University of Birjand

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport Research Paper

Spring 2022, 10(21), 78-89

Received: Oct 26, 2020 Accepted: Jan 6, 2021

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of resistance trainings along with Royal jelly supplementation on gene expression of nerve growth factor and tyrosine kinase A receptor in the hippocampal tissue of Alzheimer's male rats

Amin Ashofte[1], Sadegh Cheragh Birjandi[2*], Hossein Taheri-Chadorneshin[3]

1. PhD Student of Exercise Physiology, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Bojnourd, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Sport Sciences, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Bojnourd, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Sport Sciences, University of Bojnord, Bojnourd, Iran.

Abstract

Background and Aim: Although exercise training and antioxidants improve brain health, interactive effect of resistance training and Royal jelly has not yet been well established. Therefore, the aim of the current study was to investigate the effect of resistance training along with Royal jelly supplementation on hippocampal gene expression of nerve growth factor (NGF) and tyrosine kinase A (TrkA) receptor in rat model of Alzheimer's disease. **Materials and Methods:** In this experimental study, 42 male Sprague-Dawley rats were injected by Trimethyltin (8 mg/kg/body weight). Then, the rats were randomly divided into 7 equal groups including control, resistance training, resistance training+100 mg/kg Royal jelly supplementation, resistance training+200 mg/kg Royal jelly supplementation, 100 mg/kg Royal jelly supplementation, 200 mg/kg Royal jelly supplementation and sham groups. The resistance training protocol was performed for 8 weeks, three sessions per week at intensity to 30-100% of their body weight. Gene expression was assessed using Real-Time PCR and all primers were designed by Allele IDv7.8 software. Data were analyzed using two-way analysis of variance and Bonferroni post hoc tests at the $p<0.05$. **Results:** The resistance training induced a significant increase in NGF expression ($p= 0.001$). Moreover, 100 and 200 mg/kg Royal jelly supplementation, resistance training+100 and 200 mg/kg Royal jelly supplementation resulted in a significant increases in expression of NGF and TrkA receptor ($p=0.001$). In addition, the effect of royal jelly supplementation on NGF and TrkA receptor expression was dependent on its dosage, where the dose of 200 mg/kg was significantly higher than the dose of 100 mg/kg ($p=0.001$). **Conclusion:** Both resistance training and Royal jelly supplementation, alone and synergistically, can increase neurotrophins expression in the hippocampus of Alzheimer's rats; however higher dose of Royal jelly supplementation may induce more improvement.

Key words: Alzheimer's disease, Resistance training, Tyrosine kinase A, Nerve growth factor, Royal jelly.

Cite this article:

Ashofte, A., Cheragh Birjandi, S., & Taheri-Chadorneshin, H. (2022). The effect of resistance trainings along with Royal jelly supplementation on gene expression of nerve growth factor and tyrosine kinase A receptor in the hippocampal tissue of Alzheimer's male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, 10***(21), 78-89.**

***Corresponding Author: Islamic Azad University, Bojnourd branch, Bojnourd, Iran;**
Email: S_birjandi2001@yahoo.com https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3849.1600

نشریه مطالعات کاربردی علوم‌زیستی در ورزش
مقاله پژوهشی
بهار ۱۴۰۱، دوره ۱۰، شماره ۲۱، ص ۸۹-۷۸
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۷
دانشگاه بیرجند

اثر تمرینات مقاومتی همراه با مکمل‌دهی ژل رویال بر بیان ژن عامل رشد عصب و گیرنده تیروزین کیناز A در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر آلزایمری شده

امین آشفته[۱]، صادق چراغ بیرجندی[۲*]، حسین طاهری چادرنشین[۲]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، بجنورد، ایران.
۲. استادیار گروه علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، بجنورد، ایران.
۲. استادیار گروه علوم ورزشی، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: اگرچه تمرینات ورزشی و آنتی‌اکسیدان‌ها سلامت مغز را بهبود می بخشند، اثر تعاملی تمرین مقاومتی و ژل رویال به خوبی مشخص نشده است. لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر تمرینات مقاومتی و مکمل‌دهی ژل رویال بر بیان ژن عامل رشد عصب (NGF) و گیرنده تیروزین کیناز A (TrkA) در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر آلزایمری شده بود. **روش تحقیق**: در این مطالعه تجربی، به ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ ـ داولی، تری‌متیل‌تین (۸ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) تزریق شد. سپس موش ها به صورت تصادفی و به طور مساوی به ۷ گروه شامل گروه کنترل، تمرین مقاومتی، تمرین مقاومتی+مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، تمرین مقاومتی+مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، و گروه شم تقسیم شدند. پروتکل تمرین مقاومتی به مدت ۸ هفته، سه جلسه در هفته با شدت ۳۰ تا ۱۰۰ درصد وزن بدن موش ها انجام شد. بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش Real-time PCR انجام شد و تمام پرایمرها توسط نرم افزار Allele IDv7.8 طراحی گردیدند. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، از روش تحلیل واریانس دو-راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی داری $p<0/05$ استفاده شد. **یافته‌ها**: پروتکل تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان NGF گردید ($p=0/001$). مصرف ژل رویال (با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم)، تمرین مقاومتی+مصرف ژل رویال (با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) موجب افزایش معنی‌دار بیان NGF و گیرنده TrkA شد ($p=0/001$). از طرف دیگر، اثر مکمل ژل رویال بر بیان NGF و گیرنده TrkA وابسته به دوز مصرفی بود؛ به گونه ای که اثر دوز ۲۰۰ نسبت به دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم؛ به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p=0/001$). **نتیجه‌گیری**: هر دو مداخله تمرین مقاومتی و مصرف ژل رویال، به تنهایی و در ترکیب با همدیگر، موجب افزایش بیان نوروتروفین‌ها در هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر می گردد؛ اما مصرف ژل رویال با دوز بالاتر، بهبودی بیشتری ایجاد می کند.

واژه‌های کلیدی: بیماری آلزایمر، تمرینات مقاومتی، تیروزین کیناز A، عامل رشد عصبی، ژل رویال.

