

Received: 2021/7/23

Accepted: 2022/1/27

How to cite:

Mokhtari L, Bagherpour T, Nemati N.

The effect of eight weeks of resistance training with royal jelly on the oxidative system of hippocampal tissue in rats with Alzheimer's disease. *EBNESINA* 2022;24(2):4-16.

DOI: 10.22034/24.2.4

## Original Article

# The effect of eight weeks of resistance training with royal jelly on the oxidative system of hippocampal tissue in rats with Alzheimer's disease

Leila Mokhtari<sup>1</sup>, Tahereh Bagherpour<sup>2✉</sup>, Nematollah Nemati<sup>2</sup>

## Abstract

**Background and aims:** Changes in the antioxidant status and changes in the concentration of inflammatory factors through physical activity and supplements are a vague argument for researchers. The aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of resistance training (RT) with royal jelly (RJ) on the oxidative system of hippocampal tissue in rats with Alzheimer's disease (AD) induced by trimethyletlin.

**Methods:** A total of 60 adult male rats were randomly divided into six groups: 1) Healthy control; 2) AD control; 3) Sham; 4) RJ; 5) RT; and 6) RT+RJ. The RT groups performed three sessions of RT for eight weeks. The RJ groups received 100mg/kg/day RJ dissolved in normal saline by intraperitoneal injection for eight weeks. qRT-PCR technique was used to evaluate changes in SOD, GPX, CAT gene expression of hippocampal tissue.

**Results:** The results showed that the expression of SOD gene in either the RT and the RT+RJ groups had a significant increase compared to the healthy controls ( $p=0.001$ ). GPX gene expression in either the RT and the RT+RJ groups was significantly increased compared to the AD controls as well as healthy controls ( $p=0.001$ ). There was a significant increase in CAT expression in the RT+RJ group compared to the healthy controls ( $p=0.015$ ). There was a significant decrease in CAT in the AD controls compared to the healthy controls ( $p=0.038$ ).

**Conclusion:** It seems that the combination of exercise intervention with RJ may have more positive and obvious effects on the antioxidant system in rats with AD.

**Keywords:** royal jelly, Resistance Training, Oxidative, Alzheimer Disease, Rats

1. PhD student, Islamic Azad University Damghan Branch, Damghan, Iran

2. Assistant professor, Islamic Azad University Damghan Branch, Damghan, Iran

✉ Corresponding Author:

Tahereh Bagherpour

Address: Islamic Azad University Damghan Branch, Damghan, Iran

Tel: +98 (71) 43311150

E-mail: Bagherpoor\_ta@yahoo.com

EBNESINA - IRIAF Health Administration

(Vol. 24, No. 2, Serial 79 Summer 2022)



Copyright© 2022. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: <http://www.ebnesina.ajau.ac.ir>

# بررسی اثر هشت هفته تمرین مقاومتی همراه با ژل رویال بر سیستم اکسیداتیو بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر مدل تری متیل‌تین

لیلا مختاری<sup>۱</sup>، طاهره باقرپور<sup>۲\*</sup>، نعمت‌اله نعمتی<sup>۲</sup>

## چکیده

**زمینه و اهداف:** تغییر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و تغییرات غلظت فاکتورهای التهابی از طریق فعالیت بدنی و مکمل‌ها به عنوان یک بحث مبهم برای محققین است. این پژوهش با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین مقاومتی همراه با ژل رویال بر سیستم اکسیداتیو بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر مدل تری متیل‌تین انجام شد.

**روش بررسی:** تعداد ۶۰ سر رت نر بالغ به طور تصادفی به شش گروه شامل (۱) کنترل سالم؛ (۲) کنترل آلزایمر؛ (۳) شم؛ (۴) ژل رویال؛ (۵) تمرین؛ و (۶) تمرین+ژل رویال تقسیم شدند. گروه‌های تحت مداخله تمرین به مدت هشت هفته، سه جلسه تمرینات مقاومتی انجام دادند. همچنین گروه‌های مصرف‌کننده ژل رویال حل شده در نرمال سالین را به مدت هشت هفته با دوز روزانه ۱۰۰ mg/kg به صورت صفاقی دریافت کردند. به منظور بررسی تغییرات بیان ژن GPX، SOD و CAT بافت هیپوکمپ از تکنیک qRT-PCR استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که بیان ژن SOD در گروه تمرین مقاومتی و همچنین گروه تمرین+ژل رویال به نسبت گروه کنترل سالم افزایش معناداری داشت ( $p=0/001$ ). بیان ژن GPX در گروه تمرین مقاومتی و همچنین تمرین+ژل رویال به نسبت گروه کنترل آلزایمر و کنترل سالم افزایش معناداری داشت ( $p=0/001$ ). در گروه تمرین+ژل رویال به نسبت گروه کنترل سالم، افزایش معناداری در بیان CAT ایجاد شد ( $p=0/015$ ). در گروه آلزایمر به نسبت گروه کنترل سالم کاهش معناداری در CAT وجود دارد ( $p=0/038$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد ترکیب مداخله فعالیت ورزشی به همراه ژل رویال می‌تواند اثرات مثبت و مشهودتری بر سیستم آنتی‌اکسیدانی رت‌های آلزایمری بگذارد.

**کلمات کلیدی:** ژل رویال، تمرین مقاومتی، استرس اکسیداتیو، آلزایمر، رت

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد

دامغان، دامغان، ایران

۲. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان،

ایران

\* مؤلف مسئول: طاهره باقرپور

آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

تلفن: ۴۳۳۱۱۵۰ (۷۱) ۹۸+

ایمیل: Bagherpoor\_ta@yahoo.com

(سال بیست و چهارم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۱، مسلسل ۷۹)

فصلنامه علمی پژوهشی ابن سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهجا

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱

## مقدمه

بیماری آلزایمر یکی از مهم‌ترین دلایل ایجاد زوال عقل (شرایطی که در آن توانایی تفکر، درک کردن و به یاد آوردن کاهش یافته) است. تخریب مغز به وسیله بیماری آلزایمر شباهت زیادی با حافظه کامپیوتری دارد که اطلاعاتش را از دست داده است [۱]. فرضیه‌هایی برای ایجاد فرآیند آلزایمر وجود دارد که شامل استرس اکسیداتیو و تغییرات میتوزی است، این در حالی است که فرضیه کولینرژیک<sup>۱</sup>، التهاب<sup>۲</sup> کاهش رگزایی<sup>۳</sup>، کاهش جریان خون مغزی بافت مغز<sup>۴</sup> و نقص متابولیسم اکسیداتیو از علت‌های التهابی به شمار می‌رود [۲]. در حال حاضر در بیماری آلزایمر ارتباط میان فرایندهای التهابی و تولید رادیکال‌های آزاد مورد توجه قرار گرفته است. به عبارت دیگر احتمال دارد استرس اکسیداتیو و مراحل التهاب به عنوان عوامل یک فرایند مشترک محسوب گردند. عاملی به نام اکسیدان‌ها باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد طی واکنش‌های پیچیده متابولیک سلولی و همچنین هنگام فرایندهای تولید انرژی اکسیداتیو، تشکیل می‌شوند [۲].

