extract during Resistance Training on the Expression of Fibronectin Type III Domain-containing Protein 5 in the Hippocampus of Rats with Type 2 Diabetes. *Complement Med J*. 2024;14(2): 61-69. DOI: [10.32592/cmja.14.2.61](https://doi.org/10.32592/cmja.14.2.61)

Received: 18 Apr 2024

Accepted: 10 Jul 2024

### Keywords:

FNDC5

Resistance training

Saffron

Type 2 diabetes

© 2024 Arak University of Medical Sciences

### Abstract

**Introduction:** It has been demonstrated that fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5) improves cognitive function by increasing neurotrophic factors. Furthermore, type 2 diabetes causes a decrease in cognitive function. The combined effect of saffron extract and resistance training on FNDC5 protein levels in rats with type 2 diabetes has not been investigated so far. Therefore, the present study aimed to assess the effect of saffron extract consumption during resistance training on FNDC5 protein expression in the hippocampus of rats with type 2 diabetes.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 30 adult male rats were randomly assigned to five groups: control (C), diabetes (D), diabetes-resistance training (DT), diabetes-saffron extract (DS), and diabetes-saffron extract-resistance training (DTS). Resistance training was performed in five sessions a week for six weeks. Blood glucose levels and hippocampus FNDC5 protein levels were measured. To analyze the data, one-way ANOVA with Tukey's post hoc test was used at the significance level of  $P < 0.05$ .

**Results:** The blood glucose levels of all groups were significantly higher than the C group ( $P=0.001$ ). Blood glucose levels were significantly lower in the DT, DS, and DTS groups than in the D group ( $P=0.001$ ). Moreover, in the DTS group, the blood glucose levels were significantly lower than those in the DT group ( $P=0.014$ ). FNDC5 protein levels were significantly lower in all groups than in the C group ( $P<0.05$ ). In addition, FNDC5 protein levels of the D and DS groups were significantly lower than the DTS group ( $P<0.05$ ). Nonetheless, the FNDC5 protein levels of the D and DS groups did not differ significantly ( $P=0.92$ ); however, the FNDC5 protein levels of the D and DT groups displayed a significant difference ( $P=0.006$ ).

**Conclusion:** Resistance training and the consumption of saffron extract alone and in combination with each other can reduce blood glucose levels in rats with type 2 diabetes. Nevertheless, the consumption of saffron extract did not increase FNDC5 protein levels. However, resistance training alone and together with saffron consumption increased FNDC5 protein levels. Therefore, in order to control blood glucose levels and increase FNDC5 protein levels, it is suggested that saffron be consumed during resistance training in rats with type 2 diabetes.

## INTRODUCTION

Type 2 diabetes is one of the most prevalent metabolic diseases, the main cause of which is the creation of a disorder called insulin resistance and, as a result, a defect in the entry of blood sugar into the tissue (1). This disease, which is usually more common in the elderly, is the most common subtype of diabetes, and similar to other types of this disease, one of its main symptoms is hyperglycemia (1). Along with the progress of diabetes, hyperglycemia causes disorders in the cardiovascular systems, kidney, retina, eye lens, skin, and central and peripheral nervous system (1). Diabetes damages both the central and peripheral nervous systems through the apoptosis of basal neurons, and the increase in blood sugar caused by diabetes results in severe microvascular complications, such as neuropathy, nephropathy, and retinopathy. The most common complications of diabetes are diabetic neuropathies, which include disorders of the autonomic nervous system and the voluntary nervous system (2). Finally, neurological disorders in patients with diabetes are associated with an increase in brain tissue atrophy (3). In particular, it has been reported that hyperglycemia has destructive effects on special areas of the brain, such as hippocampal neurons, and causes defects in learning, memory, and problem-solving ability, as well as mental-motor and cognitive disorders in diabetic people (4). Nonetheless, the prevalence of neurodegenerative diseases among patients with type 2 diabetes is increasing, and currently, approximately 20% of neurodegenerative diseases are related to type 2 diabetes (5). One of the critical mechanisms through which exercise can affect the health of the central nervous system is the secretion of some proteins in the central nervous system. One of the important factors in this category is a glycoprotein named protein 5 containing fibronectin type III domain (FNDC5), which has been well recognized in the past for its neuroprotective effects (6). Therefore, it seems that the consumption of medicinal plant extracts along with physical activity is a valuable treatment solution for diabetes owing to its few side effects and high efficiency, highlighting research in this area. Therefore, due to the synergism of drug treatment and exercise, the present study aimed to assess the effect of saffron aqueous extract consumption during resistance training on blood glucose levels and FNDC5 protein levels in the hippocampus of type 2 diabetic rats.

## METHODS

Adult male Sprague-Dawley rats were used in this experimental study. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin solution dissolved in fresh citrate buffer [2]. The

rats were randomly assigned into five equal groups based on blood glucose: control (C), diabetes (D), diabetes-resistance training (DT), diabetes-saffron extract (DS), and diabetes-resistance training-saffron extract (DTS). DT and DTS groups performed resistance training five days a week. In this study, 25 mg of saffron extract per kilogram of body weight was administered to DS and DTS groups daily by gavage at 8 a.m. Finally, blood glucose levels and hippocampus FNDC5 protein levels were measured.

## RESULTS

Blood glucose levels were significantly higher in all groups than in the C group ( $P=0.001$ ). Blood glucose levels in the DT, DS, and DTS groups were significantly lower than those in the D group ( $P=0.001$ ). Moreover, in the DTS group, the blood glucose levels were significantly lower than in the DT group ( $P=0.014$ ). FNDC5 protein levels of all groups were significantly lower than those in the C group ( $P<0.05$ ). In addition, FNDC5 protein levels were significantly lower in the D and DS groups than in the DTS group ( $P<0.05$ ). Nonetheless, the FNDC5 protein levels of the D and DS groups did not differ significantly ( $P=0.92$ ); however, the FNDC5 protein levels of the D and DT groups displayed a significant difference ( $P=0.006$ ).

## CONCLUSION

Resistance training and the consumption of saffron extract alone and in combination with each other can reduce blood glucose levels in rats with type 2 diabetes. The consumption of saffron extract did not increase FNDC5 protein levels; however, resistance training alone and together with saffron consumption increased FNDC5 protein levels. Therefore, in order to control blood glucose levels and increase FNDC5 protein levels, it is suggested that saffron be consumed during resistance training in rats with type 2 diabetes.

## Ethical Considerations

### *Compliance with ethical guidelines*

All experiments in the current study followed the ethical principles approved by the Animal Ethics Committee of the Medical University of Kurdistan (reference number: IR. MUK.REC. 1398.5008).

## Funding

All financial support for this article was provided by the Research Deputy of Lorestan University.

## Authors' Contributions

The authors contributed equally to the conceptualization and writing of the article. All of the authors approved the content of the manuscript and agreed on all aspects of the work.

## Conflict of Interest

The authors declared no conflict of interest.

## Acknowledgments

We are grateful to all those who helped us carry out this research project.



## اثر مصرف عصاره آبی زعفران در خلال تمرین مقاومتی بر بیان پروتئین ۵ حاوی دامنه فیبرونکتین نوع ۳ هیپوکمپ موش‌های دارای دیابت نوع ۲

فرزاد براتیان<sup>۱</sup>، وحید ولی‌پور دهنو<sup>۲\*</sup>، امیر خسروی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

<sup>۳</sup> استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی (ره)، بروجرد، ایران.