* نویسنده مسئول، آدرس: بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: S_birjandi2001@yahoo.com
https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3849.1600

مقدمه

بیماری آلزایمر[1] (AD) از شایع‌ترین اختلالات تخریب کننده عصبی وابسته به سن است و در سالمندان و افراد بالای ۶۵ سال، خطر بروز این بیماری دو برابر می‌شود (صالحی و دیگران، ۲۰۲۰). پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰، تقریباً ۴۴ میلیون نفر به این بیماری مبتلا شوند (یوددین[2] و دیگران، ۲۰۲۰). در بیماری های آسیب عصبی عواملی متعددی چون ژنتیک، تغذیه و سبک زندگی اثر گذار است و عواملی چون افزایش آمیلوئید بتا[3] (Aβ) ، جهش ژنتیکی در پروتئین پیشرو آمیلوئید[4] (APP)، تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی و هایپرفسفریلاسیون پروتئین تائو[5] نقش دارند (جیانگ[6] و دیگران، ۲۰۱۷). افزایش Aβ در فضای خارج سلولی منجر به افزایش پلاسمینوژن[7] و فعال کننده پلاسمینوژن بافتی می‌شود، تغییری که نوروسرپین[8] و متالوپروتئیناز ماتریکس-۹[9] (MMP-9) را فعال می‌کند و در نتیجه، موجب اختلال در عملکرد نوروترووفین‌ها می‌شود (موفسان[10] و دیگران، ۲۰۱۹). عملکرد سلول های عصبی، رشد و تمایز، و ریخت شناسی دندریتی، از طریق اثر متقابل به مسیر سیگنالینگ ناچ[11] و عامل رشد عصبی[12] (NGF) وابسته است؛ اما Aβ و NGF در اتصال به گیرنده نوروتروفینی P75 با هم رقابت دارند و با اتصال Aβ به این گیرنده، آپوپتوزیس[13] سلول عصبی القا می‌شود. همچنین متالوپروتئینازها با تخریب گیرنده‌های سطحی غشا مانند گیرنده تیروزین کیناز A[14] (TrkA)، موجب متوقف شدن مسیرهای بیولوژیک سلول عصبی می‌گردند (موفسان و دیگران، ۲۰۱۹؛ شاهد و دیگران، ۲۰۱۸).

با توجه به نقش تغییر سبک زندگی در سلامت جسمی و روانی افراد، به نظر می‌رسد فعالیت‌های بدنی منظم با مکانیسم افزایش نوروترووفین‌ها، بتا اندورفین‌ها[15]، و کاهش استرس اکسیداتیو؛ موجب بهبود عملکرد سیستم عصبی می‌گردند (حسینی و دیگران، ۲۰۲۰). طبق گزارش ها، تمرینات استقامتی موجب افزایش بیان عامل رشد شبه انسولین ـ۱[16] (IGF-1) و گلیکوژن هیپوکامپی[17] (سلامت و دیگران، ۲۰۱۹)، افزایش NGF و کاهش Aβ (شاهد و دیگران، ۲۰۱۸) در موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر می گردند. همچنین گزارش شده که تمرینات استقامتی با شدت متوسط و بالا (صالحی و دیگران، ۲۰۱۷)، و تمرینات مقاومتی (جعفرزاده و دیگران، ۲۰۱۹) اثر معنی‌داری بر افزایش سطوح سرمی عوامل نوروتروفیک دارند؛ اما در مطالعه‌ای گزارش شده که تمرینات ورزشی کمتر از ۴ هفته، تغییر معنی‌داری در سطوح NGF موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت و سالم ایجاد نمی کنند (امیدی و دیگران، ۲۰۱۸). از طرف دیگر، گزارش شده است که ترکیب تمرینات استقامتی و مقاومتی موجب کاهش غلظت NGF قشر مغز می‌گردند (ازبیلی[18] و دیگران، ۲۰۱۷).

اگرچه تمرینات ورزشی اثرات مطلوبی بر بهبود شرایط و کیفیت زندگی دارند، ولی تغذیه مناسب در کنار فعالیت‌های ورزشی، همواره مورد توجه متخصصین تغذیه و ورزش بوده است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان راهکاری غیر تهاجمی و جایگزین داروهای شیمیایی شناخته شده‌اند (حسینی و دیگران، ۲۰۲۰). از بین این مواد، ژل رویال[19] به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی شناخته شده است که از غدد زیر فکی زنبور عسل کارگر[20] ترشح می‌شود و دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، محافظت عصبی، ضد دیابت، کاهنده کلسترول خون و بهبود بیماری‌های مرتبط با سن معرفی شده است (علی[21] و دیگران، ۲۰۲۰). اعتقاد بر آن است که ترکیبات فنولی، استروئیدی و فسفولیپیدی این ماده دارای فعالیت های بیولوژیک سیستم عصبی می‌باشد (علی و دیگران، ۲۰۲۰). در این زمینه، نتایج نشان داده که مصرف ۱۰۰ میلی گرم بازاء هر کیلوگرم وزن بدن از ژل رویال، موجب افزایش بیان هیپوکامپی NGF می گردد (ده بزرگی و دیگران، ۲۰۲۰). مصرف سه درصد ژل رویال از کل غذای دریافتی (به مدت ۱۰ روز) هم، موجب بهبود حافظه فضایی و یادگیری مدل حیوانی آلزایمر گردیده است (زمانی و دیگران، ۲۰۱۲)؛ اما دوز ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن، اثر معنی داری بر عامل نوروتروفیک مشتق از مغز[22] (BDNF) موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر نداشته است (ده بزرگی و دیگران، ۲۰۲۰). اثر تعاملی تمرینات ورزشی با ژل رویال هم مورد بررسی قرار گرفته و در این راستا در مطالعه‌ای نشان داده شده که تمرینات ورزشی همراه با مصرف ژل رویال، موجب افزایش بیان NGF هیپوکامپی موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر نمی شوند (ده بزرگی و دیگران، ۲۰۲۰)؛ در حالی که در حافظه فضایی و احترازی (ده بزرگی و دیگران، ۲۰۲۰)؛ و دوپامین هیپوکامپ (حسنلوئی و دیگران، ۲۰۲۰) موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر، بهبودی حاصل شده است.

بر اساس شواهد موجود، بیشتر مطالعات در زمینه اثر تعاملی

1. Alzheimer's disease
2. Uddin
3. Amyloid beta
4. Amyloid precursor protein
5. Tau protein hyperphosphorylation
6. Jiang
7. Plasminogen
8. Neuroserpin
9. Matrix metalloproteinase 9
10. Mufson
11. Notch signaling
12. Nerve growth factor
13. Apoptosis
14. Tyrosine kinase A
15. Beta-endorphins
16. Insulin-like growth factor-1
17. Hippocampal glycogen
18. Özbeyli
19. Royal jelly
20. Apis mellifera
21. Ali
22. Brain-derived neurotrophic factor

تمرین و ژل رویال، بر محافظت عصبی در مدل‌های حیوانی آلزایمر تمرکز داشته اند و هنوز تاثیر همزمان این دو مداخله به طور کامل شناخته نشده است. با توجه به محدودیت اطلاعات، یافتن بهترین برنامه تمرینی و دوز موثر ژل رویال می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری به محققین حوزه تغذیه ورزشی ارائه نماید. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرینات مقاومتی با و بدون مکمل‌دهی ژل رویال بر سطوح بیان ژن NGF و گیرنده TrkA در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر آلزایمری شده به اجرا درآمد.