از طرف دیگر مداخلات فعالیت‌های ورزشی و همچنین تغذیه‌ای نیز می‌تواند موجب دگرگونی در تعادل آنتی‌اکسیدانی شوند. در طی فعالیت ورزشی انتشار اکسیژن به عضلات اسکلتی فعال به دلیل افزایش اکسیژن مصرفی، ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می‌یابد. چنین شتابی در میزان متابولیسم اکسیداتیو، با افزایش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن<sup>۵</sup> همراه است، بنابراین فعالیت ورزشی ممکن است باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شود [۳]. نامطلوب بودن وضعیت تغذیه‌ای در جامعه به دلیل کاهش کیفیت زندگی یا عدم توجه به آن، زمینه بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله آلزایمر، قلبی-عروقی، دیابت و سرطان را فراهم می‌کند و از آنجا که مصرف مواد غذایی حاوی

آنتی‌اکسیدان از بروز این بیماری‌ها جلوگیری می‌کند، توجه به مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در حال رشد است. علاوه بر مصرف مواد ویتامینی مانند ویتامین‌های A، E و C که دارای خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی هستند. توجه به سایر آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی مانند میوه و سبزیجات ضروری است [۴]. در سالهای اخیر توجه اکثر پژوهشگران به استفاده از مکمل‌های گیاهی و طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی معطوف شده است. از طرفی دیگر، در حال حاضر مصرف بعضی از داروها برای درمان و پیشگیری بسیاری از بیماری‌ها افزایش یافته است. بنابراین با توجه به این که مصرف مکمل‌های تغذیه‌ای در مقایسه با داروهای صنعتی اثرات جانبی کمتری دارد، احتمالاً استفاده از این مکمل‌ها در برخی موارد می‌تواند جایگزین مناسبی برای دارو درمانی باشد [۵]. یکی از این مکمل‌های طبیعی ضد اکسایشی، ژل رویال است. ژل رویال ماده لزجی است که توسط زنبورهای عسل کارگر جوان ترشح شده توسط آن لاروهای کندو تغذیه می‌شوند. ژل رویال حاوی ۱۵-۱۲٪ پروتئین، ۱۲-۱۰٪ کربوهیدرات، ۷-۳٪ لیپید (شامل استرول‌ها و اسیدهای چرب)، عناصر معدنی و ویتامین‌هاست. به تازگی مشخص شده است ژل رویال دارای انواع فعالیت‌های بیولوژیکی در سلول‌ها و بافت‌های مختلف بدن و به خصوص سیستم اعصاب است. مطالعات نشان داده‌اند ژل رویال از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود هیپرانسولینمی و مقاومت به انسولین در مدل‌های مقاوم به انسولین می‌شود. ترکیبات حاصل از هیدرولیز آنزیمی ژل رویال دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار زیادی در مقابل انواع اکسیژن فعال از قبیل رادیکال‌های آنیون سوپراکسید و هیدروکسیل است [۶]. مطالعات مختلف فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری، قارچ و ویروس و در مدل‌های حیوانی، فعالیت ضد فشار خون و تومور، کاهنده کلسترول و ضد التهاب را برای ژل رویال گزارش دادند. خواص ضد دیابتی، اثر مثبت بر بزرگی خوش خیم پروستات و بهبود زخم پای دیابتی در آزمایشات بالینی تأیید شده است. اکثر مطالعات به ژل رویال خام یا بخش پروتئینی و چربی اشاره کردند، با این حال در

1. Cholinergic hypothesis
2. Inflammation
3. Angiogenesis
4. Hypoperfusion
5. Reactive oxygen species

تمرین ورزشی از نوع مقاومتی و مصرف ژل رویال بر بهبود نشانگان فشار اکسیداتیو در رت‌های آزمایشگاهی آلزایمری اثر دارد یا خیر.

### روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تحقیقات تجربی است. در این پژوهش ۶۰ سر موش صحرایی با وزن  $20 \pm 22$  گرم و ۸ هفته سن نژاد اسپراگو داوولی با جنسیت نر از مرکز تکثیر حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت خریداری و به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانات این دانشگاه منتقل شده و به طور جداگانه در قفس‌های ویژه نگهداری رت قرار داده شد. پس از انتقال موش‌های صحرایی به حیوانخانه دانشگاه، موش‌های صحرایی به مدت یک هفته جهت تطابق با محیط جدید، بدون دریافت هیچ نوع مداخله‌ای در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به طول ۳۰، عرض ۴۰ و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، نگهداری شدند. در این زمان موش‌ها به غذای مخصوص جوندگان به صورت پلت دسترسی داشته و همچنین از آب شهری برخوردار بودند. همچنین آزمودنی‌ها در دمای  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  و رطوبت  $50 \pm 5\%$  در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت تاریکی: ۱۲ ساعت روشنایی) قرار گرفتند. این اعمال قبل و بعد از آزمون‌ها انجام گردید. پس از طی یک هفته سازگاری تعداد ۶۰ سر موش صحرایی تحت تزریق درون صفاقی  $0.8 \text{ mg/Kg}$  تری‌متیل‌تین کلراید (TMT)<sup>۳</sup> قرار گرفتند. و پس از تزریق TMT، جهت اطمینان از القا آلزایمر آزمون شاتل‌باکس و Y‌ماز انجام شد [۱۰] و پس از ۲۴ ساعت که از تأثیر کامل TMT بر هیپوکامپ اطمینان حاصل شد) موش‌های صحرایی به طور تصادفی به گروه‌های (۱) کنترل (سالم؛ ۲) کنترل آلزایمر؛ (۳) شم؛ (۴) ژل رویال؛ (۵) تمرین مقاومتی؛ و (۶) تمرین مقاومتی+ژل رویال تقسیم شدند. در گروه‌های تمرین موش‌های صحرایی به مدت ۸ هفته و هر

چندین مطالعه، فعالیت ترکیبات منحصر به فرد نیز مشخص شده‌است. همچنین مطالعات به فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی برای پپتیدهای کوچک حاوی ۲ تا ۴ اسیدآمینه اشاره کردند. فعالترین آنها تیروزین در انتهای C داشتند که باعث کاهش فعالیت هیدروکسیل رادیکال  $\text{H}_2$  می‌شود [۷]. نتایج اثرات تمرینات ورزشی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی متفاوت است. هرچند روش‌های مختلفی برای مداخله تمرینات ورزشی وجود دارد برای مثال عظیم پور و همکاران در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که ترکیب ورزش اجباری با مصرف مکمل ژل رویال قابلیت تعدیل خلق را دارد و می‌تواند به عنوان یک روش سودمند مورد استفاده انسانی قرار گیرد و تأثیر مثبت مصرف ژل در افزایش سوپراکسیداز دیسموتاز<sup>۱</sup>، گلووتاتیون پراکسیداز<sup>۲</sup> محرز گردید [۸]. همچنین سلیمانی و همکاران نشان دادند که دو هفته تمرین هوازی همراه با مکمل ژل رویال بر روی سوپراکسیداز دیسموتاز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام تأثیر معنی‌داری دارد. در این تحقیق نشان داده شد که خوردن ژل رویال باعث کاهش استرس اکسایشی می‌شود [۹]. با وجود تناقض در نتایج مطالعات در مورد فعالیت‌های ورزشی توجه اکثر محققین به استفاده از مکمل‌های دارویی جلب شده است. با بررسی شواهد و پژوهش‌ها، مطالعه‌ای یافت نشد که به بررسی تأثیرات استفاده همزمان ژل رویال و تمرینات مقاومتی در موش‌های آلزایمری شده پرداخته باشد. با توجه به مطالب فوق‌الذکر و از آنجا که مصرف ژل رویال ممکن است در کنار فعالیت بدنی منظم با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش فشار اکسیداتیو شود. همچنین در این زمینه استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند ژل رویال احتمال دارد بتواند این اثر فعالیت بدنی منظم را تقویت کند؛ با عنایت به کمبود و شاید حتی نبود مطالعه‌ای که اثر همزمان فعالیت بدنی منظم و ژل رویال را بر آسیب اکسیداتیو بررسی کرده باشد، پژوهشگران پژوهش حاضر بدنبال بررسی این مسئله هستند که آیا تلفیق