\* نویسنده مسئول: وحید ولی‌پور دهنو، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. ایمیل:

[valipour.v@lu.ac.ir](mailto:valipour.v@lu.ac.ir)

### چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۰

واژگان کلیدی:

دیابت نوع ۲

تمرین مقاومتی

زعفران

FNDC5

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.

**مقدمه:** نشان داده شده است که پروتئین ۵ حاوی دامنه فیبرونکتین نوع III (FNDC5) از طریق افزایش مواد مغذی عصبی موجب بهبود عملکرد شناختی می‌شود؛ در مقابل، بیماری دیابت نوع ۲ موجب کاهش عملکرد شناختی می‌شود. تاکنون اثر ترکیبی عصاره زعفران و تمرین مقاومتی بر پروتئین FNDC5 موش‌های دارای دیابت نوع ۲ بررسی نشده است؛ بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مصرف عصاره زعفران در خلال تمرین مقاومتی بر بیان پروتئین FNDC5 هیپوکمپ موش‌های دارای دیابت نوع ۲ بوده است.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ به طور تصادفی به پنج گروه کنترل (C)، دیابت (D)، دیابت - تمرین مقاومتی (DT)، دیابت - عصاره زعفران (DS) و دیابت - عصاره زعفران - تمرین مقاومتی (DTS) تقسیم شدند. تمرین مقاومتی به مدت شش هفته و پنج جلسه در هفته انجام شد. سطوح گلوکز خون و سطوح پروتئین FNDC5 هیپوکمپ اندازه‌گیری شد. برای تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری  $p < 0.05$  استفاده شد.

**یافته‌ها:** سطوح گلوکز خون تمام گروه‌های تجربی به طور معناداری از گروه C بیشتر بوده است ( $p=0/001$ ). میزان گلوکز خون در گروه‌های DT، DS و DTS به طور معناداری پایین‌تر از گروه D بوده است ( $p=0/001$ ). همچنین، در گروه DTS میزان گلوکز خون به طور معناداری کمتر از گروه DT بوده است ( $p=0/014$ ). سطوح پروتئین FNDC5 تمام گروه‌ها به طور معناداری از گروه C کمتر بوده است ( $p < 0/05$ ). همچنین، سطوح پروتئین FNDC5 گروه‌های D و DS به طور معناداری از گروه DTS کمتر بوده است ( $p < 0/05$ ). با این حال، سطوح پروتئین FNDC5 گروه‌های D و DS تفاوت معناداری نداشتند ( $p=0/92$ )، اما سطوح پروتئین FNDC5 گروه‌های D و DT تفاوت معناداری داشتند ( $p=0/006$ ).

**نتیجه‌گیری:** انجام تمرین مقاومتی همچنین مصرف عصاره زعفران به‌تنهایی و همراه با تمرین مقاومتی سطوح گلوکز خون را در موش‌های دارای دیابت نوع ۲ کاهش می‌دهد. اما، مصرف عصاره زعفران سطوح پروتئین FNDC5 را افزایش نمی‌دهد. با این حال، تمرین مقاومتی به‌تنهایی و همراه با مصرف زعفران سطوح پروتئین FNDC5 را افزایش می‌دهد؛ بنابراین، به‌منظور کنترل سطوح گلوکز خون و افزایش سطوح پروتئین FNDC5 مصرف زعفران در خلال تمرین مقاومتی در موش‌های دارای دیابت نوع ۲ پیشنهاد می‌شود.

فرایندهای حفاظت نورونی نیز موثر است؛ چرا که نشان داده شده که در تعدیل فرایندهای تخریب نورنی از جمله سازوکارهای التهابی، فشارهای اکسیداتیو و آمیلوئید بتا نقش دارد (۹). همچنین موجب افزایش عوامل مغذی عصبی از جمله عامل مغذی عصبی مشتق از مغز (BDNF- Brain-derived neurotrophic factor) می‌شود (۱۱،۱۰). البته فیبرونکتین در واقع پیش‌ساز مایوکاین آیریزین است و آیریزین از این عامل مشتق و افزایش بیان آیریزین موجب ترشح بیشتر BDNF می‌شود (۱۲،۱۳). به طور جالب توجه در پژوهش ساما (Sama) و همکاران (۲۰۲۳) تاثیر مثبت FNDC5 در کاهش التهاب و فشار اکسیداتیو روشن شده است (۱۳).

همسو با آن نشان داده شده که بیماری‌های تخریب عصب مانند دیابت و آلزایمر میزان این عامل را کاهش می‌دهند (۹). با وجود این، هنوز هم نتایج مطالعات موجود ابهامات زیادی در زمینه سازوکارهای دقیق تاثیر FNDC5 بر فرایندهای تخریب عصب در اثر بیماری دیابت نوع ۲ دارند و پژوهش‌های اندکی در این زمینه انجام گرفته است. از سوی دیگر، یکی از اثرات مهم ورزش بر عملکردهای شناختی از طریق افزایش بیان BDNF صورت می‌گیرد (۹،۱۴). افزایش بیان این عامل در هیپوکمپ موجب تعدیل فرایندهای تخریب عصب (فشار اکسیداتیو، التهاب، تجمع آمیلوئید بتا و ...) و بهبود فرایندهای شناختی (شکل‌پذیری عصبی و تولید نورون‌های جدید) می‌شود (۹،۱۴). یکی دیگر از روش‌های مقابله با عوارض بیماری دیابت که به تازگی بیشتر پژوهشگران به آن توجه کرده‌اند، استفاده از داروهای گیاهی است. به دلیل مزیت‌های گیاهان دارویی از جمله عوارض جانبی کم، قیمت مناسب و قابل دسترس بودن، توجه بسیاری از پژوهشگران را برای مطالعات بیشتر به خود معطوف کرده است (۱۵). یکی از گیاهان دارویی که امروزه توجه پژوهشگران حوزه دیابت را به خود جلب کرده زعفران است. در این باره مشخص شده که زعفران اثرات مفیدی در تعدیل عوارض دیابت دارد و از گذشته‌های دور در طب سنتی تمدن‌هایی مانند چین، هند و ایران، زعفران را دارویی برای درمان دیابت می‌شناخته‌اند و آن را برای بهبود حال این بیماران تجویز می‌کرده‌اند (۱۵). زعفران (با نام علمی *Crocus sativus L.*)، کلاله‌های خشک گل‌های این گیاه است و مصرف این گیاه اثرات مفید زیادی در بهبود گردش خون، خنک‌کننده و سم‌زدایی خون دارد. همچنین در ایجاد آرامش و کاهش افسردگی نیز مفید است (۱۶) و به دلیل خواص ضد التهابی و افسردگی، راهکاری دارویی برای بیماری‌های دیابت و آلزایمر نیز است (۱۵). همچنین مصرف عصاره زعفران اثرات مفیدی بر کاهش افسردگی و حافظه از طریق افزایش BDNF و عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF- Vascular endothelial growth factor) در هیپوکمپ دارد و نشان داده شده که این گیاه دارویی نقش مفیدی در تعدیل قند خون ایفا می‌کند (۱۴). اما هنوز هم به دلیل کمبود مطالعات در این زمینه سازوکارهای دقیق تاثیر زعفران بر دیابت نوع ۲ مبهم است. از طرفی با توجه به خواصی مانند خوش طعمی، سهولت دسترسی و عوارض جانبی کم، این گیاه را هدفی جذاب برای پژوهشگران این حوزه تبدیل کرده است.