روش تحقیق

نمونه های حیوانی: در این کارآزمایی تجربی، ۴۸ سر موش صحرایی نر، نژاد اسپراگو-داولی[1] با سن هشت هفته‌ای و میانگین وزنی ۲۲۰±۲۰/۱۲ گرم، از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت خریداری و به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه مذکور، نمونه‌ها به مدت یک هفته جهت سازگاری در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو[2] (شرکت رازی، ایران)، نگهداری شدند. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد، و چرخه روشنایی ـ تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار (شروع و پایان روشنایی به ترتیب ساعت ۷ و ۱۹ هر روز بود) به طور دقیق توسط تنظیم کننده الکترونیکی نور سالن تنظیم شد. نمونه‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در روز هشتم، ۴۲ سر موش صحرایی با تزریق درون صفاقی هشت میلی گرم بر کیلوگرم تری‌متیل‌تین[3] شرکت سیگما آلمان[4] حل شده در نرمال سالین قرار گرفتند (صالحی و دیگران، ۲۰۲۰). موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری آلزایمر به طور تصادفی به هفت گروه شامل گروه های کنترل، تمرین مقاومتی، تمرین مقاومتی+مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، تمرین مقاومتی+مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، و گروه شم تقسیم شدند. گروه شم حیوانات مبتلا به بیماری آلزایمر با تزریق درون صفاقی حلال ژل رویال یا نرمال سالین بودند که به منظور بررسی اثرات القا استرس تزریق حلال ژل رویال بر متغیرهای تحقیق در نظر گرفته شدند. به علاوه، جهت بررسی اثرات تزریق تری‌متیل‌تین بر متغیرهای پژوهش، تعداد هفت سر موش صحرایی سالم در گروه کنترل سالم (HC) قرار گرفتند. فرآیند آزمایشگاهی مطالعه تجربی حاضر، بر اساس دستورالعمل‌های استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی؛ نشر NIH، با شماره ۸۶ ـ ۲۳، تجدید نظر ۱۹۹۶) اجرا شد و کد اخلاق با شناسه ir.iau.bojnourd.rec.1399.028 از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد بجنورد اخذ گردید.

نحوه مکمل دهی: مکمل ژل رویال از مرکز جهاد کشاورزی شهرستان مرودشت تهیه گردید. گروه های دریافت کننده مکمل به مدت هشت هفته روزانه دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از وزن بدن ژل رویال حل شده در نرمال سالین را به صورت صفاقی دریافت نمودند (ارزی و دیگران، ۲۰۱۵).

پروتکل تمرین مقاومتی: گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته تمرینات مقاومتی را با شدت ۳۰ تا ۱۰۰ درصد وزن بدن انجام دادند (دهقان و دیگران، ۲۰۱۶). جهت آموزش تمرین مقاومتی به موش‌های صحرایی، به مدت یک هفته با تکرار سه جلسه در هفته، هر یک از آن ها روی پایین‌ترین پله نردبان قرار گرفته و بدون اتصال وزن، بالا رفتن از نردبان به آن ها آموزش داده شد. برای وادار کردن موش‌های صحرایی به حرکت روی نردبان هنگام توقف روی یک پله، از لمس دم و ایجاد صدا به طور همزمان استفاده شد. نردبان مورد استفاده یک متر ارتفاع داشت و فاصله بین هر دو پله، چهار سانتی متر با شیب قائم بود. قبل از شروع برنامه تمرینی در هر جلسه، موش‌ها سه تکرار را بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها به منظور گرم کردن از نردبان بالا رفتند. وزنه انتخاب شده در شروع تمرین ۳۰ درصد وزن بدن موش‌های صحرایی در هفته اول بود و تا ۱۰۰ درصد وزن آن‌ها در هفته آخر افزایش یافت. در هر جلسه تمرین، ابتدا موش های صحرایی چند تکرار بدون وزنه از نرده بان بالا رفتند و پس از آن، برای هر جلسه، تمرین در چهار نوبت دو تکراری انجام گردید؛ بدین صورت که در نوبت اول وزنه ای معادل ۵۰ درصد وزن در نظر گرفته شد و برای آن هفته (بر اساس وزن موش های صحرایی) دو تکرار با فاصله ۳۰ تا ۴۰ ثانیه استراحت بین تکرار ها، منظور گردید. در ادامه، باری معادل ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد وزن در نظر گرفته شده برای آن هفته، با دو تکرار انجام شد (جدول ۱). 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 شد؛ بدین صورت که به بار آخرین تکرار انجام شده آنان وزنه اضافه شد و تا زمانی که موش‌ها قادر به بالا بردن وزنه نبودند، ادامه یافت (دهقان و دیگران، ۲۰۱۶).

1. Sprague Dawley
2. Autoclave
3. Trimethyltin
4. Sigma, Germany

جدول ۱. جزئیات برنامه تمرین مقاومتی به اجرا درآمده

هفته ها	شدت تمرین (درصد وزن بدن)	گرم کردن	فاصله استراحت بین تکرار ها (ثانیه)	نوبت	فاصله استراحت بین نوبت ها (دقیقه)	سرد کردن
اول	۳۰	۴ تکرار بدون وزنه	۲۵	۴ نوبت ۲ تکراری	۱	۴ تکرار بدون وزنه
دوم	۴۰		۲۵		۱	
سوم	۵۰		۳۰		۱	
چهارم	۶۰		۳۰		۱/۵	
پنجم	۷۰		۳۵		۱/۵	
ششم	۸۰		۳۵		۲	
هفتم	۹۰		۴۰		۲	
هشتم	۱۰۰		۴۰		۲	

نحوه بافت برداری: به منظور جلوگیری از اثرات آخرین جلسه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و مصرف مکمل، موش ها تحت شرایط بیهوشی عمیق (تزریق صفاتی کتامین[1] ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، زایلازین[2] ۸ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) معدوم شدند. بعد از تشریح، مغز با سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و نهایتاً هیپوکامپ موش‌های صحرایی استخراج گردید. پس از شست و شو و توزین، بافت مورد نظر به کرایوتیوب مخصوص نگهداری نمونه‌های بافتی منتقل شد. در ادامه، بلافاصله بافت هیپوکامپ به تانک نیتروژن مایع منتقل شد و برای انجام کار در زمان های بعدی در دمای ۸۰- فریز گردید.