1. Superoxide dismutase

2. Glutathione peroxidase

3. Trimethyltin chloride

هفته سه روز تمرین کردند. بدین منظور وزنه به دم آنها متصل شد که باید این وزنه را از نردبانی با ۲۶ پله بالا ببرند. در هر بار بالا رفتن این حیوانات ۱۳ بار با دست و پای چپ و ۱۳ بار با دست و پای راست وزنه الحاقی را بالا بردند. گروه‌های تمرین کننده هر هفته به صورت دقیق وزن شدند و وزنه تمرینی هر موش بر اساس وزن آن انتخاب شد. وزنه تمرینی این گروه‌ها با ۳۰٪ وزن بدن آنها شروع شد و به تدریج در طی ۷ هفته به ۱۵۰٪ وزن بدن افزایش یافت. افزایش این وزنه‌ها از هفته اول تا چهارم، هر هفته ۳۰٪ وزن بدن و در سه هفته بعد، هر هفته ۱۰٪ وزن بدن بود. هفته آخر نیز وزنه‌ها ثابت بود [۱۱]. در پایان هفته هشتم و پس از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرین (جهت رفع اثر آخرین جلسه تمرین) [۱۲]، حیوانات با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ mg/Kg) و کتامین (۷۵ mg/Kg) بیهوش شدند و سپس تشریح شدند. بافت هیپوکامپ پس از برداشت جهت انجام آزمایش‌های سلولی - مولکولی به آزمایشگاه ارسال گردید. به منظور بررسی بیان ژن، از روش PCR-RT استفاده شد. همچنین گروه‌های مصرف کننده ژل رویال حل شده در نرمال سالین را به مدت هشت هفته با دوز روزانه ۱۰۰ mg/Kg به صورت صفاقی دریافت کردند [۱۳].

#### اندازه‌گیری متغیرها

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین رت‌ها پس از ۱۴ ساعت ناشتایی شبانه نمونه‌برداری بافت هیپوکامپی انجام شد. هیپوکامپ رت‌ها از بدن آنها جدا و در سرم فیزیولوژیک شست و شو داده شدند تا خون موجود در آن همراه با کمی فشار دادن به‌طور کامل خالی گردد و سپس روی کاغذ فیلتر گذشته شدند تا رطوبت آن گرفته شود و آماده وزن‌کشی شوند. هیپوکامپ رت در ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن‌کشی شده سپس بلافاصله با استفاده از ت مایع منجمد شده برای تلخیص RNA به فریزر با دمای ۸۰- منتقل شدند. در این مطالعه به‌منظور بررسی تغییرات بیان ژن متغییر وابسته تحقیق از تکنیک qRT-PCR استفاده شد. بدین منظور ابتدا RNA

سلول‌ها استخراج شد و سپس با DNaseI تیمار شد. در این روش در صورت وجود DNA اضافی در نمونه، DNA حذف می‌شود. در نهایت cDNA ساخته شد و واکنش‌های qRT-PCR انجام شد. استخراج RNA از بافت نمونه با استفاده از محلول کیزول (ساخت کایژن آلمان)<sup>۱</sup> با توجه به توصیه سازنده استخراج شد. به‌منظور از بین بردن احتمالی آلودگی RNA با DNA از آنزیم DNase عاری از RNase استفاده شد. مقادیر لازم برحسب غلظت RNA استخراج‌شده تعیین شد. بدین ترتیب به ازای یک میکروگرم RNA استخراج‌شده یک میکرو لیتر فرمنتاز<sup>۲</sup> (DNase) و یک میکرو لیتر بافر x10 اضافه شد و حجم محلول با آب تیمار شده با DEPC<sup>۳</sup> به ۱۰ میکرو لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا آنزیم غیرفعال شود. غلظت RNA به روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. جهت ساخت cDNA به ۱-۰/۲ میکروگرم RNA استخراج شده ۱ میکرو لیتر Oligo dt اضافه شد. حجم نهایی این مرحله باید ۱۲ میکرو لیتر باشد. بدین ترتیب اگر RNA غلیظ‌تر بود مقدار کمتری از آن برداشته شد و با آب تیمار شده با DEPC به حجم نهایی ۱۲ میکرو لیتر رسانده شد. واکنش به مدت ۵ دقیقه در ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس بلافاصله درون یخ گذاشته شد. به میکرو فیوژ، ۴ میکرو لیتر بافر x5، ۲ میکرو لیتر dNTP و ۱ میکرو لیتر RNasin® اضافه شد تا حجم نهایی به ۱۹ میکرو لیتر برسد. محلول واکنش به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. یک میکرو لیتر آنزیم RT به واکنش اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای متوقف کردن واکنش، میکروتیوب به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. cDNA حاصل روی یخ قرار داده شد و تا زمان

1. Qiazol™ (QIAGEN Inc)

2. Fermentase

3. Diethyl pyrocarbonate

$\Delta\Delta C_T$  و  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمال سازی شد.

### ملاحظات اخلاقی

این مطالعه تجربی در کمیته اخلاق دانشگاه تصویب و بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در این تحقیق کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفته شده است.

### تجزیه و تحلیل آماری

از آمار توصیفی برای دسته بندی داده های خام و توصیف داده ها استفاده شد. آزمون شاپیرو-ویلک برای بررسی نرمال بودن داده ها در گروه های مورد مطالعه و آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی جهت بررسی تغییرات بین گروهی و جفتی گروه ها استفاده شد. سطح معنی داری برای کلیه آزمون های آماری  $\alpha \leq 0.05$  در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل انجام گرفت.

### یافته ها

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه، برای بیان ژن SOD، CAT، GPX در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به مقدار F محاسبه شده و معنی دار بودن آن در سطح  $p=0.001$  تفاوت معناداری بین بیان ژن SOD، GTX، CAT در گروه های مختلف پژوهش با ۹۵٪ اطمینان تأیید شد.