افزایش مزمن قند خون در همه بیماری‌های تخریب عصب مشاهده شده است و آن را یک سازوکار مهم در ایجاد اختلالات ساختاری و عملکردی در بیشتر این بیماری‌ها می‌دانند (۱۷، ۱۸). البته باید خاطر نشان کرد حفظ میزان طبیعی قند خون برای بیماران دیابتی بسیار مهم است؛ چرا که میزان بالا و پایین گلوکز خون هر دو موجب تشدید این سازوکارهای مخرب می‌شوند. یکی از سازوکارهای شناخته‌شده دیابت در ایجاد زوال عقل از طریق تخریب رگ‌های خونی و در نتیجه آن، مرگ نورون مغزی است که در نهایت اختلالات حافظه و یادگیری را در پی دارد. از این رو، این فرایند با نام زوال عروقی نیز شناخته می‌شود (۱۸)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد بتوان با تنظیم میزان قند خون

دیابت نوع ۲ یکی از رایج‌ترین بیماری‌های متابولیک است که دلیل اصلی بروز آن ایجاد اختلالی به نام مقاومت انسولین و در نتیجه نقص در ورود قند خون به درون بافت است (۱). این بیماری که معمولاً در بزرگسالان شیوع بیشتری دارد، فراوان‌ترین زیرگونه دیابت است که مشابه با سایر انواع این بیماری یکی از علائم اصلی آن هایپرگلیسمی است (۱). همزمان با پیشرفت دیابت، هایپرگلیسمی سبب اختلال در سیستم‌های قلبی-عروقی، کلیه، شبکه، عدسی چشم، پوست و سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌شود (۱). دیابت به هر دو سیستم عصبی مرکزی و محیطی از طریق آپوپتوز (Apoptosis) نورون‌های پایه‌ای آسیب می‌رساند و افزایش قند خون ناشی از دیابت، عوارض عروقی ریز شدیدی مانند نوروپاتی، نوروپاتی و رتینوپاتی (Retinopathy) ایجاد می‌کند. شایع‌ترین عوارض دیابت، نوروپاتی‌های دیابتی هستند که اختلالات سیستم عصبی خودکار و سیستم عصبی ارادی را همراه دارند (۲). در نهایت، اختلالات عصبی در بیماران مبتلا به دیابت با افزایش آتروفی بافت مغز همراه است (۳).

به طور ویژه گزارش شده است که قند خون بالا آثار مخربی بر مناطق ویژه‌ای از مغز مانند نورون‌های هیپوکمپ داشته و موجب نقص در یادگیری، حافظه، توانایی حل مسئله و اختلالات ذهنی - حرکتی و شناختی در افراد دیابتی می‌شود (۴). در بیماران دیابتی حجم هیپوکمپ کاهش قابل توجهی را در مقایسه با بیماران غیر دیابتی نشان می‌دهد که می‌توان دلیل آن را تخریب سلول‌های عصبی در این ناحیه که تحت تاثیر بیماری دیابت هستند، دانست (۴). هرچند سازوکارهای تخریب سلول‌های عصبی ناشی از دیابت در هیپوکمپ کاملاً مشخص نشده است، اما سازوکارهایی مانند آتروفی دندریتی، تنظیم کاهشی گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید (Glucocorticoids)، تغییر بیان گیرنده‌های عامل رشد شبه انسولینی، کاهش ناقلان انسولین و القای آپوپتوز مطرح شده است (۳). به هر حال، شیوع بیماری‌های تخریب عصب بین بیماران دارای دیابت نوع ۲ رو به افزایش است؛ به طوری که در حال حاضر تقریباً ۲۰ درصد از بیماری‌های تخریب عصب با بیماری دیابت نوع ۲ مرتبط هستند (۵).

از جمله روش‌های کاربردی برای تنظیم قند خون بیماران دیابتی می‌توان به دارودرمانی و تغییر سبک زندگی از طریق ورزش و تغییرات در رژیم غذایی اشاره کرد. ورزش فواید سلامتی گوناگونی مانند افزایش طول عمر، محافظت در برابر بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، سرطان و بیماری‌های تخریب عصبی دارد (۶). ورزش سبب توسعه یادگیری و حافظه، تاخیر زوال شناختی مرتبط با سن و کاهش خطر تخریب عصب می‌شود (۷). همچنین پژوهش‌ها نشان داده است که فعالیت بدنی علاوه بر توسعه عملکرد رفتاری، سبب ارتقای شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکمپ که یک ساختار کلیدی برای یادگیری است، می‌شود (۶).

به هر حال، یکی از سازوکارهای مهمی که ورزش از طریق آن می‌تواند بر سلامت سیستم عصبی مرکزی تاثیرگذار باشد، ترشح برخی پروتئین‌ها در سیستم عصبی مرکزی است. یکی از عوامل مهم از این دسته یک گلیکوپروتئین با نام پروتئین ۵ حاوی دامنه فیبرونکتین نوع III (FNDC5III- Fibronectin type III domain-containing protein 5) است که در گذشته اثرات حفاظت نورونی این عامل به خوبی نشان داده شده است (۸). پژوهش‌های پیشین گزارش کرده‌اند که این عامل با افزایش مصرف انرژی، لیپولیز و حساسیت به انسولین موجب تعدیل عوارض دیابت می‌شود (۹). از طرفی FNDC5

(۲۲). پودر عصاره‌ها تا زمان استفاده در فریزر و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این مطالعه به موش‌های گروه DS و DTS به طور روزانه به اندازه ۲۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن عصاره زعفران در ۲ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و روزانه یک وهله راس ساعت ۸ صبح و ۷ روز هفته به مدت ۶ هفته از طریق گاوژ دریافت کردند. همزمان به موش‌های گروه‌های دیگر نیز روزانه به همان اندازه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان حلال عصاره زعفران گاوژ می‌شد (۲۳).