ارزیابی بیان ژن: پس از انکوبه کردن بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی، برای اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های مورد مطالعه، ابتدا با استفاده از کیت ستونی استخراج RNA[3] طبق پروتکل شرکت سازنده (هنگ کنگ) انجام شد. برای استخراج RNA از سلول های حیوانی به روش ستونی، به دیواره سلول ها ۳۵۰ میکرولیتر از بافرRB (رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه شد. از قبل به ازای هر یک میلی لیتر، ۱۰ میکرولیتر متاکاپتواتانول بتا[4] به بافر اضافه شد و لوله ها به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد، ستون فیلتر درون لوله جمع آوری گردید و مخلوط نمونه به ستون فیلتر انتقال داده شد و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه، به مدت دو دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ، محلول روشن از لوله جمع آوری گردید و به یک تیوپ میکروسانتریفیوژ جدید انتقال یافت. سپس هم حجم آن، یعنی ۳۵۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید و به خوبی ورتکس شد. RB Mini Column درون لوله جمع آوری قرار گرفت و نمونه ای که اتانول به آن اضافه شده بود، به ستون کوچک RB انتقال یافت و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول درون لوله جمع آوری دور ریخته شد. در مرحله بعد، ۵۰۰ میکرولیتر از بافر شستشو به ستون های کوچک RB اضافه گردید و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول درون لوله جمع آوری دور ریخته شد. در ادامه ستون های کوچک RB با ۷۵۰ میکرولیتر از بافر شستشوی با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول درون لوله جمع آوری دور ریخته شد. این مرحله دو بار تکرار شد. سپس به مدت سه دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. سپس ستون های کوچک RB درون لوله شستشو قرار داده شد و ۵۰ میکرولیتر از RNase-free ddH2O به ستون های کوچک RB اضافه شد و یک دقیقه به آن زمان داده شد و سپس به مدت دو دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای اطمینان یافتن از کیفیت RNA استخراج شده، پنج میکرولیتر از آن روی ژل آگارز[5] الکتروفورز قرار گرفت و جذب آن در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) خوانده شد. در ادامه، جهت سنتز cDNA طبق دستورالعمل موجود در کیت فرمنتاز[6] (K1621)، تهیه گردید. واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس[7] صورت گرفت. هنگام تهیه cDNA از نمونه تخلیص شده پس از قرائت جذب، حجمی شامل ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته شد و سپس نیم میکرولیتر هگزامر تصادفی، نیم میکرولیتر پرایمر الیگودئوکسی ریبونوکلئوتید[8] که به عنوان یک پرایمر برای شروع سنتز cDNA استفاده

1. Ketamin
2. Xilazin
3. FavorPrep™ tissue total RNA mini kit
4. Mercaptoethanol –β
5. Agarose gel
6. Fermentas kit
7. Reverse transcriptase
8. Oligodeoxyribonucleotides

می شود، به آن افزوده شده و سپس تا حجم ۱۲ میکرولیتر آب DEPC اضافه گردید و به دمای ۶۵ درجه به مدت پنج دقیقه منتقل شد. سپس به مدت دو دقیقه بر روی یخ قرار گرفت تا ساختارهای ثانویه RNA از هم باز شوند. در مرحله بعد، چهار میکرولیتر بافر عکس‌العمل ۵ ایکس، دو میکرولیتر دی ان تی پی، یک میکرولیتر بازدارنده RNase ریبولاک، و یک میکرولیتر ریورت اید RT که به ترکیب قبل که برای پنج دقیقه در دمای ۶۵ قرار گرفته بود، اضافه گردید. این ترکیب ابتدا به مدت پنج دقیقه و بعد از آن به مدت ۶۰ دقیقه، در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در آخر، به منظور از کار افتادن آنزیم RT، تیوب های واکنش به مدت پنج دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. جهت بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real-Time PCR تمام پرایمرها توسط نرم‌افزار Allele IDv7.8 طراحی شد و از ژن بتا اکتین[1] به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید (جدول ۲). تمام پرایمرها به صورت اتصال اگزون- اگزون[2] طراحی شد. جهت اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و به کارگیری از ژل آگاروز ۱/۵ درصد استفاده شد. تکثیر cDNA و مشاهده باند مورد انتظار توسط پرایمر اختصاصی و عدم تکثیر RNA پس از واکنش PCR، نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی می باشد. سپس برای هر یک از پرایمرها، کارآیی PCR اندازه‌گیری و منحنی استاندارد برای آن ها رسم گردید. پس از تشخیص کارآیی قابل قبول PCR و پس از اتمام فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشر فلورسانس با محاسبه $\Delta\Delta C_t$ ، میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به بتا اکتین و گروه کنترل سنجیده شد. در نهایت CT ها داده با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ و روش بیان نسبی کمّی شدند.

جدول ۲. توالی پرایمرهای رونویسی ژن های اندازه گیری شده در تحقیق

Accession No	Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
Q9JLX9	Actin, Beta	Forward: 5'-TCTATCCTGGCCTCACTGTC-3'	122
		Reverse: 5'-AACGCAGCTCAGTAACAGTCC-3'	
P25427	NGF	Forward: 5'- CATCGCTCTCCTTCACAGAGTT -3'	218
		Reverse: 5'- TGTACGGTTCTGCCTGTACG -3'	
P35739	Ntrk1 (TKA)	Forward: 5'- ACAGACTACTACCGTGTGGGA -3'	110
		Reverse: 5'- CCGAAGCTCCACACATCACT -3'	

روش های تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نسخه ۱۶ بسته آماری SPSS استفاده شد. ابتدا از آزمون شاپیرو ـ ویلک[3] برای تعیین توزیع طبیعی داده‌ها بهره برداری گردید. جهت بررسی اثرات القای آلزایمر بر متغیرهای تحقیق و بررسی اثر تزریق و همچنین حلال ژل رویال بر متغیرهای وابسته، از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی[4] استفاده شد. همچنین به منظور بررسی اثر تمرین و مصرف ژل رویال و اثر تعاملی آن ها، آزمون تحلیل واریانس دو راهه بکار گفته شد. بررسی تفاوت بین دوزهای ژل رویال نیز با آزمون تعقیبی بونفرونی صورت گرفت و در کلیه ارزیابی‌ها؛ سطح معنی داری آماری p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