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه برای مقایسه گروه های مطالعه در بیان ژن های CAT، GTX، SOD

| متغیر | مقدار p | مقدار F | درجه آزادی | مجدور میانگین |
|-------|---------|---------|------------|---------------|
| SOD   | *.0.001 | ۱۳/۷    | ۵          | ۴/۰۵          |
| GPX   | *.0.001 | ۲۹/۰۷   | ۵          | ۴۴۴/۳         |
| CAT   | *.0.001 | ۱۴/۷    | ۵          | ۹/۴           |

\* تفاوت معنی دار در  $p < 0.05$

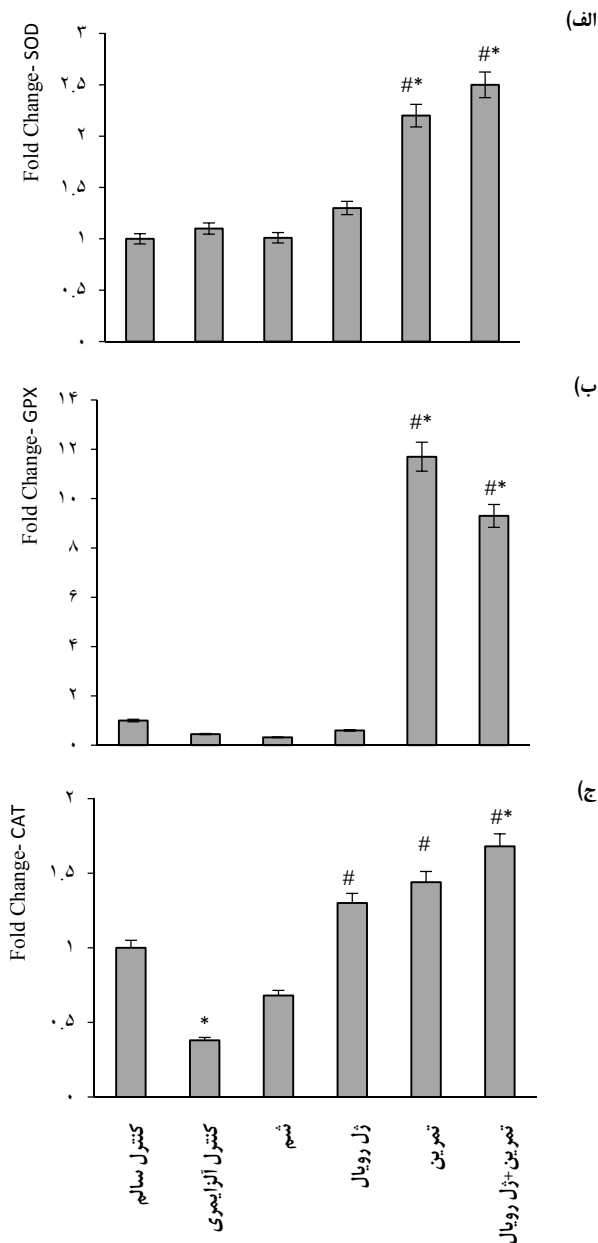
جدول ۱- توالی پرایمرهای موردنظر

| ژن  | توالی پرایمر                                                                | اندازه (bp) |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------|-------------|
| B2m | Forward: 5'-CGTGCTTGCCATTTCAGAAA-3'<br>Reverse: 5'-ATATACATCGGTCTCGGTGG-3'  | 244         |
| CAT | Forward: 5'-ACATGGTCTGGGACTTCTGG-3'<br>Reverse: 5'-CCATTTCGATTAAACCAGCTT-3' | 142         |
| SOD | Forward: 5'-CAAGGAACCCACAGGCCTTAT-3'<br>Reverse: 5'-GGCTAACATTCTCCAGTTGA-3' | 133         |
| GPX | Forward: 5'-CATTGAGAATGTGCGTCCCC-3'<br>Reverse: 5'-TTGCCATTCTCTGATGTCCG-3'  | 141         |

انجام واکنش PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای طراحی پرایمرها ابتدا توالی mRNA مربوط به SOD، GPX، CAT با استفاده از سایت مرکز ملی اطلاعات زیست فناوری آمریکا<sup>۱</sup> استخراج شد (جدول ۱). پرایمرها توسط نرم افزار آل آیدی<sup>۲</sup> ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم افزار بلاست<sup>۳</sup> جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمرها توسط شرکت سیناکولن ساخته شد. در این تحقیق از ژن بتاکتینین به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

هر واکنش با استفاده از محلول PCR و SYBR<sup>TM</sup> Green در دستگاه سکانس شرکت اپلاید بایوسیتمز<sup>۴</sup> طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. برای تمامی ژن های مورد مطالعه نیز ژن رفرنس (یعنی بتاکتینین) جهت به دست آوردن دمای مناسب آنیل کردن گرادیان دمایی انجام گردید. همچنین جهت بررسی کارآمدی پرایمرها، منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن (سری های رقیق شده DNA) رسم گردید. نمودار ملتنینگ نیز جهت بررسی صحت واکنش های PCR انجام شده به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. ژن مرجع تقریباً برابر بود. با استفاده از قرار دادن داده ها در فرمول های

1. NCBI (National Center for Biotechnology Information)
2. Allel ID
3. BLAST
4. Sequence, Applied Biosystems Inc



نمودار ۱- میزان بیان ژن SOD (الف)، GPX (ب) و CAT (ج) کاتالاز در گروه‌های مختلف  
 \*: کنترل سالم در مقایسه با سایر گروه‌ها ( $p < 0.001$ )  
 #: کنترل آلزایمری در مقایسه با سایر گروه‌ها ( $p < 0.001$ )

هشت هفته‌ای مداخله ژل رویال و تمرین مقاومتی بیان ژن SOD در گروه تمرین و همچنین گروه تمرین + ژل رویال به نسبت گروه کنترل سالم افزایش معناداری داشت. همچنین بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل آلزایمری فقط در گروه‌های تمرین و گروه تمرین + ژل رویال افزایش معناداری داشته است. این نتایج با برخی پژوهش‌ها [۱۴، ۱۵] مخالف و ناهمسو است و با نتایج پژوهش برخی مطالعات موافق و همسو است [۸، ۹، ۱۶]. عظیمیان و همکاران در پژوهشی به

برای بررسی اختلاف مورد نظر از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. نمودار ۱-الف تفاوت میزان بیان ژن SOD در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که بیان ژن SOD در دو گروه تمرینی (گروه تمرین و گروه تمرین + ژل رویال) نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معناداری داشته است ( $p = 0.001$ ). همچنین بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل آلزایمری فقط در گروه تمرین ( $p = 0.006$ ) و گروه تمرین + ژل رویال ( $p = 0.001$ ) افزایش معناداری داشته است. افزایش اندکی در گروه ژل رویال مشاهده شد که از نظر آماری معنادار نبود ( $p = 0.09$ ).

نمودار ۱-ب تفاوت میزان بیان ژن GPX در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که بیان ژن GPX فقط در دو گروه تمرینی به نسبت گروه کنترل آلزایمری و کنترل سالم افزایش معناداری داشته است ( $p = 0.001$ ).

نمودار ۱-ج تفاوت میزان بیان ژن کاتالاز در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که بیان ژن کاتالاز در گروه تمرین، گروه ژل رویال و همچنین تمرین + ژل رویال به نسبت گروه کنترل آلزایمری افزایش معناداری داشته است ( $p = 0.001$ ). همچنین در گروه تمرین + ژل رویال به نسبت گروه کنترل سالم، افزایش معناداری در میزان بیان ژن کاتالاز ایجاد شده است ( $p = 0.015$ ). نتایج همچنین نشان داد که در گروه کنترل آلزایمری به نسبت گروه کنترل سالم کاهش معناداری در میزان بیان ژن کاتالاز وجود دارد ( $p = 0.038$ ).

## بحث و نتیجه‌گیری

یکی از فاکتورهای که در پاتوژنز فرآیند بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر نقش اصلی را بازی می‌کند استرس اکسیداتیو (عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدان) است [۳-۱]. پژوهش حاضر نقش مکمل‌یاری ژل رویال و فعالیت ورزشی بر عوامل آنتی‌اکسیدانی بافت هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر را مورد مطالعه قرار داده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد پس از اجرای پروتکل

بررسی اثر هشت هفته فعالیت بدنی اجباری همراه با مصرف ژل رویال بر سطح افسردگی و اضطراب و ظرفیت آنتی اکسیدانی در موش‌های آلزایمری شده با تری متیل تین پرداختند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که ترکیب ورزش اجباری با مصرف مکمل ژل رویال قابلیت تعدیل خلق را دارد و می تواند به عنوان یک روش سودمند مورد استفاده انسانی قرار گیرد و تأثیر مثبت مصرف ژل در افزایش SOD و GPX محرز گردید. همچنین مهدوی و همکاران در پژوهشی به بررسی یک دوره تمرینات چهار هفته‌ای ایروبیک به همراه مصرف مکمل برهموم<sup>۱</sup> بر شاخص‌های آنتی اکسیدانی دونده‌ها پرداختند. نتایج آنها نشان داد که SOD در گروه مداخله مکمل برهموم و فعالیت ورزشی افزایش معناداری به نسبت سایر گروه‌ها داشت

شاید از دلایل اختلاف نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش باوم<sup>۲</sup> و گوارزو<sup>۳</sup> به نوع آزمودنی‌ها و مداخله مکملی و ورزشی برگردد. در پژوهش‌های ذکر شده از بیماران ویروسی و نقص ایمنی به عنوان آزمودنی استفاده شده است. در حالی که در این پژوهش از ژل رویال و فعالیت ورزشی به عنوان مداخله استفاده شده است. همچنین نتایج نشان می‌دهد که در گروه ژل رویال افزایش اندکی در بیان ژن SOD مشاهده می‌شود، اما این افزایش از نظر آماری معنادار نیست ( $p=0/9$ ). احتمالاً علت عدم تغییر میزان فعالیت SOD به دنبال مصرف ژل رویال به میزان دوز مصرفی از ژل رویال برگردد و دوزهای مصرفی بیشتر یا کمتر نتایج متفاوت‌تری را ایجاد نماید. شاید میزان مصرف دوز روزانه  $100\text{mg/Kg}$ ، در حدی نبوده است که سبب افزایش میزان عامل‌های سیستم ضد اکسایشی بدن شود. می‌توان گفت که میزان طبیعی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، پاسخگوی مقابله با رادیکال‌های تولید شده در اثر آلزایمر بوده‌اند که می‌تواند توجیه مناسبی برای عدم تغییر در فعالیت

این آنزیم‌ها به حساب آید.

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن GPX در گروه تمرین و همچنین تمرین + ژل رویال به نسبت هر دو گروه کنترل افزایش معناداری داشته است. این نتایج با پژوهش فتح‌الهی و همکاران، گون<sup>۴</sup> و همکاران موافق و همسوست [۱۸، ۱۷] و با نتایج پژوهش‌های افضل پور و همکاران، رحمانی و همکاران و گریزی و همکاران مخالف و ناهسوست [۲۱-۱۹]. افضل پور و همکاران در پژوهشی به بررسی تأثیر مصرف عنب بعد از یک جلسه تمرین مقاومتی بر شاخص GPX پرداخته بودند. شاید از دلایل اختلاف نتایج پژوهش حاضر با پژوهش ذکر شده به نوع مکمل مصرفی و نوع پروتکل ورزشی برگردد. در پژوهش حاضر از مکمل ژل رویال استفاده شده و همچنین هشت هفته تمرین مقاومتی استفاده شده است. اما در پژوهش ذکر شده از مکمل عنب و یک جلسه تمرین مقاومتی استفاده شده است. همچنین از دلایل احتمالی اختلاف با نتایج پژوهش گریزی و همکاران به نوع پروتکل تمرینی و مکمل بر می‌گردد. در پژوهش ذکر شده از نوع تمرینات استقامتی پرفشار و همچنین مکمل کورکومین به عنوان مداخله استفاده شده است.

نتایج حاضر نشان داد که بیان ژن کاتالاز در گروه تمرین، گروه ژل رویال و همچنین تمرین+ژل رویال به نسبت گروه کنترل آلزایمر و نیز در گروه تمرین+ژل رویال به نسبت گروه کنترل سالم افزایش معنادار و در گروه کنترل آلزایمر به نسبت گروه کنترل سالم کاهش معنادار داشت. این نتایج با پژوهش رمی و همکاران همسوست [۲۲] و با نتایج امینی و همکاران و هوانلو و همکاران ناهسوست [۲۳، ۲۴]. امینی و همکاران به دنبال بررسی نقش مصرف هشت هفته‌ای مکمل زنجبیل بر بیان ژن کاتالاز پرداختند. نتایج آنها نشان از عدم تغییر بیان ژن کاتالاز بود. احتمالاً از دلایل اختلاف نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش امینی و همکاران به مصرف نوع مکمل‌های

1. Propolis (bee glue)

2. Baum

3. Gwarzo

4. Goon

گیاهی برگردد. از طرفی دیگر در پژوهش ذکر شده از نمونه‌های انسانی استفاده شده است. در حالی که در پژوهش حاضر از نمونه‌های حیوانی به عنوان نمونه استفاده شده است. رادیکال‌های اکسیژن می‌توانند به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاهای چربی حمله کرده و در پی آن منجر به ایجاد اختلال در رشد و نمو و عملکرد سلول شوند. بافت‌های مغز حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند که در مقابل حملات رادیکال‌های آزاد آسیب‌پذیری خاصی دارند. بنابراین مواد آنتی‌اکسیدان می‌توانند نقش مهمی در جلوگیری و درمان بیماری‌های نورودژنراتیو بازی کنند [۲۵]. تحقیقات اخیر پیشنهاد کرده‌اند که ژل رویال ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد را دارد و یک آنتی‌اکسیدان بسیار مفید و مؤثر است. همچنین نشان داده شده است که ژل رویال فرایند پراکسیداز را در محیط آزمایشگاهی و یا داخل بدن موجود زنده مهار می‌کند [۲۶]. ورزش موجب تنظیم حالت اکسیداسیون احیاء و افزایش مقاومت در برابر فشار اکسایشی و تسهیل ترمیم و بهبود عملکرد مغز می‌شود. اکونا و همکاران گزارش کرده‌اند که تمرین بدنی می‌تواند با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های CAT، SOD و GPX در قشر مغز موش صحرایی، نقش محافظتی در برابر عدم تعادل اکسایشی و آسیب‌های مغزی داشته باشد [۲۷]. مطالعه فرانزونی با بررسی اثر شش هفته تمرین تداومی با شدت متوسط نیز بیانگر شرایط آنتی‌اکسیدانی هیپوکمپ است [۲۸]. با این حال، مشاهده شده است که اجرای تمرینات سنگین با بروز پدیده بیش تمرینی موجب افزایش فشار اکسایشی شده و بافت مغز و به ویژه عملکرد شناختی هیپوکمپ را تحت تأثیر منفی قرار می‌دهد [۱۶].

تمرینات ورزشی منظم می‌تواند موجب ایجاد ساز و کارهای مفید در عملکرد مغز شود و در آماده‌سازی سلول‌ها برای مقابله با سطوح بالاتر استرس اکسیداتیو نقش داشته باشد که از جمله این تمرینات، تمرین مقاومتی است. در خلال فعالیت ورزشی، افزایش مصرف اکسیژن تولید

گونه‌های فعال اکسیژن را به غلظتی میرساند که منجر به بهینه کردن سیگنال‌های اکسیداتیو و تنظیم مسیرهای سیگنالینگ و بیان ژن در بافتهای مختلف از جمله مغز و قلب می‌شود و موجب بهبود عملکرد تنفس میتوکندریایی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، بیان پروتئین‌های شوک گرمایی در حد نیاز و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بافت‌ها می‌شود [۲۹]. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، پراکسیداسیون لیپیدی و تولید گونه‌های فعال اکسایشی در بیماران آلزایمری افزایش یافت. یکی از مهمترین دلایل برای به وجود آمدن این نتایج احتمالاً به عدم تعادل متابولیک در شرایط بیماری آلزایمری بر می‌گردد. برای از بین بردن صدمات ناشی از تولیدات اکسایش، ارگاناسم ناچار است چندین سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی را به کار گیرد. مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی در عضلات اسکلتی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شوند که این امر با نتایج پژوهش حاضر همسو است [۲۹].

میزان جریان خون مغز در حین فعالیت‌های ورزشی افزایش یافته و از طرفی با افزایش شدت تمرین (مانند تمرینات مقاومتی) احتمال بروز هایپوکسی در فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز وجود دارد. در چنین شرایطی تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافتهای سیستم عصبی مرکزی به علت هایپوکسی، کاهش منابع گلیکوژن، تغییرات در درجه حرارت، pH و برهم خوردن هموستاز یونهای کلسیم، واکنشهای هیدروژن پراکسیداز و یون کلسیم و عوامل التهابی موجود در سیستم گردش خون و در انتها ضعف سیستم آنتی‌اکسیدانی سیستم عصبی مرکزی منجر به بهم خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و مواد پراکسیداسیون از یک طرف و سیستم آنتی‌اکسیدانی از طرف دیگر شده و منجر به بروز استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی مرکزی می‌گردد [۳۰]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیماری آلزایمر سبب تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن (کاهش آنزیم‌های اکسیدانی

مانند کاتالاز در پژوهش حاضر) در بعضی از نواحی مغز از جمله هیپوکمپ می‌شود و به نظر می‌رسد که سبب نقص‌های طولانی مدت در فرآیند یادگیری، حافظه و همچنین بروز رفتارهای اضطرابی می‌گردد. استرس اکسیداتیو به واسطه افزایش گونه‌های فعال اکسیژن سبب آسیب مولکولهای زیستی از قبیل لیپیدها می‌شود، به طوری که متابولیت‌های پراکسیداسیون لیپیدی مانند افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید مغز به عنوان یکی از علائم بیماریهای تحلیل عصبی از جمله آلزایمر در نظر گرفته می‌شود [۳۰]. اما زمانی که به بررسی تأثیر ترکیبی تمرین ورزشی و ژل رویال پرداخته می‌شود، نتایج قابل اعتمادتر و کامل‌تری به دست می‌آید. همان‌طور که در پژوهش مهدویان و همکاران که به بررسی اثرات برهموم و فعالیت ورزشی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پرداخته بودند گفته شد، برهموم و ژل رویال دارای یک خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. این مواد با داشتن فنول‌ها که مهمترین عناصر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عسل هستند می‌توانند این خاصیت و کارکرد خود را به نحو احسن انجام دهند. برهموم و ژل رویال حاوی بیشترین مقدار فنول در مقایسه با دیگر محصولات زنبوری (عسل و گرده) است، در نتیجه برای فعالیتهای آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکالهای آزاد بیشتر مطالعه شده است. پینوسمیرین، کریسین و پینوبانکسین از جمله ترکیبات با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی قوی هستند در مطالعات، پینوبانکسین ۳-استات به عنوان قویترین ترکیب آنتی‌اکسیدانی معرفی شده است [۳۱]. ترکیبات حاصل از هیدرولیز آنزیمی ژل رویال دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار زیادی در مقابل انواع اکسیژن فعال از قبیل رادیکال‌های آنیون سوپراکسید و هیدروکسیل است. به نظر می‌رسد که آلزایمر در رت‌هایی که دچار آلزایمر می‌شوند بهبود می‌یابد. همان‌طور که در بالا اشاره شد یکی از این دلایل بهبود شرایط استرس اکسیداتیو است. شاید بهبود در حافظه رت‌های آلزایمری به دلیل مهار استرس اکسیداتیو و بهبود سطح ATP توسط ژل رویال باشد، چرا که مطالعات پیشین نشان داده‌اند ژل رویال از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود

هیپرانسولینمی و مقاومت به انسولین در مدل‌های حیوانی مقاوم به انسولین می‌گردد (مقاومت به انسولین با تغییر سطح استرس اکسیداتیو همراه می‌شود) [۱۶]. از طرفی دیگر فعالیت ورزشی از نوع مقاومتی نیز می‌تواند به بهبود شرایط استرس اکسیداتیوی ناشی از آلزایمر کمک کند. همچنین ترکیبات حاصل از هیدرولیز آنزیمی ژل رویال، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار زیادی در مقابل انواع اکسیژن فعال از قبیل رادیکال آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل است [۱۲]. لازم به ذکر است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژل رویال و فعالیت ورزشی از نوع تمرینات مقاومتی در پژوهش حاضر احتمالاً به دلیل تولید مواد آنتی‌اکسیدانی و اتصال آنها با رادیکالهای آزاد است که باعث کاهش استرس اکسیداتیو می‌شوند، نه این که به طور مستقیم فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان‌ها را تغییر دهند [۱۷]. هیپوکمپ و نواحی مختلف کورتکس مغز در یادگیری و حافظه نقش دارند و افزایش استرس اکسیداتیو برای این نواحی مغز، بسیار بحرانی است. همچنین استرس اکسیداتیو و فرآیندهای التهابی نقش مهمی در پاتوژنز بیماری آلزایمر دارند. به نظر می‌رسد ژل رویال و ترکیب با تمرینات مقاومتی می‌تواند اثرات مثبتی بر هیپوکمپ رت‌ها بگذارد. در اختلالات نورودژنراتیو چربی‌ها، پروتئین‌ها، ترکیبات عمده ساختاری و عملی غشای سلول توسط رادیکال‌های آزاد مورد حمله قرار می‌گیرند که به پراکسیداسیون چربی‌ها و اکسیداسیون پروتئین‌ها و در نهایت آسیب یکپارچگی غشا منجر می‌گردد. این امر در تسریع مکانیسم پیری و اختلالات نورودژنراتیو وابسته به آن فاکتور مهمی است [۲۸].

ژل رویال به دلیل داشتن فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است در پیشگیری از تخریبات ناشی از استرس اکسیداتیو و بروز اختلالات ناشی از آن نقش حفاظتی داشته باشد. فعالیت ورزشی منظم با شدت و مدت متوسط اثرات مفید بسیاری بر بدن دارد زیرا موجب تنظیم هموستاز اکسیداسیون-احیا می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که ورزش می‌تواند اثرات مفیدی بر تنش اکسیداتیو داشته باشد [۳۲]. تأثیر تمرین روی شرایط

ردوکس بستگی به بسیاری از عوامل، مانند نوع تمرین، بار تمرین و همچنین سن، جنس و عوامل همسو با خطر و شرایط بدنی دارد. تمرینات کوتاه مدت ممکن است باعث افزایش استرس اکسایشی و عدم تعادل بین تولید ROS و عوامل آنتی اکسیدان شده و نهایتاً منجر به اختلال در میتوکندری می شوند با این حال ورزش طولانی مدت ممکن است سم زدایی ROS را با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی سلولی یا تحریک بیان ژن هایی مانند Mn-SOD امکان پذیر سازد. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش سطح پرکسیداسیون لیپیدی که به دنبال فعالیت ورزشی پدید می آید، دارای تأثیرات مهمی در جلوگیری از عوارض استرس اکسیداتیو است [۳۲]. در تحقیق حاضر نیز تمرین موجب افزایش معنی دار کاتالاز و سایر آنزیم های مربوط به سیستم آنتی اکسیدانی شده است. از طرفی بیماری آلزایمر منجر به کاهش میزان آنزیم کاتالاز شده است. در این پژوهش در گروه هایی که تمرین ورزشی و همچنین استفاده از ژل رویال وجود دارد، سیستم آنتی اکسیدانی تقویت شده است. احتمالاً ژل رویال و تمرین مقاومتی بتواند از طریق حفاظت از ماده وراثتی DNA در برابر استرس اکسیداتیو خاصیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دهد. اخیراً محققان آنزیم های هیدرولیزی و آلکالین از ژل رویال که فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان داده استخراج نموده اند [۱۶].

تمرین مقاومتی منظم هم به عنوان عاملی مؤثر در تقویت سیستم آنتی اکسیدانی بدن شناخته شده است. به طور کلی اگر چه فعالیت ورزشی از یکسو با افزایش فشار اکسایشی، احتمال تشکیل رادیکال های آزاد مضر را افزایش می دهند، اما از سوی دیگر با القای آنزیم های ضد اکسایشی سبب کاهش رادیکال های آزاد می شوند [۵]. مطالعات تأثیر تمرینات منظم را در افزایش ظرفیت دفاع ضد اکسایشی و کاهش فشار اکسایشی نشان داده اند [۵]. به نظر می رسد تمرین ورزشی به طور منظم سازگاری های آنتی اکسیدانی مناسبی را ایجاد می کند و مانع از افزایش عوامل فشار اکسایشی می شود. همچنین به نظر می رسد ترکیب مداخله فعالیت ورزشی به همراه ژل رویال

می تواند اثرات مثبت و مشهودتری بر سیستم آنتی اکسیدانی رت های آلزایمری بگذارد. در واقع شاید اگر تعداد هفته های تحت مداخله ژل رویال و تمرین ورزشی رت های آلزایمری بیشتر می شد، افزایش مشهودتری در میزان بیان ژن عوامل آنتی اکسیدانی مشاهده می شد. اما به دلیل محدودیت های پژوهشی این امکان میسر نبود و نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده دارد. محدودیت هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می توان به عدم اندازه گیری دیگر فاکتورهای آسیب اکسایشی و آنزیم های آنتی اکسیدانی (پروتئین کربونیل، مالون دی آلدئید و ...) اشاره کرد. این نقطه ضعف پژوهشی پیشنهادی به مطالعات آینده به منظور اندازه گیری این عوامل در بیماران مبتلا به آلزایمر است. در مجموع، با توجه به نتایج این پژوهش، بر ضرورت طراحی و ارائه برنامه ورزشی مناسب (ترکیب تمرین مقاومتی و استفاده از ژل رویال) برای بهبود بیماران آلزایمری پیشنهاد می شود.

در پژوهش های بالینی مشخص شده است که پروتئین ژل رویال دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است. احتمالاً ژل رویال یک غذای ویژه است که دارای خاصیت جمع آوری رادیکال های آزاد است. آنتی اکسیدان ها سبب کاهش در پراکسیداسیون لیپیدها شده و از این طریق سبب کاهش اثرات مخرب رادیکال های آزاد و تقویت طولانی مدت هیپوکمپ می شوند. همچنین تمرین منظم اثرات مفیدی بر عملکرد مغز دارد و نقش پیشگیرانه و درمانی مهمی در بیماری های آلزایمر و پارکینسون و سایر شرایط تخریبی ایفاء می کند. احتمالاً ترکیب ژل رویال و تمرین مقاومتی بتواند از طریق حفاظت از ماده وراثتی DNA در برابر استرس اکسیداتیو خاصیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دهد. با توجه به یافته های این پژوهش که حاکی از اثرات مفید ژل رویال و تمرین ورزشی در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی است، پیشنهاد می شود که از ژل رویال و روش تمرینی مقاومتی به عنوان مکمل در افرادی که بیماری های سیستم عصبی مرکزی دارند استفاده شود.

## تشکر و قدردانی

این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی - واحد مرودشت با کد اخلاق IR.IAU.M.REC.1400.009 در تاریخ مرداد ماه ۱۴۰۰ به تصویب رسیده است. بدین وسیله از همه کسانی که ما را در انجام مطلوب این پژوهش یاری دادند، سپاسگزاری می‌نماییم.

## سهم نویسندگان

در مقاله حاضر همه نویسندگان در ایده و اجرای طرح و نگارش و بازنگری سهمیم بوده و همه با تأیید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت صحت و دقت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند

## منابع مالی

این مقاله از پایان‌نامه دوره دکتری نویسنده اول استخراج شده است. برای این طرح از هیچ ارگانی منبع مالی دریافت نشده است.

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

## References

- Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *science*. 2006;314(5800):777-781. doi:10.1126/science.1132814
- Chen Z, Zhong C. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neuroscience bulletin*. 2014;30(2):271-281. doi:10.1007/s12264-013-1423-y
- Cassidy L, Fernandez F, Johnson JB, Naiker M, Owoola AG, Broszczak DA. Oxidative stress in alzheimer's disease: a review on emergent natural polyphenolic therapeutics. *Complementary therapies in medicine*. 2020;49. doi:10.1016/j.ctim.2019.102294
- Oyagbemi AA, Azeez O, Saba A. Interactions between reactive oxygen species and cancer, the roles of natural dietary antioxidants and their molecular mechanisms of action. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2009;10(4):535-544.
- Dabidi R, Moslehi N. The effect of short-term vitamin E supplementation on some indexes of sport performances and lipid per-oxidation in healthy men. *World journal of sport sciences* 2009;2:75-81. [Persian]
- e Silva TGdS, da Silva JRM, da Silva Alves A, Britto LRG, Xavier GF, Sandoval MRL. Oral treatment with royal jelly improves memory and presents neuroprotective effects on icv-STZ rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Heliyon*. 2020;6(2):1-20. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e03281
- Siavash M, Shokri S, Haghighi S, Shahtalebi MA, Farajzadehgan Z. The efficacy of topical royal jelly on healing of diabetic foot ulcers: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *International wound journal*. 2015;12(2):137-142. doi:10.1111/iwj.12063
- Azimpour M, Fathi M, Dezfoulian O. Effect of eight weeks of forced physical activity with royal jelly consumption on depression and anxiety levels and antioxidant capacity in trimethyltin-induced Alzheimer's rats. *Journal of applied exercise physiology*. 2021;17(33):15-34. [Persian] doi:10.22080/JAEP.2020.19373.1962
- Soleimani P, Shemshaki A, Hedayati M, Astinchap A. Effect of two-week exercise and supplementation of royal jelly on total antioxidant capacity of plasma and superoxide dismutase in obese male rats. *Journal of applied health studies in sport physiology*. 2018;5(1):77-82. [Persian] doi:10.22049/JASSP.2019.26365.1188
- Foadoddini M, Afzalpour ME, Taheri Chadorneshin H, Abtahi Eivary SH. Effect of intensive exercise training and vitamin E supplementation on the content of rat brain-driven neurotrophic factors. *Iranian red crescent medical journal (IRCMJ)*. 2018;20(2):1-9.
- Godfrey J, Kayser B, Gomez G, Bennett J, Jaque S, Sumida KD. Interrupted resistance training and BMD in growing rats. *International journal of sports medicine*. 2009;30(08):579-584. doi:10.1055/s-0029-1202823
- Kennedy G, Hardman RJ, Macpherson H, Scholey AB, Pipingas A. How does exercise reduce the rate of age-associated cognitive decline? A review of potential mechanisms. *Journal of alzheimer's disease*. 2017;55(1):1-18. doi:10.3233/JAD-160665
- Arzi A, Houshmand G, Goudarzi M, Khadem Haghighian H, Rashidi Nooshabadi M. Comparison of the analgesic effects of royal jelly with morphine and aspirin in rats using the formalin. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2015;17(2):50-56. doi:10.22088/jbums.17.2.50
- Baum M, Sales S, Jayaweera D, Lai S, Bradwin G, Rafie C, et al. Coinfection with hepatitis C virus, oxidative stress and antioxidant status in HIV-positive drug users in Miami. *HIV medicine*. 2011;12(2):78-86. doi:10.1111/j.1468-1293.2010.00849.x
- Gwarzo MY, Muhammad SA-K. Extracellular superoxide dismutase activity and plasma malondialdehyde in human immunodeficiency virus subjects of Kano State as surrogate markers of CD4 status. *International journal of biomedical science*. 2010;6(4):294-300.

15. Mahdavi Asiabar M, Nasiri Farsani M, Gheibi N. Assessment of propolis supplementation on serum concentrations of liver enzymes in endurance athletes with four weeks aerobic training. *Journal of inflammatory diseases*. 2021;25(1):25-30. doi:10.32598/JQUMS.25.1.7
16. Fathollahi Shoorabeh F, Tarverdyzadeh B, Aminbaksahayesh S. Effect of 8 weeks resistance training on some antioxidant/oxidative indexes in postmenopausal women with breast cancer. *The horizon of medical sciences*. 2017;23(4):279-283. [Persian]
17. Goon J, Aini AN, Musalmah M, Anum MY, Nazaimoon WW, Ngah WW. Effect of Tai Chi exercise on DNA damage, antioxidant enzymes, and oxidative stress in middle-age adults. *Journal of physical activity and health*. 2009;6(1):43-54.
18. Esmaei Afzalpour ME, Abtahi Eivari H, Rezazadeh A, Soluki A. Effect of Ziziphus jujuba supplementation before one session of acute resistance exercise on the serum glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity. *The horizon of medical sciences*. 2015;21(2):97-104. [Persian] doi:10.18869/acadpub.hms.21.2.97
19. Gorzi A, Tofighi A, Amiri B. The effects of curcumin supplementation on oxidative stress induced during strenuous endurance training on the kidney and lung tissues. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2018;23(4):1-11. [Persian]
20. Rahmani A, Gorzi A, Ghanbari M. The effects of high intensity interval training and strenuous resistance training on hippocampal antioxidant capacity and serum levels of malondialdehyde and total antioxidant capacity in male rats. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2018;23(6):47-58. [Persian]
21. Rami M, Habibi A, Khajehlandi M. The effect of moderate intensity exercise on the activity of catalase enzyme and malondialdehyde in hippocampus area of diabetic male Wistar rats. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2018;22(6):555-563. [Persian]
22. Amini H, Azarbayjani MA, Azizbeigi K. The effects of ginger supplementation on the expression of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase enzymes and lipid peroxidation level in healthy men. *scientific magazine yafte*. 2018;19(5):53-60. [Persian]
23. Hovanloo F, Hedayati M, Ebrahimi M, Abednazari H. Effect of various time courses of endurance training on alterations of antioxidant enzymes activity in rat liver tissue. *Research in medicine*. 2011;35(1):14-19. [Persian]
24. Ishrat T, Parveen K, Khan MM, Khuwaja G, Khan MB, Yousuf S, et al. Selenium prevents cognitive decline and oxidative damage in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. *Brain research*. 2009;1281:117-127. doi:10.1016/j.brainres.2009.04.010
25. Jamnik P, Goranovič D, Raspor P. Antioxidative action of royal jelly in the yeast cell. *Experimental gerontology*. 2007;42(7):594-600. doi:10.1016/j.exger.2007.02.002
26. Eken A, Aydin A, Erdem O, Akay C, Sayal A, Somuncu I. Induced antioxidant activity in hospital staff occupationally exposed to ionizing radiation. *International journal of radiation biology*. 2012;88(9):648-653. doi:10.3109/09553002.2012.702295
27. Franzoni F, Federighi G, Fusi J, Cerri E, Banducci R, Petrocchi A, et al. Physical exercise improves total antioxidant capacity and gene expression in rat hippocampal tissue. *Archives italiennes de biologie*. 2017;155(1/2):1-10. doi:10.12871/aib.v155i1/2.4604
28. Ascensão A, Magalhães J, Soares J, Ferreira R, Neuparth M, Marques F, et al. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. *International journal of cardiology*. 2005;100(3):451-460. doi:10.1016/j.ijcard.2004.11.004
29. Grotto D, Maria LS, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC, et al. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quimica Nova*. 2009;32(1):169-174.
30. Boisard S, Le Ray A-M, Gatto J, Aumond M-C, Blanchard P, Derbré S, et al. Chemical composition, antioxidant and anti-AGEs activities of a French poplar type propolis. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014;62(6):1344-1351. doi:10.1021/jf4053397
31. Park J-w, Kim M-H, Eo S-J, Lee E-H, Kang J-S, Chang H-K, et al. Maternal exercise during pregnancy affects mitochondrial enzymatic activity and biogenesis in offspring brain. *International journal of neuroscience*. 2013;123(4):253-264. doi:10.3109/00207454.2012.755969