روش انجام پروتکل تمرینی به این صورت بود که پس از پایان یک هفته سازگاری، جهت آشنایی موش‌ها با تمرین مقاومتی و نحوه بالا رفتن از نردبان، هر یک از آن‌ها روی پایین‌ترین پله نردبان قرار گرفته و بدون اتصال وزنه و قرار دادن اندام‌های عقبی آن‌ها روی پله‌ها، بالا رفتن از نردبان آموزش داده شد. برای وادار کردن موش‌ها به حرکت روی نردبان هنگام ایستادن روی یک پله نردبان و توقف از طریق لمس دم آن‌ها، موش‌ها شرطی می‌شدند و به حرکت خود ادامه می‌دادند. برنامه آشناسازی با بالا رفتن از نردبان به مدت یک هفته و یک روز در میان و هر جلسه سه الی چهار تکرار بدون اتصال وزنه انجام شد. پروتکل تمرین مقاومتی شامل شش هفته بالا رفتن از نردبان بود. ارتفاع نردبان یک متر بود که فاصله بین هر دو پله آن دو سانتی‌متر و شب آن به صورت قائم بود. جهت آشناسازی با بالا رفتن از نردبان و قبل از شروع دوره تمرینی، موش‌ها به کمک تمرین‌دهنده و بدون اتصال وزنه‌ای به آن‌ها، با سه تا پنج تکرار وادار به بالا رفتن از پله‌ها شدند. پیش از شروع برنامه تمرینی، موش‌ها سه تکرار را بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها به منظور گرم کردن از نردبان بالا رفتند. وزنه انتخاب‌شده در شروع تمرین ۳۰ درصد وزن بدن موش‌ها بود و تا ۱۰۰ درصد وزن آن‌ها افزایش داده می‌شد. پروتکل تمرین به این صورت بود که وزنه‌ها با چسب لوکوپلاست (پیش از تمرین حساسیت دم موش‌ها به این نوع چسب بررسی شد) به ابتدای دم موش‌ها متصل می‌شد. موش‌ها با هر وزنه متصل‌شده دو تکرار را انجام می‌دادند، سپس وزنه جدید به دم آن‌ها اضافه می‌شد. بار تمرین شامل ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد بیشترین وزنه‌ای بود که موش‌ها موفق به بالا بردن آن از نردبان شده بودند. در آخرین جلسه هر هفته تمرین، پس از انجام برنامه تمرینی آن جلسه و استراحت موش‌ها، حداکثر وزنه‌ای که موش‌ها قادر به بالا بردن آن بودند، مشخص می‌شد. به این صورت که به وزنه آخرین تکرار انجام‌شده، وزنه اضافه می‌شد و تا زمانی که موش‌ها قادر به بالا بردن وزنه نبودند، ادامه می‌یافت (۲۴). ۲۴ ساعت بعد از پایان پروتکل تمرینی، حیوانات با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گزانتین (۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و ابتدا نمونه خونی گرفته شد، سپس هاپیو کمپ حیوانات جدا شد. بافت‌ها تا زمان آنالیز در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۵). نمونه‌های خون برای مدت ۴۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند و به منظور تهیه سرم با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. اندازه‌گیری گلوکز سرم با استفاده از کیت بیوشیمی و به روش آنزیماتیک (روش گلوکز اکسیداز) انجام شد. همچنین، صد میلی‌گرم از بافت هاپیو کمپ با بافر سالین در یک بشر استریل شست‌وشو و در یک میلی‌لیتر از بافر سالین هموژن شد. سپس بافت به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از پایان این زمان، بافت از حالت انجماد خارج و دوباره منجمد شد. این عمل سه بار تکرار شد تا غشای پلاسمایی تخریب شود. سپس ترکیب حاصل به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. در نهایت، محلول رویی برای سنجش مقدار FNDC5 استفاده شد. مقدار FNDC5 با کیت الایزا (حساسیت: ۰/۱۵۶ نانوگرم/میلی‌لیتر، دامنه تشخیص: ۰/۶۲۵-۴۰ نانوگرم/میلی‌لیتر، کازابایو، ژاپن) بر اساس دستورالعمل شرکت مربوطه اندازه‌گیری شد.

و پروتئین FNDC5 با اختلالات شناختی مقابله کرد. از طرفی به خوبی روشن شده است که بهترین راهکار درمانی دیابت ترکیبی از برنامه ورزشی و رژیم غذایی همراه با داروهای مناسب است (۱۹)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد مصرف عصاره گیاهان دارویی همراه با فعالیت ورزشی به دلیل عوارض جانبی کم و کارایی بالا راهکار درمانی مفیدی برای بیماری دیابت است و پژوهش در این باره اهمیت زیادی دارد؛ از این رو، به دلیل هم‌افزایی درمان دارویی و ورزش، هدف این پژوهش بررسی اثر مصرف عصاره آبی زعفران حین تمرین مقاومتی بر میزان گلوکز خون و سطوح پروتئین FNDC5 در هیپوکمپ موش‌های دارای دیابت نوع ۲ است.

## روش کار

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد اسپراگ - داولی که در مرکز پرورش حیوانات واقع در موسسه سرم‌سازی رازی شیراز تکثیر شده بودند، استفاده شد. حیوانات به اتاق نگهداری حیوانات در مرکز سلول‌های بنیادی شیراز با دمای محیطی  $22 \pm 2$  سانتی‌گراد، نور کنترل‌شده (چرخه ۱۲ ساعته روشنایی/تاریکی) منتقل شده و دوره سازش‌پذیری هشت روزه را طی کردند. دسترسی حیوانات به آب و غذا در طول دوره آزاد بود. همچنین، کمیته اخلاق حیوانات، روش مطالعه حاضر را در دانشگاه علوم پزشکی کردستان تایید کرد (کد اخلاق: IR.muk.REC.1398.5008).

در روز هشتم، پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، با تزریق درون صفاقی ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم محلول استرپتوزوسین (Sigma, St. Louis, MO) حل شده در بافر سیترات تازه (۰/۵ مول/لیتر، pH: ۴/۵) دیابت القا شد (۲۰). به موش‌های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق شد. چهار روز پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک با لانس بر روی ورید دم، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفت و نوار با دستگاه گلوکومتر (Glucotrend 2، شرکت روزه آلمان) اندازه‌گیری و موش‌هایی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر بود، دیابتی در نظر گرفته شدند (۲۱). در نهایت، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی با میانگین وزن ۳۰۸ گرم وارد آزمایش شدند. مداخلات تجربی شامل برنامه تمرینی و مصرف عصاره آبی زعفران، یک هفته پس از القای دیابت و نگهداری موش‌ها صورت گرفت. موش‌ها به طور تصادفی بر اساس گلوکز خون به پنج گروه مساوی شامل کنترل (C)؛ دیابت (D)؛ دیابت-تمرین مقاومتی (DT)؛ دیابت-عصاره زعفران (DS) و دیابت-تمرین مقاومتی-عصاره زعفران (DTS) تقسیم شدند. به گروه‌های DT و DTS پنج روز در هفته تمرین مقاومتی داده شد.

نحوه تهیه و خوراندن عصاره آبی زعفران به این شکل بود که کلاله خشک زعفران (*Crocus sativus L*) خوراکی معروف به زعفران پوشالی قانئات تهیه شد. سپس برای آماده کردن عصاره آبی زعفران از روش خیساندن (Maceration method) استفاده شد. به این ترتیب که پس از ریختن کلاله خشک‌شده زعفران در داخل ظرف شیشه‌ای استوانه‌ای (بشر) به ازای هر ۱ گرم کلاله زعفران ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ظروف اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر روی دستگاه چرخاننده به آرامی مخلوط شد تا استخراج به خوبی صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه با صافی از هم جدا تا عصاره اولیه به دست آید. عصاره اولیه وارد دستگاه تقطیر در خلأ شد و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حلال آن‌ها به آرامی تبخیر شد و عصاره تغلیظ شده به دست آمد. محلول حاصل به مدت دو هفته در دستگاه بن‌ماری با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا حلال عصاره نیز به آرامی تبخیر شده و پودر عصاره به جا بماند

روش تجزیه و تحلیل  
تمام عملیات آماری با استفاده از نرم افزار spss نسخه ۲۲ انجام شد. نتایج آزمون کولموگروف - اسمیرنوف نشان داد که داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند؛ بنابراین، برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری  $p < 0.05$  استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت  $Mean \pm SD$  بیان شده است.