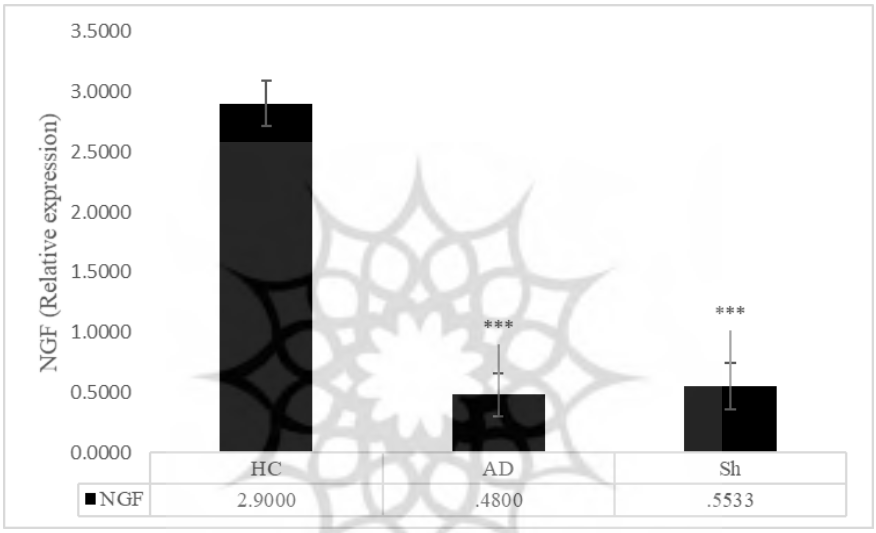
ابتدا برای بررسی اثرات القا آلزایمر و همچنین حلال ژل رویال بر متغیر های تحقیق، آزمون تحلیل واریانس یک راهه بکار گرفته شد و تفاوت معنی داری در سطوح NGF (F=۳۲۹/۸۸ و p=۰/۰۰۱) و گیرنده TrkA (F=۲۴/۵۷ و p=۰/۰۰۱) در بافت هیپوکامپ موش های صحرایی مشاهده گردید. طبق نتایج آزمون تعقیبی توکی، سطوح NGF در گروه مبتلا به آلزایمر (p=۰/۰۰۱) و شم (p=۰/۰۰۱)، به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل سالم بود. از طرف دیگر، تفاوت معنی داری (p=۰/۷۵) در گروه مبتلا به آلزایمر و شم وجود نداشت (شکل ۱). ضمن این که سطوح گیرنده TrkA در گروه مبتلا به آلزایمر و شم به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل سالم بود؛ تفاوت معنی داری (p=۰/۷۷) بین گروه مبتلا به آلزایمر و شم وجود نداشت (شکل ۲).

علاوه بر این ها، نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه نشان داد که تمرین مقاومتی (p=۰/۰۰۱ و F=۱۳۵/۰۴، اندازه اثر ۰/۸۱) و ژل رویال (p=۰/۰۰۱ و F=۹۱/۴۶، اندازه اثر ۰/۸۵) اثر معنی داری بر افزایش بیان NGF موش های صحرایی مبتلا به مبتلا به آلزایمر دارند. همچنین اثر تعاملی تمرین مقاومتی و ژل رویال بر افزایش بیان NGF معنی‌دار شد (p=۰/۰۰۱، F=۱۰/۹۷، و اندازه اثر ۰/۴۲). در ادامه، نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که سطوح NGF در گروه های مصرف ژل رویال با دو دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم، به طور معنی داری (p=۰/۰۰۱) بالاتر از گروه کنترل است. همچنین سطوح NGF در گروه مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم به طور معنی داری بالاتر از گروه مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم بود (p=۰/۰۰۱). به علاوه، سطوح

1. Actin beta gene
2. Exon-exon junction
3. Shapiro-Wilk test
4. Tukey test

NGF در گروه های تمرین مقاومتی+مصرف ژل رویال با هر دو دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم به طور معنی‌دار (p=۰/۰۰۱) بالاتر از گروه کنترل بود (شکل ۳).

طبق سایر یافته های مطالعه حاضر، تمرین مقاومتی اثر معنی داری بر افزایش بیان گیرنده TrkA در هیپوکامپ نداشت (p=۰/۹۹، F=۰/۰۰۱، و اندازه اثر ۰/۰۰۱)؛ اما ژل رویال موجب افزایش معنی دار (p=۰/۰۰۱، F=۳۹/۶۶، و اندازه اثر ۰/۷۲) گیرنده TrkA گردید همچنین تعامل تمرین مقاومتی و ژل رویال در افزایش بیان گیرنده TrkA هیپوکامپ در موش های صحرایی مبتلا به مبتلا به آلزایمر معنی دار بود (p=۰/۰۰۱، F=۳۹/۱۱، و اندازه اثر ۰/۷۲). سطوح گیرنده TrkA در گروه های مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ (p=۰/۰۰۱) و ۲۰۰ (p=۰/۰۰۲) میلی گرم بر کیلو گرم به طور معنی‌داری به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود و در مقام مقایسه دوز مکمل، سطوح آن در گروه مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم به طور معنی داری بالاتر از گروه مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم بود (p=۰/۰۰۱). به علاوه، بیان گیرنده TrkA در گروه های تمرین مقاومتی+مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ (p=۰/۰۰۱) و ۲۰۰ (p=۰/۰۰۴) میلی گرم بر کیلو گرم بالاتر از گروه کنترل بود (شکل ۴).

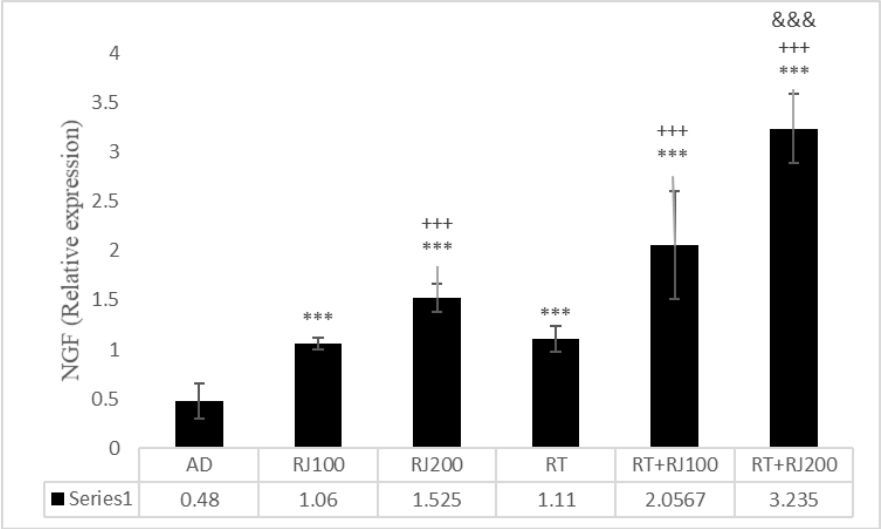


شکل ۱. مقایسه بیان ژن NGF (بیان نسبی) در گروه های کنترل سالم (HC)، کنترل مبتلا به آلزایمر (AD) و شم (Sh).