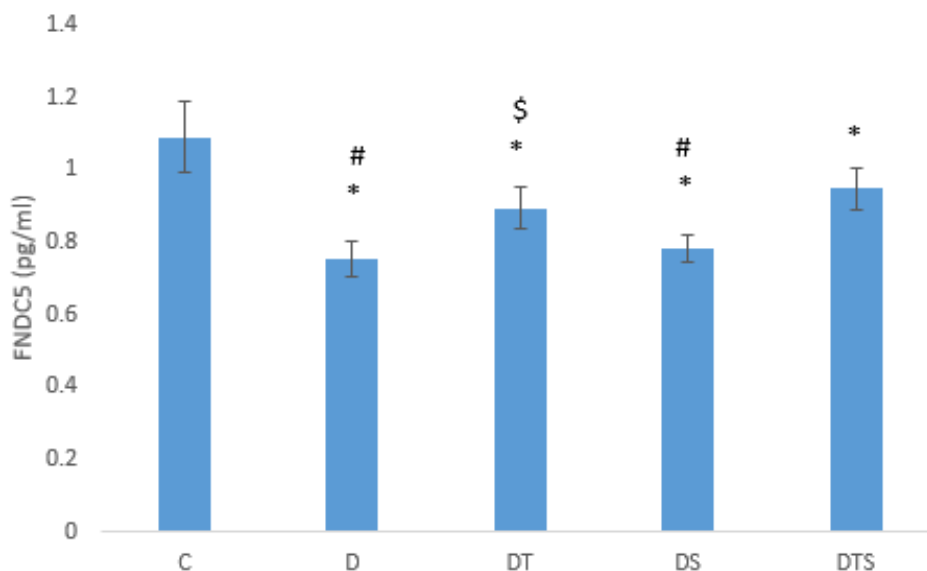
## یافته‌ها

نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در میزان گلوکز خون در گروه‌های مورد مطالعه وجود دارد ( $p=0.001$ ). سطوح گلوکز خون تمام گروه‌های تجربی به طور معناداری از گروه C بیشتر بود ( $p=0.001$ ). میزان گلوکز خون در گروه‌های DT، DS و DTS به طور معناداری پایین‌تر از گروه D بود ( $p=0.001$ ). همچنین، در گروه DTS میزان گلوکز خون به طور معناداری کمتر از گروه DT بود ( $p=0.014$ ) (جدول ۱). نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در سطوح پروتئین FNDC5 در گروه‌های مورد مطالعه وجود دارد

جدول ۱: سطوح سرمی گلوکز گروه‌های مورد مطالعه (mean±SD)

| گروه‌ها | سطوح گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر) |
|---------|--------------------------------|
| C       | ۹۷/۳۷ ± ۶/۱۸                   |
| D       | ۳۹۵/۲ ± ۱۹/۰۶*                 |
| DT      | ۳۱۵/۳۳ ± ۲۰/۹۱ <sup>#</sup>    |
| DS      | ۳۰۵/۴۴ ± ۴/۲۱ <sup>#</sup>     |
| DTS     | ۲۹۱/۸۸ ± ۱۰/۶۹ <sup>#</sup>    |

\* تفاوت معنادار با گروه C، <sup>#</sup> تفاوت معنادار با گروه D  
C: کنترل؛ D: دیابت؛ DT: دیابت-تمرین؛ DS: دیابت-مکمل؛ DTS: دیابت-تمرین-مکمل



شکل ۱: سطوح پروتئین FNDC5 هاپیو کمپ در گروه‌های مورد مطالعه  
\* تفاوت معنادار با گروه C؛ <sup>#</sup> تفاوت معنادار با گروه DTS؛ \$ تفاوت معنادار با گروه DS  
C: کنترل؛ D: دیابت؛ DT: دیابت-تمرین؛ DS: دیابت-مکمل؛ DTS: دیابت-تمرین-مکمل

گلوکز خون، روشن ساخت که سطوح گلوکز خون گروه‌های دیابتی به شکل معناداری بیشتر از گروه‌های غیر دیابتی بود. همچنین، مصرف عصاره زعفران به تنهایی و همراه با تمرین مقاومتی میزان گلوکز خون گروه‌های دیابتی را به شکل معناداری کاهش داد. همسو با این نتایج، در پژوهش‌های مختلفی نیز کاهش معنادار در سطوح گلوکز استراحتی خون پس از تمرینات اینتروال، هوازی، مقاومتی و ترکیبی گزارش شده است (۱۹، ۲۵).

از این رو، متخصصان، ورزش جسمانی را به عنوان یک روش غیر دارویی موثر برای تنظیم قند خون افراد چاق و دیابتی به کار می‌گیرند (۱۹، ۲۶) و نشان داده شده که سازوکارهای زیادی در این امر دخیل هستند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به افزایش حساسیت انسولینی و انقباض عضلانی اشاره کرد که موجب تعدیل قند خون می‌شوند. تا آنجا که گزارش شده نه تنها حین ورزش بلکه تا ۲۴ ساعت پس از ورزش برداشت گلوکز بیشتر از حالت طبیعی است (۲۷) و بیشتر پژوهشگران کاهش جذب و انتقال غشایی به دلیل افزایش مقاومت انسولینی را از عوامل مهم در این زمینه می‌دانند که موجب ایجاد هایپرگلیسمی مزمن و در نهایت ایجاد عوارض دیابت خواهند شد (۲۸).

## بحث

با توجه به پژوهش‌های گذشته اثر مثبت فعالیت جسمانی بر دیابت روشن شده است؛ بنابراین، در این مطالعه به بررسی میزان FNDC5 هیپوکمپ موش‌های دیابتی پس از یک دوره تمرین مقاومتی و هم‌زمان مصرف عصاره زعفران پرداخته شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین مقاومتی همراه با عصاره زعفران موجب تعدیل میزان قند خون شد. همچنین دیابت با کاهش FNDC5 همراه بود. در حالی که تمرین مقاومتی همراه با عصاره زعفران و به تنهایی موجب افزایش FNDC5 شد؛ بنابراین، با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش روشن شد که دیابت میزان FNDC5 را به طور معناداری کاهش داد، این در حالی بود که تمرین مقاومتی به طور معناداری با تاثیر دیابت بر کاهش FNDC5 مقابله کرد، اما عصاره زعفران تاثیر معناداری بر این عامل نداشت. از سوی دیگر، در پژوهش‌های پیشین به خوبی روشن شده است که فعالیت جسمانی منظم راهکار مفیدی برای درمان و تعدیل عوارض T2DM است (۱۹). همسو با آن، نتایج حاصل از تحلیل داده‌های میزان



تناقض در سازوکارهای بیان شده احتمال دارد به علت اختلاف در نوع، شدت، مدت و حجم پروتکل تمرینی باشد؛ چرا که در پژوهش‌های گذشته از تمرینات در آب و تمرین استقامتی بر روی تردمیل به‌عنوان عامل مداخله‌گر استفاده شده است و شدت تمرین در بیماران دیابتی عاملی مهم تلقی می‌شود؛ به این دلیل که تمرینات شدید با تولید اسید لاکتیک بیشتر در این بیماران می‌تواند سازوکارهای مد نظر را به شکل قابل توجهی دچار تغییر کند (۳۱).

از سوی دیگر، اختلاف معناداری بین میزان FNDC5 دو گروه DS و D وجود نداشت. به نظر می‌رسد، با توجه به اثرات سودمند عصاره زعفران در بیماری دیابت که پیشتر نشان داده شده است (۳۵)، احتمالاً عصاره زعفران از طریق سازوکارهای دیگری در تعدیل عوارض این بیماری نقش داشته باشد یا اینکه علت این تناقض در دز یا دستور مصرف این ماده باشد. البته بیشتر افزایش میزان FNDC5 از انقباض عضلات اسکلتی و سایر بافت‌های غیر عصبی در خون ترشح شده و با عبور از سد خونی-مغزی وارد بافت مغز می‌شود؛ بنابراین، با توجه به سازوکار افزایش FNDC5 ممکن است مصرف عصاره زعفران نقشی در این افزایش نداشته باشد (۳۰). با توجه به دانش ما، بررسی میزان FNDC5 بعد از یک دوره تمرین مقاومتی همراه با مصرف عصاره زعفران در هیپوکمپ نمونه‌های دیابت پیشتر انجام نشده است و داده‌های ما بیانگر افزایش این عامل در گروه‌های دیابتی بر اثر تمرین مقاومتی است. اما مکمل‌سازی عصاره زعفران همراه با تمرین نیز نتوانست میزان FNDC5 در هیپوکمپ را به مقادیر طبیعی در حد گروه کنترل افزایش دهد. در این باره، در تحقیقی احمد و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی اثر مصرف عصاره زعفران بر سطوح نروتروفین‌ها گزارش کردند که میزان پروتئین BDNF هیپوکمپ با مصرف عصاره زعفران و مکمل‌سازی آن با تمرین استقامتی افزایش می‌یابد و از این طریق در بهبود یادگیری و عملکرد شناختی موثر است (۳۶).

همچنین در پژوهش حاضر به میزان FNDC5 در هیپوکمپ، به‌عنوان عامل مرتبط با عملکرد شناختی توجه شد که پژوهشگران آن را به‌عنوان یک عامل حفاظت‌نورونی مشخص کرده‌اند که موجب ارتقای سلامت مغز بیماران دیابتی و غیر دیابتی می‌شود (۳۷). از سوی دیگر، بالاتر بودن میزان FNDC5 هیپوکمپ گروه کنترل از سایر گروه‌ها بیانگر این است که مصرف عصاره زعفران همراه با تمرین مقاومتی هم نتوانست مقادیر این پروتئین را به سطوح طبیعی برساند. همچنین از آنجا که سطوح FNDC5 هیپوکمپ گروه تمرین مقاومتی و عصاره زعفران از سایر گروه‌های دیابتی بیشتر بود اما تفاوتی با گروه DT نداشت، به نظر می‌رسد که مکمل‌سازی عصاره زعفران در خلال تمرین مقاومتی موجب هم‌افزایی در جهت افزایش میزان FNDC5 هیپوکمپ نمونه‌های دیابتی نمی‌شود. حال از آنجا که FNDC5 با تأثیر مثبت بر سازوکارهای التهابی، فشار اکسیداتیو، شکل‌پذیری سیناپسی و افزایش نروتروفین‌ها به‌عنوان یک عامل حفاظت‌نورونی شناخته شده است (۱۴، ۳۷، ۳۸)، مطالعات بیشتری باید انجام شود که شاید اثر هم‌افزایی مکمل‌سازی عصاره زعفران همراه با تمرین مقاومتی یا حتی تمرین استقامتی در نمونه‌های دیابتی بهتر مشخص شود. همچنین با توجه به اینکه هیپوکمپ در عملکردهای یادگیری و حافظه نقش مهمی دارد شاید بتوان گفت که ورزش مقاومتی از طریق بهبود نرون‌زایی و شکل‌پذیری عصبی در این بخش از مغز موجب ارتقای عملکردهای شناختی و یادگیری شده است (۳۸، ۳۹). از این رو، با توجه به نقش تخریبی که دیابت در عملکردهای شناختی و کاهش FNDC5 هیپوکمپ دارد شاید بتوان تأثیر مفید تمرین مقاومتی را در این باره شرح داد (۳۹، ۴۱). به طور کلی، با توجه به اینکه شناسایی اختلالات شناختی و سازوکارهای درگیر در دیابت برای مقابله با پیامدهای خطرناک اهمیت زیادی دارد (۱۷)؛ بنابراین، راهکارهای درمانی مناسب از جمله تمرین جسمانی و مصرف عصاره برخی گیاهان دارویی ممکن است به دلیل هزینه و عوارض کم بتواند بهتر از به‌کارگیری تمرین به‌تنهایی در افزایش عوامل حفاظت‌نورونی تأثیرگذار باشد (۳۷) و این برای مبتلایان به این بیماری اهمیت

همسو با نتایج مطالعه حاضر، نشان داده شده که دیابت موجب کاهش FNDC5 می‌شود (۲۹). هرچند چند پژوهش دیگر به بررسی این فرایندها پرداخته‌اند، اما سازوکارهای موثر در آن هنوز هم به طور کامل روشن نشده است. اما در برخی از آن‌ها گزارش شده که تشدید سازوکارهای آپوپتوز و اختلال در مسیر PGC-1 $\alpha$ - Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 $\alpha$  در این زمینه نقش ایفا می‌کند (۲۶). از طرفی با توجه به مطالعات پیشین افزایش این عامل خود موجب تولید آبریزین شده که در افزایش بیان BDNF نقش دارد. BDNF یکی از مهم‌ترین سازوکارهای تعدیل قند خون و حفاظت نورونی شناخته شده است (۱۱، ۳۰). حال با توجه به کاهش FNDC5 در بیماران دیابتی به نظر می‌رسد با افزایش این عامل بتوان موجب تعدیل هایپرگلیسمی و عوارض ناشی از دیابت شد (۳۱). همچنین، نتایج حاصل از داده‌های این پژوهش روشن ساخت که میزان FNDC5 هیپوکمپ گروه D به شکل معناداری از گروه‌های دیگر کمتر بود. هر چند در گذشته سازوکارهای درگیر در کاهش FNDC5 به علت دیابت به‌درستی روشن نشده است، اما در برخی از پژوهش‌ها بر نقش سازوکارهایی از جمله اختلال در مسیر SMAD3- Mothers against decapentaplegic homolog 3 و AMPK/mTOR و PGC-1 $\alpha$  همچنین افزایش بیان عامل‌های مرگ سلولی مانند سیتوکروم c (Cytochrome c) و کاسپاز ۳ (Caspase 3) تأکید شده است (۳۰، ۳۲). از سوی دیگر به دلیل بیان درصد بالایی از این عامل در عضلات اسکلتی و کبد، سپس انتقال آن از طریق سد خونی-مغزی به بخش‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی این امکان وجود دارد که دیابت با اختلال در این سازوکار مقادیر آن در بافت هیپوکمپ را کاهش دهد (۱۱، ۳۳). همسو با این نتایج گالهرم (Guilherme) و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که FNDC5 به اندازه زیادی در عضلات در حال انقباض تولید می‌شود، سپس از طریق جریان خون و عبور از سد خونی-مغزی وارد بافت عصبی مغز می‌شود (۳۳). همچنین، جانگ و همکاران (۲۰۲۱) نیز در نتایج پژوهش خود تأیید کردند که انجام یک دوره تمرین استقامتی موجب تحریک مسیر PGC-1 $\alpha$ - FNDC5 و از این طریق تحریک فرایندهای حفاظت عصبی می‌شود (۳۲). با توجه به ارتباط مستقیم افزایش FNDC5 با BDNF می‌توان نتیجه گرفت که میزان این عامل با گلوکز خون دارای همبستگی بالایی است؛ بنابراین، به نظر می‌رسد سازوکارهای تخریبی ناشی از هایپرگلیسمی در کاهش FNDC5 در اثر دیابت درگیر باشند. همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین مقاومتی در گروه‌های دیابتی موجب افزایش میزان FNDC5 در هیپوکمپ شد به طوری که میزان آن در گروه DT به طور معناداری بیشتر از گروه D بود. هرچند هنوز سازوکارهای درگیر در این فرایند به طور دقیق مشخص نیست، اما در پژوهش‌هایی که به تأثیر ورزش بر این عامل را توجه کرده بودند به تقویت مسیر AMPK/mTOR و PGC-1 $\alpha$  و جلوگیری از تحریک سازوکارهای آپوپتوز بر اثر فعالیت بدنی اشاره کرده‌اند (۳۰، ۳۲). همچنین، برخی دیگر مشارکت مسیرهای MAPK- ERK- extracellular- mitogen-activated protein kinase و signal related kinase وابسته به p38 را در بیان این عامل ضروری می‌دانند (۳۰). همسو با این نتایج، جانگ (Jiang) و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که میزان FNDC5 در موش‌های دیابتی‌شده با تزریق STZ و دارای رژیم پرچرب به طور معناداری کاهش می‌یابد (۳۴). همچنین، کریستن (Christiane) و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که فعالیت جسمانی استقامتی از طریق فعالسازی مسیر FNDC5/irisin - PGC-1 $\alpha$  موجب بهبود فرایندهای حفاظت‌نورونی می‌شود (۳۵). البته