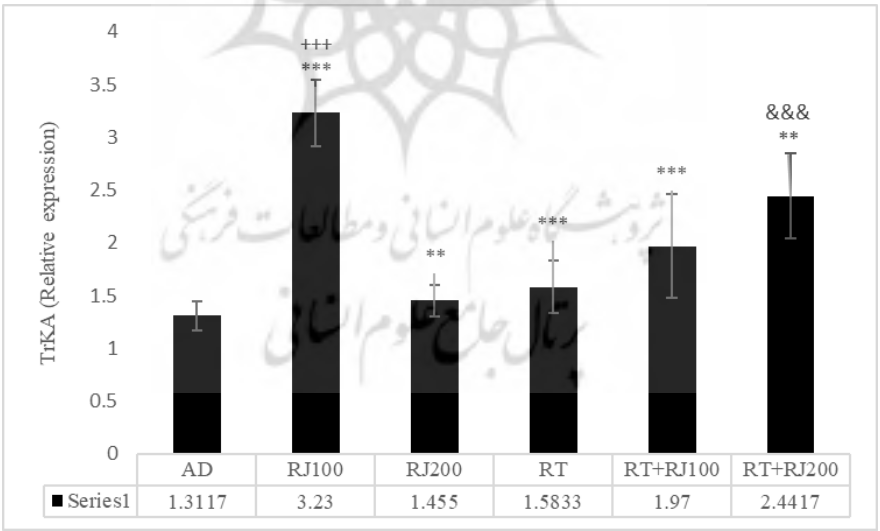
***** نشانه کاهش بیان NGF در گروه های شم و کنترل مبتلا به آلزایمر نسبت به گروه کنترل سالم در سطح p=۰/۰۰۱.**

شکل ۲. مقایسه بیان ژن گیرنده TrKA (بیان نسبی) در گروه های کنترل سالم (HC)، کنترل مبتلا به آلزایمر (AD) و شم (Sh)

***** نشانه کاهش بیان گیرنده TrKA در گروه های شم و کنترل مبتلا به آلزایمر نسبت به گروه کنترل سالم در سطح p=۰/۰۰۱.**



شکل ۳. مقایسه بیان ژن NGF (بیان نسبی) در گروه های کنترل سالم (HC)، کنترل مبتلا به آلزایمر (AD) و شم (Sh)، تمرین مقاومتی (RT)، مصرف مکمل با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RJ100)، مصرف مکمل با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RJ200)، تمرین مقاومتی+مصرف مکمل با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RT+RJ100)، تمرین مقاومتی+مصرف مکمل با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RT+RJ200). *** بیان ژن در تمام گروه ها نسبت به گروه کنترل مبتلا به آلزایمر افزایش معنی دار (p=۰/۰۰۱) داشت. +++ در گروه های RJ200، RT+RJ100 و RT+RJ200 بیان ژن NGF بالاتر (p=۰/۰۰۱) از گروه RJ100 بود. &&& بیان این ژن در گروه RT+RJ200 به طور معنی دار (p=۰/۰۰۱) بالاتر از گروه RT+RT100 بود.



شکل ۴. مقایسه سطوح بیان ژنی گیرنده TrKA (بیان نسبی) در گروه های کنترل سالم (HC)، کنترل مبتلا به آلزایمر (AD) و شم (Sh)، تمرین مقاومتی (RT)، مصرف مکمل با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RJ100)، مصرف مکمل با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RJ200)، تمرین مقاومتی+مصرف مکمل با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RT+RJ100)، تمرین مقاومتی+مصرف مکمل با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم (RT+RJ200). *** بیان این ژن در تمام گروه ها نسبت به گروه کنترل مبتلا به آلزایمر افزایش معنی داری (p=۰/۰۰۱) داشت. +++ در گروه RJ100 بیان این ژن بالاتر (p=۰/۰۰۱) از گروه های RJ200، RT+RJ100 و RT+RJ200 بود. &&& بیان این ژن در گروه RT+RJ200 به طور معنی دار (p=۰/۰۰۴) بالاتر از گروه RT+RT100 بود.

بحث

نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی موجب افزایش بیان ژن NGF در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر می گردد. تمرینات ورزشی به ویژه تمرین مقاومتی، وابسته به شدت، مدت و نوع تمرین موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، عصب زایی[1]، پلاستیسیته سلول عصبی[2]، تمایز سلول عصبی، بهبود عملکرد سیناپس‌ها و دندریت‌ها و تعدیل نوروترانسمیترها[3] در سیستم عصبی کولینرژیک[4]، دوپامینرزیک[5] و گابائرژیک[6] می‌گردند (لیپی[7] و دیگران، ۲۰۲۰). همچنین تمرین مقاومتی با افزایش کاتکولامین‌ها، افزایش رگ‌زایی، افزایش جریان خون مغز، فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با AMP[8] (AMPK)، فعال‌سازی پروتئین‌کینازها، افزایش سنتز پروتئین‌های متابولیکی و ساختاری مانند عوامل تنفسی هسته ای[9] (NRFs)؛ موجب افزایش بیان پیش‌ساز NGF[10]، نوروتروفین‌هایی مانند BDNF، NGF و گیرنده آن ها (p75) و همزمان افزایش TrkA می‌گردند (هال[11] و دیگران، ۲۰۱۸؛ علی و دیگران، ۲۰۲۰). در ارتباط با معنی‌دار نبودن بیان گیرنده TrkA، به نظر می‌رسد سطوح استرس اکسیداتیو پایه، سن، جنسیت و طول دوره تمرین در افزایش بیان نوروتروفین ها و گیرنده‌های آن ها، موثر است؛ در مطالعات پیشین افزایش میزان بیان ژنی برخی از نوروتروفین‌ها در تمرینات بالای سه ماه اتفاق افتاده است (لیپی و دیگران، ۲۰۲۰). در ارتباط با اثر تمرینات ورزشی بر نوروتروفین‌ها، مطالعاتی انجام شده است؛ به گونه ای که همسو با مطالعه حاضر، گزارش شده تمرینات استقامتی با شدت های متوسط و بالا، موجب افزایش سطوح سرمی BDNF موش‌های صحرایی دیابتی می گردند (صالحی و دیگران، ۲۰۱۷). بر پایه شواهد، هشت هفته تمرینات استقامتی موجب افزایش NGF و کاهش Aβ در موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر گردیده است (شاهد و دیگران، ۲۰۱۸)؛ و هشت هفته تمرین مقاومتی اثر معنی‌داری بر افزایش سطوح سرمی NGF، BDNF، نوروتروفین-۳[12] و نوروتروفین-۴[13] داشته است (جعفرزاده و دیگران، ۲۰۱۹). این در حالی است که چهار هفته تمرینات ورزشی مقاومتی، اثر معنی‌داری بر NGF موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت و سالم نداشته است (امیدی و دیگران، ۲۰۱۸). ناهمسو بودن نتایج این مطالعه با یافته های تحقیق حاضر، احتمالا به دلیل میزان اختلال نوروتروفینی و آسیب اکسایشی متعاقب مدل سازی‌های مختلف می باشد؛ چرا که مدل سازی دیابت کمتر از مدل سازی بیماری آلزایمر، به نوروتروفین ها در بافت مغز آسیب می زند. همچنین گزارش شده که تمرینات ترکیبی استقامتی و قدرتی موجب کاهش غلظت NGF قشر مغز موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر می شود (اوزبیلی و دیگران، ۲۰۱۷). به نظر می‌رسد که اولاً نوع القای بیماری آلزایمر و میزان آسیب اکسایشی آن در بافت مغز متفاوت است، و ثانیا، تمرینات مختلف ورزشی همواره با تولید مقداری استرس اکسیداتیو همراه هستند. از این رو، به نظر می رسد که تفاوت در نوع تمرین، تفاوت در شیوه اندازه‌گیری متغیرها و سطوح پایه استرس اکسیداتیو؛ از دلایل احتمالی ناهمسویی در نتایج باشد. با این حال، پروتکل تمرین تحقیق حاضر احتمالاً به دلیل برخوردار بودن از شدت و طول دوره مناسب، موجب افزایش بیان NGF و گیرنده TrkA در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر شده است.