### تشکر و قدردانی

از همه افرادی که در انجام پژوهش حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

### حامی مالی

پژوهش حاضر با کمک مالی معاونت پژوهش دانشگاه لرستان به انجام رسیده است.

### سهم نویسندگان

همه نویسندگان در مشارکت برای تکمیل این مقاله سهم یکسانی داشته‌اند.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

### References

- Kumar R, Saha P, Kumar Y, Sahana S, Dubey A, Prakash O. A Review on Diabetes Mellitus: Type1 & Type2. *World J Pharm Pharm Sci*. 2020;9(10):838-50. doi: [10.20959/wjpps202010-17336](https://doi.org/10.20959/wjpps202010-17336)
- Elsharkawy RE, Abdel Azim GS, Osman MA, Maghraby HM, Mohamed RA, Abdelsalam EM, et al. Peripheral polyneuropathy and cognitive impairment in Type II diabetes mellitus. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2021;627-35. doi: [10.2147/NDT.S284308](https://doi.org/10.2147/NDT.S284308)
- Metwally MM, Ebraheim LL, Galal AA. Potential therapeutic role of melatonin on STZ-induced diabetic central neuropathy: A biochemical, histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study. *Acta Histochem*. 2018;120(8):828-36. doi: [10.1016/j.acthis.2018.09.008](https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.09.008) PMID: [30268437](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30268437/)
- Cembrowski MS, Spruston N. Heterogeneity within classical cell types is the rule: lessons from hippocampal pyramidal neurons. *Nat Rev Neurosci*. 2019;20(4):193-204. doi: [10.1016/j.acthis.2018.09.008](https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.09.008)
- Stanciu GD, Bild V, Ababei DC, Rusu RN, Cobzaru A, Paduraru L, et al. Link between diabetes and Alzheimer's disease due to the shared amyloid aggregation and deposition involving both neurodegenerative changes and neurovascular damages. *J Clin Med*. 2020;9(6):1713. doi: [10.3390/jcm9061713](https://doi.org/10.3390/jcm9061713)
- Triviño-Paredes J, Patten AR, Gil-Mohapel J, Christie BR. The effects of hormones and physical exercise on hippocampal structural plasticity. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2016;41:23-43. doi: [10.1016/j.yfrme.2016.03.001](https://doi.org/10.1016/j.yfrme.2016.03.001)
- Patten AR, Sickmann H, Hryciw BN, Kucharsky T, Parton R, Kernick A, et al. Long-term exercise is needed to enhance synaptic plasticity in the hippocampus. *Learning & memory*. 2013;20(11):642-7. doi: [10.1101/lm.030635.113](https://doi.org/10.1101/lm.030635.113)
- Lima-Filho R, Fortuna JS, Cozachenko D, Isaac AR, Lyra E Silva N, Saldanha A, Santos LE, Ferreira ST, Lourenco MV, De Felice FG. Brain FND5/Irisin Expression in Patients and Mouse Models of Major Depression. *eNeuro*. 2023;10(2):ENEURO.0256-22.2023. doi: [10.1523/ENEURO.0256-22.2023](https://doi.org/10.1523/ENEURO.0256-22.2023) PMID: [36697257](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36697257/)
- Yang X, Ni L, Sun J, Yuan X, Li D. Associations between rs3480 and rs16835198 gene polymorphisms of FND5 with type 2 diabetes mellitus susceptibility: a meta-analysis. *Front Endocrinol*. 2022;13:946982. doi: [10.3389/fendo.2022.946982](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.946982)
- Lourenco MV, Frozza RL, de Freitas GB, Zhang H, Kincheski GC, Ribeiro FC, et al. Exercise-linked FND5/Irisin rescues synaptic plasticity and memory defects in Alzheimer's models. *Nature medicine*. 2019;25(1):165-75. doi: [10.3389/fendo.2022.946982](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.946982)
- Dupuis O, Girardie J, Van Gaever M, Garnier P, Coq J-O, Canu M-H, et al. Early Movement Restriction Affects FND5/Irisin and BDNF Levels in Rat Muscle and Brain. *Int J Mol Sci*. 2024;25(7):3918. doi: [10.3390/ijms25073918](https://doi.org/10.3390/ijms25073918) PMID: [38612728](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38612728/)
- Lourenco MV, de Freitas GB, Raony Í, Ferreira ST, De Felice FG. Irisin stimulates protective signaling pathways in rat hippocampal neurons. *Front Cell Neurosci*. 2022;16:953991. doi: [10.3389/fncel.2022.953991](https://doi.org/10.3389/fncel.2022.953991) PMID: [36187295](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36187295/)
- Jaberi S, Fahnestock M. Mechanisms of the Beneficial Effects of Exercise on Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in Alzheimer's Disease. *Biomolecules*. 2023;13(11):1577. doi: [10.3390/biom13111577](https://doi.org/10.3390/biom13111577)
- Akbari-Fakhrabadi M, Najafi M, Mortazavian S, Memari A-H, Shidfar F, Shahbazi A, et al. Saffron (*Crocus Sativus L.*), combined with endurance exercise, synergistically enhances BDNF, serotonin, and NT-3 in Wistar Rats. *Rep Biochem Mol Biol*. 2021;9(4):426-434. doi: [10.52547/rbmb.9.4.426](https://doi.org/10.52547/rbmb.9.4.426) PMID: [33969136](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33969136/)
- Sani A, Tajik A, Seiiedi SS, Khadem R, Tootooni H, Taherynejad M, et al. A review of the anti-diabetic potential of saffron. *Nutr Metab Insights*. 2022;15:11786388221095223. doi: [10.1177/11786388221095223](https://doi.org/10.1177/11786388221095223) PMID: [35911474](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35911474/)
- Yang W, Qiu X, Wu Q, Chang F, Zhou T, Zhou M, Pei J. Active constituents of saffron (*Crocus sativus L.*) and their prospects in treating neurodegenerative diseases (Review). *Exp Ther Med*. 2023;25(5):235. doi: [10.3892/etm.2023.11934](https://doi.org/10.3892/etm.2023.11934) PMID: [37114174](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37114174/)
- Sumbul-Sekerci B, Sekerci A, Pasin O, Durmus E, Yuksel-Salduz ZI. Cognition and BDNF levels in prediabetes and diabetes: A mediation analysis of a cross-sectional study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1120127. doi: [10.3389/fendo.2023.1120127](https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1120127) PMID: [36936159](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36936159/)
- Cholerton B, Baker LD, Montine TJ, Craft S. Type 2 diabetes, cognition, and dementia in older adults: toward a precision health approach. *Diabetes Spectr*. 2016;29(4):210-19. doi: [10.2337/ds16-0041](https://doi.org/10.2337/ds16-0041) PMID: [27899872](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27899872/)
- Ribeiro AKPL, Carvalho JPR, Bento-Torres NVO. Physical exercise as treatment for adults with type 2 diabetes: a rapid review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1233906. doi: [10.3389/fendo.2023.1233906](https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1233906) PMID: [37842305](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37842305/)
- Abbas A. Cellular and molecular immunology. HBJ International Edition. 1991:226-42.
- Wei M, Ong L, Smith MT, Ross FB, Schmid K, Hoey AJ, et al. The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. *Heart Lung Circ*. 2003;12(1):44-50. doi: [10.1046/j.1444-2892.2003.00160.x](https://doi.org/10.1046/j.1444-2892.2003.00160.x) PMID: [16352106](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16352106/)
- Rameshrad M, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Saffron and its derivatives, crocin, crocetin and safranal: a patent review. *Expert Opin Ther Pat*. 2018;28(2):147-65. doi: [10.1080/13543776.2017.1355909](https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1355909)



23. Hosseini S, Azarbayjani M. The effect of aqua extract of saffron with resistance training on glycemic indexes of streptozotocin induced diabetic rats. *Armaghane danesh*. 2013;**18**(4):284-94. [Link](#)
24. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. *Journal of Exercise physiology online*. 2003;**6**(2). [Link](#)
25. Kurd M, Valipour Dehnou V, Tavakoli SA, Gahreman DE. Effects of endurance training on hippocampus DJ-1, cannabinoid receptor type 2 and blood glucose concentration in diabetic rats. *J Diabetes Investig* . 2019;**10**(1):43-50. [doi: 10.1111/jdi.12868](#)
26. Karami H, Dehnou VV, Nazari A, Gahreman D. Regular training has a greater effect on aerobic capacity, fasting blood glucose and blood lipids in obese adolescent males compared to irregular training. *Journal of Exercise Science & Fitness*. 2021;**19**(2):98-103. [doi: 10.1016/j.jesf.2020.11.003](#)
27. Ehiem CI. Implementation of Mobile App Glucose Buddy to Self-Monitor and Manage Blood Glucose and Exercise to Reduce A1c Levels in Adults With Type 2 Diabetes Over Three Months: University of Massachusetts Global. 2023. [Link](#)
28. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 pathway. *Cell metabolism*. 2013;**18**(5):649-59. [Link](#)
29. Lin C, Guo Y, Xia Y, Li C, Xu X, Qi T, et al. FNDC5/Irisin attenuates diabetic cardiomyopathy in a type 2 diabetes mouse model by activation of integrin  $\alpha$ V/ $\beta$ 5-AKT signaling and reduction of oxidative/nitrosative stress. *J Mol Cell Cardiol*. 2021;**160**:27-41. [doi: 10.1016/j.yjmcc.2021.06.013](#) [pmid: 34224725](#)
30. Wrann CD. FNDC5/Irisin—their role in the nervous system and as a mediator for beneficial effects of exercise on the brain. *Brain plasticity*. 2015;**1**(1):55-61. [doi: 10.3233/BPL-150019](#)
31. Wa R, Bradley M, Elliott T. Akt/PKB activation and insulin signaling: a novel insulin signaling pathway in the treatment of type 2 diabetes metabolic dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2014;**7**:55-64. [doi: 10.2147/DMSO.S48260](#) [pmid: 24611020](#)
32. Jiang S, Piao L, Ma EB, Ha H, Huh JY. Associations of circulating irisin with FNDC5 expression in fat and muscle in type 1 and type 2 diabetic mice. *Biomolecules*. 2021;**11**(2):322. [doi: 10.3390/biom11020322](#) [pmid: 33672565](#)
33. de Freitas GB, Lourenco MV, De Felice FG. Protective actions of exercise-related FNDC5/Irisin in memory and Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2020;**155**(6):602-11. [doi: 10.1111/jnc.15039](#) [pmid: 32396989](#)
34. Zhao T, Le S, Freitag N, Schumann M, Wang X, Cheng S. Effect of chronic exercise training on blood lactate metabolism among patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Front Physiol*. 2021;**12**:652023. [doi: 10.3389/fphys.2021.652023](#) [pmid: 33776804](#)
35. Jazani AM, Karimi A, Azgomi RND. The potential role of saffron (*Crocus Sativus* L.) and its components in oxidative stress in diabetes mellitus: A systematic review. *Clin Nutr ESPEN*. 2022;**48**:148-157. [doi: 10.1016/j.clnesp.2022.01.022](#) [pmid: 35331485](#)
36. Ahmad S, Khan A, Tabassum S, Batool Z, Ahmed SB, Khaliq S, et al. Co-administration of Saffron and Chamomile Give Additive Effects of Antidiabetic and Antioxidant Activity with *In vivo* Augmentation of Brain BDNF, Acetylcholine Levels and Cognitive Functions in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Curr Neuropharmacol*. 2022;**11**(1):56-69. [doi: 10.2174/2211556010666210906153253](#)
37. Bahramnejad M, Dehnou VV, Eslami R. A New, Simple and Practical Approach to Increase the Effects of Aerobic Exercise on Serum Levels of Neurotrophic Factors in Adult Males. *Int J Exerc Sci*. 2023;**16**(2):932-41. [pmid: 37650037](#)
38. Liu PZ, Nusslock R. Exercise-mediated neurogenesis in the hippocampus via BDNF. *Front Neurosci*. 2018;**12**:52. [doi: 10.3389/fnins.2018.00052](#) [pmid: 29467613](#)
39. Omidi M, Salehi M, Rezaei R, Koushki Jahromi M. The Effect of 8 Weeks of Concurrent Training on BDNF Values of Brain Hippocampus, Cognitive Function, Blood Glucose and Insulin in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *ijdl* . 2022;**21**(6):390-403. [Link](#)
40. Varghese SM, Joy N, John AM, George G, Chandy GM, Benjamin AI. Sweet Memories or Not? A Comparative Study on Cognitive Impairment in Diabetes Mellitus. *Front Public Health*. 2022;**10**:822062. [doi: 10.3389/fpubh.2022.822062](#) [pmid: 35186849](#)
41. Rozanska O, Uruska A, Zozulinska-Ziolkiewicz D. Brain-derived neurotrophic factor and diabetes. *Int J Mol Sci*. 2020;**21**(3):841. [doi:10.3390/ijms21030841](#)