دیگر نتایج بدست آمده نشان داد که مصرف ژل رویال با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش بیان NGF و گیرنده TrKA هیپوکامپی موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر می گردد؛ و جالب آن که دوز بالاتر این مکمل، اثر افزایشی بیشتری بر بیان NGF داشت. اثر آنتی‌اکسیدانی ژل رویال به خاطر پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی، فنول‌های هیدروکسیل و ۱۰-هیدروکسی-۲-دکانوئیک اسید-ترانس[14] (10-HDA) است که افزایش بیان ژنی Dnmt3 و همچنین افزایش آنزیم های DNA متیل ترانسفراز[15]، مهار استرس اکسیداتیو، کاهش رونویسی ژن پرسینیلین-۱[16] و ۲، اینترلوکین-۱ بتا[17]، عامل نکروز دهنده تومور آلفا[18] (TNF-α)، کاهش مالون دی آلدئید[19] (MDA)، افزایش سوپراکساید دیسموتاز[20] (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز[21] (GPx) موجب بهبود عملکرد بیولوژیکی سلول، عصب زایی و بهبود عملکرد شناختی و بهبود عملکرد بیولوژیکی سلول عصبی می‌شود (علی و دیگران، ۲۰۲۰). اثرات مطلوب ژل رویال بر سیستم عصبی مرکزی، به دوز مصرفی و طول دوره مصرف وابسته است، به گونه‌ای که ۱۴ روز مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر

1. Neurogenesis
2. Neuron plasticity
3. Neurotransmitters
4. Cholinergic
5. Dopaminergic
6. Gabaergic
7. Lippi
8. AMP-activated protein kinase
9. Nuclear respiratory factors
10. Pro-NGF
11. Hall
12. Neurotrophin-3
13. Neurotrophin-4
14. Trans-10-hydroxy-2-decenoic acid
15. DNA methyltransferase
16. Presenilin-1
17. Interlukine-1 beta
18. Tumor necrosis factor alpha
19. Malondialdehyde
20. Superoxide dismutase
21. Glutathione peroxidase

کیلوگرم، موجب بهبود نیمرخ چربی، کاهش Aβ و APP در مدل حیوانی مبتلا به آلزایمر گردیده و دوز بالاتر اثرات مطلوب‌تری داشته است (پان[1] و دیگران، ۲۰۱۸). مصرف ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود حافظه و یادگیری و فعال‌شدن عوامل عصب زایی در موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر شده است (ای-سیلوا[2] و دیگران، ۲۰۲۰). همچنین هشت هفته مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (ده بزرگی و دیگران، ۲۰۲۰) و سه درصد از رژیم غذایی به مدت ۱۰ روز، موجب بهبود حافظه فضایی موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر گردیده است (زمانی و دیگران، ۲۰۱۲). مصرف ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ هفته موجب کاهش سطوح بیان ژن Aβ و گاماسکرتاز[3] موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر شده است (گیتی[4] و دیگران، ۲۰۲۰). همچنین مطالعه حاضر نشان داد که مصرف ژل رویال به میزان ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم به مقدار بیشتری باعث افزایش بیان گیرنده TrKA نسبت به مصرف ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گردید. می‌توان گفت از آنجایی که دوز ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم نسبت به دوز ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم به مقدار کمتری باعث افزایش NGF گردیده است، به عنوان مکانیزم جبرانی بر گیرنده آن تأثیر افزایشی بیشتری داشته تا بتواند اثرات مفید خود را اعمال نماید.

در مطالعه حاضر تاثیر همزمان تمرین و مکمل نیز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که تمرین مقاومتی همراه با ژل رویال، اثر تعاملی بر افزایش بیان ژن NGF و بیان گیرنده TrKA در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر دارد. این اثر وابسته به دوز بود و تمرین مقاومتی با ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر افزایش بیان ژنی این دو نسبت به تمرین مقاومتی و مصرف ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، مطلوب‌تر بود. ژل رویال با اثرات آنتی‌اکسیدانی، مهار استرس اکسیداتیو، عصب زایی. افزایش آنزیم‌های DNA متیل‌ترانسفراز، کاهش التهاب، کاهش Aβ و گاماسکرتاز (گیتی و دیگران، ۲۰۲۰)؛ منجر به افزایش نوروتروفین‌ها می‌گردد. با توجه به مطلوب بودن اثرات تعاملی تمرین مقاومتی و ژل رویال به ویژه دوز بالاتر این مکمل، به نظر می‌رسد مکانیسم‌های مشابه این دو مداخله به طور هم‌افزا، موجب افزایش بیان نوروتروفین‌ها و گیرنده‌های آن در سیستم عصبی مرکزی می‌گردند. در حمایت از یافته‌های مطالعه حاضر، تمرین استقامتی در شیب مثبت و شیب منفی همراه با ژل رویال، دارای اثرات تعاملی در کاهش Aβ و گاماسکرتاز (گیتی و دیگران، ۲۰۲۰) و افزایش بیان دوپامین (حسنلوئی و دیگران، ۲۰۲۰) در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر بوده است. از سوی دیگر، اثرات نوروتروفینی تمرین وابسته به نوع، شدت و طول دوره تمرین می‌باشد، به گونه ای که ناهمسو با مطالعه حاضر، تعامل تمرین اختیاری و اجباری همراه با مصرف ژل رویال بر افزایش BDNF و NGF هیپوکامپی موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر، معنی‌دار نبوده است (ده بزرگی و دیگران، ۲۰۲۰). با توجه به نقش آنتی اکسیدانی ژل رویال و تمرین، به نظر می‌رسد که عدم اندازه‌گیری سطوح استراس‌اکسیداتیو در مطالعه حاضر از محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد، از این‌رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی سطوح آنتی اکسیدان استراس‌اکسیداتیو بافت هیپوکامپ نیز بررسی گردند. با توجه به نقش تمرینات ورزشی و مصرف ژل رویال در عصب زایی، به نظر می‌رسد عدم بررسی میکروسکوپی و نشانگرهای فیزیولوژیکی مانند نیتریک اکساید[5]، BDNF و AMPK نیز از محدودیت‌های این مطالعه باشد و پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات آتی، ابعاد پاتولوژیک و فیزیولوژیک بیشتری مورد ارزیابی قرار گیرند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی و ژل رویال هم به تنهایی و هم به طور هم‌افزا؛ می‌توانند موجب افزایش بیان نوروتروفین‌های هیپوکامپ در موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر گردند؛ ضمن آن که اثرات ژل رویال در مورد NGF وابسته به دوز بوده و دوزهای بالاتر، بهبودی بیشتری در بیان این نوروتروفین ایجاد می کند.

تعارض منافع

تضاد منافعی بین نویسندگان گزارش نشده است.

قدردانی و تشکر

در خاتمه از زحمات کلیه دست اندرکاران مرتبط در این پژوهش، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و مسئولین آزمایشگاه که در مراحل مختلف این طرح ما را یاری نموده اند، تشکر و قدردانی می شود.

1. Pan
2. e Silva
3. γ-secretase
4. Giti
5. Nitric oxide

منابع

Ali, A. M., & Kunugi, H. (2020). Royal jelly as an intelligent anti-aging agent—a focus on cognitive aging and alzheimer's disease: *A Review. Antioxidants, 9***(10), 937.**

DehBozorgi, A., Behboudi, L,. Hosseini, S.A., & Rasoli, M.H. (2020). Effect of voluntary and forced training with Royal jelly consumption on learning and spatial memory of rat model of alzheimer's disease. *Jundishapur Journal of Chronic Disease Care, 9***(1), e97261. [Persian]**

Dehbozorgi, A., Behbudi, Tabrizi, L., Hosseini, S.A., Haj Rasoli, M. (2020). Effects of swimming training and Royal jelly on BDNF and ngf gene expression in hippocampus tissue of rats with alzheimer's disease. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, *22***(2), e98310. [Persian]**

e Silva, T.G.D.S., da Silva, J. R.M., da Silva Alves, A., Britto, L.R.G., Xavier, G F., & Sandoval, M.R. L. (2020). Oral treatment with Royal jelly improves memory and presents neuroprotective effects on icv-STZ rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Heliyon, 6***(2), e03281.**

Giti, Z., Banaeifar, A., Arshadi, S., & Azarbayjani, M. A. (2020). Giti, Z., Banaeifar, A., Arshadi, S., & Azarbayjani, M. A. (2021). Effect of eight weeks of positive slope and negative slope training, along with Royal jelly on the hippocampal expression of β-amyloid and γ-secretase in trimethyltin-induced Alzheimer's disease rats. *Journal of Nutrition, Fasting and Health*, *9***(1), 29-34. [Persian]**

Hall, J. M., Gomez-Pinilla, F., & Savage, L. M. (2018). Nerve growth factor is responsible for exercise-induced recovery of septohippocampal cholinergic structure and function. *Frontiers in neuroscience*, **12, 773.**

Hassanlouei, F., Hoseini, S. A., Tabrizi, L.B., & Rasouli, M.H. (2020). The effect of endurance training with royal jelly consumption on dopamine in the hippocampus tissue of rats with Alzheimer's disease. *Food & Health*, *3***(1), 6-10. [Persian]**

Hosseini, S.A., Salehi, O.R., Farzanegi, P., Farkhaie, F., Darvishpour, A.R., & Roozegar, S. (2020). Interactive effects of endurance training and royal jelly consumption on motor balance and pain threshold in animal model of the Alzheimer disease. *Archives of Neuroscience*, *7***(2), 1-5. [Persian]**

Jafarzadeh, G., Shakeryan, S., Farbood, Y., & Ghanbarzadeh, M. (2019). Effect of one session of resistance exercises on expression of BDNF gene and TrkA receptor in alzheimer model male Wistar rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences, 8***(4), 1176-1167. [Persian]**

Jiang, G., Wang, C., Zhang, J., & Liu, H. (2017). Mediation of insulin growth factor1- in alzheimer's disease and the mechanism of PRNP genetic expression and the pi3k/akt signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine, 13***(6), 2763-2766.**

Lippi, G., Mattiuzzi, C., & Sanchis-Gomar, F. (2020). Updated overview on interplay between physical exercise, neurotrophins, and cognitive function in humans. *Journal of Sport and Health Science, 9***(1), 74-81.**

Mufson, E.J., Counts, S.E., Ginsberg, S.D., Mahady, L., Perez, S.E., Massa, S.M., ... & Ikonomovic, M.D. (2019). Nerve growth factor pathobiology during the progression of alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience, 13*, **533.**

Negarande, Z., Salamat, K., Hosseini, S.A, & Etemad, Z. (2019). The effect of endurance training with crocin consumption on IGF1- and glycogen expression in rat hippocampus tissue of trimethyltin-treated model of alzheimer's disease. *Asian Journal of Sports Medicine, 10***(3), e92246. [Persian]**

Omidi, M., Ghanbarzadeh, M., Nikbakht, M., Habibi, A., & Ranjbar, R. (2018). Effect of continuous aerobic exercise on nerve growth factor in diabetic rats. *Health Scope, 9***(1), 1-6. [Persian]**

Özbeyli, D., Sarı, G., Özkan, N., Karademir, B., Yüksel, M., Kaya, Ö.T.Ç., & Çakır, Ö.K. (2017). Protective effects of different exercise modalities in an Alzheimer's disease-like model. *Behavioural Brain Research*, *328*, **159-177.**

Salehi, O. R., Hoseini, A. (2017). The effects of endurance trainings on serum BDNF and insulin levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Shefaye Khatam, 5* **(2), 52-61.[Persian]**

Shahed, A., Ravasi, A.A., Choubineh, S., & Khodadadi, D. (2018). Effect of four weeks exercise prior preparation before Alzheimer's induction on the levels of nerve growth factor and beta Amyloid in the hippocampus of wistar male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences, 20***(11), 56-66. [Persian]**

Uddin, M., Kabir, M., Jeandet, P., Mathew, B., Ashraf, G. M., Perveen, A., ... & Abdel-Daim, M.M. (2020). Novel anti-alzheimer's therapeutic molecules targeting amyloid precursor protein processing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*, **1-19.**

Zamani, Z., Reisi, P., Alaei, H., Pilehvarian, A.A.(2012). Effect of Royal jelly on spatial learning and memory in rat model of streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease. *Advanced Biomedical Research, 1***(2), 1-6. [Persian]**

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی