Research Paper

The Effect of Eight Weeks of Periodic Endurance Training and Ginkgo Biloba Supplementation on Brain-Derived Neurotrophic Factor of Hippocampal Tissue in Alzheimer's Experimental Model

Fatemeh Parsi Far[1], Majid Vahidian-Rezazadeh[*2], Mohsen Saravani[3], Hossien Nakhaie[4]

1. Master's student in exercise physiology, Faculty of Educational Sciences, University of Sistan and Baluchistan, Zahedan, Iran
2. Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Montazeri Technical College of Mashhad, Technical and Vocational University, Mashhad, Iran
3. Assistant Professor of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
4. Assistant Professor of Exercise Physiology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Received: 2023/09/23 **Accepted:** 2024/01/05

Abstract

Introduction: Alzheimer's disease is the most common form of dementia, which is a fatal neurological disorder. The purpose of this study was to investigate the effect of eight weeks of endurance training and Ginkgo biloba supplementation on the neurotrophic factor derived (BDNF) level from the hippocampus brain in the Alzheimer's experimental model.

Materials and Methods: This research was of laboratory type. 50 male Wistar rats weighing 250±20 grams were prepared and divided into seven groups including healthy control, Alzheimer's control, intermittent endurance exercise, Ginkgobiloba supplement, Ginkgobiloba supplement+exercise, shock Surgery, and placebo. To induce Alzheimer's disease in the patient groups, amyloid-beta solution was injected into both sides of the ventricles of the rats' brains. For eight weeks, the exercise groups ran on a treadmill 5 days a week, and the supplemented groups received Ginkgo biloba solution. 24 hours after the last exercise session, the hippocampus tissue was extracted and the BDNF protein level was measured using ELISA method.SPSS software version 22 was used to analyze the data at a significant level (P>0.05).

Results: In the comparison between the groups, the level of BDNF factor was higher in the training+supplement group than in the healthy control, Alzheimer's control, surgical shock, and placebo groups, no increase was observed in the training and supplement alone groups, and the level of the factor was also decreased in the surgical shock and placebo groups.

Conclusion: Intermittent endurance exercise and Ginkgo Biloba supplement consumption at the same time can be an effective treatment to increase the level of BDNF to slow down the process of Alzheimer's disease.

***Corresponding Author:** Majid Vahidian-Rezazadeh
Address: Montazeri Technical College of Mashhad, Technical and Vocational University, Mashhad, Iran.

Tel: +989151900470
E-mail: m-vahidian@tvu.ac.ir

Keywords: Intermittent endurance training, ginkgo biloba supplementation, brain-derived neurotrophic factor, Alzheimer's

How to cite this article: Parsi Far F., Vahidian-Rezazadeh M., Saravani M., Nakhaie H. The Effect of Eight Weeks of Periodic Endurance Training and Ginkgo Biloba Supplementation on Brain-Derived Neurotrophic Factor of Hippocampal Tissue in Alzheimer's Experimental Model , Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2024; 31(1):1-12.

Copyright © 2024 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

One of the age-related diseases in which a person's ability to think, understand, and remember decreases is Alzheimer's disease. This disease is the most important disease of brain degeneration, which is seen in women and men in equal proportion. Alzheimer's is a disease that is associated with neurological disorders, which clinically begins with defects in cognitive function and emotional behaviors, which are mainly caused by selective neuron dysfunction, synaptic loss, and neuroinflammation. Excessive deposition of amyloid beta peptides in the form of plaques in the cerebral cortex and hippocampus and the presence of neurofibrillary tangles are the main pathophysiological features of AD. Besides these, AD is strongly associated with inflammatory processes leading to neurotoxicity. Brain-derived neurotrophic factor is one of the potential targets for the treatment of Alzheimer's disease because it plays a key role in synaptic plasticity. Low levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) play a role in the pathophysiology of neurological diseases, including AD, and it has been proven that active lifestyle and healthy nutrition regulate the level of this factor. In the last ten years, it has been suggested that exercise has a very beneficial effect in the treatment of neurological diseases such as AD. In addition, the prevention of this disease has medicinal, non-pharmacological treatment, as well as a combination of these two treatments, which is a very powerful non-pharmacological treatment of physical activity. Recent research has proven that physical inactivity causes neurological diseases, especially Alzheimer's disease, and it can be said that exercise delays the progress of chronic diseases, especially diseases related to the aging process. The research and surveys conducted by the researcher showed that many researches and different drug treatments and physical activities have been conducted with different statistical populations, which have had contradictory results, but in the meantime, the simultaneous effect of Ginkgobiloba supplement and endurance training that was done experimentally was not observed, so in the research Presently, the effect of eight weeks of periodic endurance training and Ginkgobiloba supplement consumption on changes in BDNF was investigated.

Methodology

This study has a code from the Research Ethics Working Group under the number IR.SSRI.REC-1402-234, which was received from the Research Institute of Physical Education and Sports Sciences. The current research was experimental and laboratory-based, and according to the objectives investigated in this research, there were 50 heads of male Wistar rats, which were requested to reproduce at Zahedan University of Medical Sciences. The average weight of the animals was 250 ± 20 grams. After receiving the animals, initial weighing was done and the animals with similar weights were placed in double cages. The animal housing had a 12-12-hour dark-light cycle. The ambient temperature was 25 degrees Celsius. The animal food was prepared from Behparvar Karaj center and the used water was placed in a special container for animal water. After two weeks, the animals were familiarized with the surgery environment. Animals had free access to water and food in all stages of the research. For induction in AD model, mice were anesthetized intraperitoneally using ketamine (100 mg/kg) and xylazine (8 mg/kg), and the animal's head was closed in a Strotox device. The coordinates of the lateral ventricles were measured and marked. Then, two holes were created by a drill in the relevant positions of the mouse skull and two microliters of Aβ1-42 peptide were injected in each hole using a Hamilton microsyringe during 5 minutes in the lateral ventricles. Four weeks after the surgery, the shuttle box test was taken from the animals to ensure the effect of amyloid-beta, and the recorded results showed the effect of amyloid-beta and causing amnesia in the animals. After the animals were divided into eight groups, including exercise group, exercise + supplement, supplement, healthy control, Alzheimer's control, placebo and sham, and the treatment of the animals in the exercise and exercise + supplement groups five days a week intermittent endurance training began. The exercises started with a speed of eight meters per minute in the first week and reached sixteen meters per minute in the eighth week. The supplement and training groups that were treated with supplements also received 100mg/kg Ginkgo biloba supplement five days a week. 24 hours after the last training session, the animals were first weighed, then completely anesthetized with ketamine 100mg/kg and xylazine 8mg/kg. Then, the animal's head was cut off with a guillotine, the whole brain was separated, and after the brain was frozen, each half of the hippocampus tissue was separated from the brain with tweezers. Measurement of BDNF

concentration was performed using the ELISA kit with Cat. No: ZB-10476C-R9648 related to ZellBio GmbH (Germany). In this research, all statistical analysis operations were performed at a significant level (P>0.05) using SPSS version 22 software. Descriptive statistics including standard deviation and mean in the inferential statistics section, the Shapiro-Wilk test was used to check the normality of the data. One-way analysis of variance was used to compare the mean difference between groups, and Tukey's post hoc test was used to find the difference between groups.

Results

In the comparison between the groups, the level of BDNF in the training + supplement group was higher than that in the healthy control, Alzheimer's control, surgical shock, and placebo groups, no increase in BDNF was observed in the training and supplement alone groups, and in the shock groups. Surgery and placebo also decreased the level of this factor.

Discussion

In general, it can be said that endurance training is recommended as a therapeutic method and Ginkgo biloba supplement is recommended as a cost-effective oral supplement in young to middle-aged people to prevent the onset of Alzheimer's disease in older age. In addition, stress control and an active lifestyle are effective in slowing down the process of Alzheimer's disease through the signaling pathway of the BDNF.

Conclusion

Eight weeks of endurance training and taking Ginkgo Biloba supplements increase BDNF level.

Acknowledgment

I hereby express my gratitude to Zahedan University of Medical Sciences and the respected staff of the animal center of this university.

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors of the article.

مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی تناوبی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا بر فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز بافت هیپوکامپ در مدل تجربی آلزایمر

فاطمه پارسی‌فر[۱]، مجید وحیدیان رضازاده*[۲]، محسن سراوانی[۳]، حسین نخعی[۴]

۱. دانشجوی کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم تربیتی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده فنی شهید منتظری، دانشگاه فنی و حرفه ای خراسان رضوی، مشهد، ایران
۳. استادیار بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران
۴. استادیار فیزیولوژی ورزش، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۵

* نویسندهٔ مسئول: مجید وحیدیان رضازاده
نشانی: دانشکده فنی شهید منتظری، دانشگاه فنی و حرفه‌ای خراسان رضوی، مشهد، ایران
تلفن: ۰۹۱۵۱۹۰۰۴۷۰
رایانامه: m-vahidian@tvu.ac.ir
شناسه ORCID: 0000-0001-7280-4188
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0001-6169-3267

چکیده

زمینه و هدف: بیماری آلزایمر شایع‌ترین شکل زوال عقل می‌باشد که یک اختلال عصبی کشنده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی تناوبی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا بر فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز بافت هیپوکامپ در مدل تجربی آلزایمر است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش از نوع تجربی آزمایشگاهی است،۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن۲۰±۲۵۰گرم تهیه شد. موش‌ها به هفت گروه شامل کنترل سالم، کنترل آلزایمری، تمرین استقامتی تناوبی، مکمل جینکوبیلوبا، مکمل جینکوبیلوبا + تمرین، شوک جراحی و دارونما تقسیم شدند. برای القای بیماری آلزایمر در گروه‌های بیمار محلول آمیلوئیدبتا در دو طرف بطن مغز موش‌ها تزریق شد. برای درمان به مدت هشت هفته گروه‌های تمرینی ۵ روز در هفته بر روی تردمیل دویدند و گروه‌های دارای مکمل از محلول جینکوبیلوبا دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، بافت هیپوکامپ استخراج شد و سطح BDNF به‌وسیله کیت مخصوص اندازه‌گیری شد. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در سطح معناداری (P <۰/۰۵) از نرم‌افزار spss نسخه ۲۲ استفاده شد. برای مقایسه اختلاف میانگین بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و برای یافتن محل اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: در مقایسه بین گروه‌ها سطح BDNF در گروه تمرین + مکمل نسبت به گروه‌های کنترل سالم، کنترل آلزایمر، گروه شوک جراحی و دارونما بالاتر بود، در گروه‌های تمرین و مکمل به‌تنهایی افزایشی مشاهده نگردید و در گروه‌های شوک جراحی و دارونما نیز سطح فاکتور کاهش یافت.

نتیجه گیری: تمرین استقامتی تناوبی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا به‌طور همزمان می‌تواند یک‌راه درمانی مؤثر برای افزایش سطح BDNF برای کندکردن روند بیماری آلزایمر باشد.

کلیدواژه‌ها:
تمرین استقامتی تناوبی، مکمل جینکوبیلوبا، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز، آلزایمر

مقدمه

یکی از بیماری‌های مربوط به سن که در آن، توانایی فکرکردن، درک و یادآوری فرد کاهش می‌یابد بیماری آلزایمر است. این بیماری مهم‌ترین بیماری تحلیل مغز می‌باشد که در خانم‌ها و آقایان به نسبت مساوی دیده شده است (۱). آلزایمر بیماری است که با اختلالات عصبی همراه است که از نظر بالینی با نقص در عملکرد شناختی و رفتارهای هیجانی شروع می‌شود که این اختلالات عمدتاً ناشی از نقص عملکرد نورون‌های انتخابی

Copyright © 2024 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

ازدست‌دادن سیناپسی و التهاب عصبی می‌باشد. رسوب بسیار زیاد پپتیدهای آمیلوئید بتا[1](AB) به شکل پلاک در قشر مغز و هیپوکامپ و وجود گره‌های نوروفیبریلاری از ویژگی‌های اصلی پاتو فیزیولوژیک بیماری آلزایمر (AD) است. به‌غیراز این‌ها بیماری آلزایمر به‌شدت با فرایندهای التهابی منجر به سمیت عصبی مرتبط است (۲). فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز[2] (BDNF) یکی از اهداف بالقوه برای درمان بیماری آلزایمر می‌باشد زیرا در شکل‌پذیری سیناپسی، نقش کلیدی دارد. سطوح پایین فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در پاتو فیزیولوژی بیماری‌های عصبی ازجمله AD نقش دارد، ثابت شده است که سبک زندگی فعال و تغذیه سالم سطح این فاکتور را تنظیم می‌کند (۳).در ده سال گذشته این‌طور گزارش شده است که ورزش تأثیر بسیار مفیدی در درمان بیماری‌های عصبی مانند بیماری AD دارد. علاوه بر این پیشگیری از این بیماری هم درمان دارویی و هم غیردارویی و همچنین ترکیبی از این دو درمان دارد که یک درمان غیردارویی بسیار قدرتمند فعالیت بدنی می‌باشد. تحقیقات اخیر ثابت کرده است که نداشتن تحرک فیزیکی باعث ابتلا به بیماری‌های عصبی به‌ویژه بیماری آلزایمر می‌شود. در ادامه می‌توان گفت ورزش باعث به‌تأخیرانداختن پیشرفت بیماری‌های مزمن به‌خصوص بیماری‌های مرتبط با روند پیری می‌شود (۴).

در طب سنتی، اغلب از داروهای گیاهی برای ارتقای سلامت و درمان استفاده شده است. با این‌حال، کمترین توجه علمی در استفاده از این داروهای سنتی وجود داشته است. اجزای زیست فعال موجود در گیاهان سنتی، به کاهش انواع علائم AD ازجمله ضعف شناختی و ازدست‌دادن حافظه کمک می‌کند. این اجزا از طریق مکانیسم‌های عمل خود، حافظه را بهبود می‌بخشند (۵). جینکوبیلوبا می‌تواند متابولیسم مغز را بهبود بخشد و از ایسکمی و هیپوکسی محافظت کند. عصاره گیاه جینکوبیلوبا به‌طور گسترده در بهبود بیماری‌های مختلف ازجمله بیماری‌های قلبی- عروقی و بیماری‌های عروق کرونر قلب استفاده می‌شود، علاوه بر این یک آنالیز بر روی عصاره این گیاه می‌تواند به‌طور مؤثر عملکرد شناختی بیماران مبتلا به اختلال شناختی را بهبود بخشد (۶). جدیدترین و تنها عضو تیم درمان AD مورد تأیید[3] FDA نتایج جالبی در مورد کاهش پیشرفت بیماری با رسوب آمیلوئید بتا (AB4) ارائه داده است؛ درمان‌های بالینی متعدد که بر درمان تک‌عاملی تأکید داشته است نتوانسته پیشرفت بیماری را کنترل کند که این نشان‌دهنده پاتو فیزیولوژی پیچیده و چندعاملی‌بودن این بیماری می‌باشد و گویای این است که بهتر است از درمان‌های ترکیبی به‌جای درمان‌های تکی استفاده شود (۷).

با توجه به تحقیقات و بررسی‌هایی که در پژوهش حاضر انجام شد نشان داد درمان‌های دارویی و فعالیت‌های بدنی متفاوتی با جامعه آماری متفاوت در تحقیقات داخلی و خارجی متفاوتی صورت گرفته است که نتایج متناقض داشته است، اما در این بین تأثیر هم‌زمان مکمل جینکوبیلوبا و تمرین استقامتی که به‌صورت تجربی انجام شده باشد مشاهده نگردید و همچنین با توجه به موارد گفته‌شده فوق، درمان این بیماری موردتوجه سازمان جهانی بهداشت است که نشان از اهمیت موضوع دارد و متأسفانه درمان قطعی برای این بیماری وجود ندارد از این‌رو در پژوهش حاضر سعی داریم دورنمایی روشن برای درمان یا پیشگیری از این بیماری برای جامعه علمی ارائه کنیم. هدف کلی این پژوهش، بررسی تأثیر تمرینات استقامتی تناوبی و مصرف مکمل گیاهی جینکوبیلوبا بعد از دوره درمان بر روی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در نوع تجربی بیماری آلزایمر می‌باشد.

۲. مواد و روش

این مطالعه دارای کد از کارگروه اخلاق در پژوهش به شماره IR.SSRI.REC.1402.234 می‌باشد که از پژوهشگاه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دریافت گردیده است. پژوهش حاضر به‌صورت تجربی و آزمایشگاهی بوده است و با توجه به اهداف موردبررسی در این پژوهش ۵۰ سر رت نر نژاد ویستار بود که به دانشگاه علوم پزشکی زاهدان درخواست تکثیر داده شد. میانگین وزنی حیوانات ۲۰±۲۵۰ گرم بود. پس از دریافت حیوانات، وزن‌گیری اولیه انجام شد و حیواناتی که وزن‌های نزدیک به هم داشتند در قفس‌های دو عددی قرار گرفتند. محل نگهداری حیوانات دارای چرخه زمان تاریکی و روشنایی ۱۲-۱۲ ساعته بود. دمای محیط ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. غذای حیوانات از مرکز بهپرور کرج تهیه می‌شد و آب مورداستفاده، در ظرف مخصوص آب حیوانات قرار می‌گرفت. پس از دو هفته، آشنایی حیوانات با محیط جراحی‌ها آغاز گردید. حیوانات در کلیه مراحل تحقیق، دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

1 β-amyloid
2 Brain-derived neurotrophic factor
3 Food and Drug Administration

برای آماده‌سازی در پپتید ۵ میلی‌گرمی آمیلوئید بتا (تهیه‌شده از شرکت genscript ساخت کشور آمریکا توسط شرکت بانیان سفینه دانش، تهران- ایران) ۲۰۰ میکرولیتر نرمال سالین استریل اضافه و سپس این محلول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته انکوبه گردید. برای نگهداری در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت محلول، آماده استفاده برای القای بیماری به نمونه‌ها بود. برای القا در مدل AD، موش‌ها با استفاده از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت داخل صفاقی بی‌هوش و سر حیوان در دستگاه استروتاکس بسته شد. مختصات بطن‌های جانبی به‌وسیله خط‌کش ۵ سانتی‌متری اندازه‌گیری شد به‌طوری که از خط برگما دو میلی‌متر به سمت پایین و بعد یک‌ونیم میلی‌متر سمت راست و یک‌ونیم میلی‌متر سمت چپ علامت‌گذاری شد. سپس، توسط مته دو سوراخ در موقعیت‌های مربوط به جمجمه موش ایجاد شد و پپتید Aβ1-42 میکرو لیتر در هر سوراخ با استفاده از میکرو سرنگ همیلتون در طول ۵ دقیقه در بطن‌های جانبی تزریق گشت. به‌طورکلی ۳۷ حیوان جراحی شدند که از این تعداد ۵ حیوان برای بررسی تأثیر استرس جراحی آب مقطر در سوراخ‌های ایجادشده تزریق گردید و به ۳۲ حیوان جراحی‌شده دیگر از محلول آماده‌شده آمیلوئید بتا در سوراخ‌های ایجادشده تزریق شد که چهار گروه هشت‌تایی شامل گروه تمرین – گروه تمرین + مکمل – گروه مکمل و گروه کنترل آلزایمر را تشکیل دادند. برای مقایسه تأثیر درمان‌ها در پایان تحقیق، یک گروه به‌عنوان گروه کنترل سالم درنظر گرفته شد و همچنین یک گروه هم برای تأثیر استرس به‌عنوان گروه دارونما انتخاب شد. سپس چهار هفته پس از جراحی آزمون شاتل باکس از حیوانات به دلیل اطمینان از تأثیر آمیلوئید بتا گرفته شد که نتایج ثبت‌شده نشان از تأثیر آمیلوئید بتا و ایجاد فراموشی در حیوانات می‌داد.

حیوانات مطابق جدول ۱ گروه‌بندی شدند و درمان‌های موردنظر شروع گردید.

جدول ۱. گروه‌بندی حیوانات پس از جراحی

ردیف	گروه و متغیر	نشانه گروه	تعداد	تزریق آمیلوئید	نوع درمان
۱	گروه تمرین	TT	۸	+	تمرین استقامتی تناوبی
۲	گروه تمرین+ مکمل	TMT	۸	+	تمرین استقامتی تناوبی + مکمل جینکوبیلوبا
۳	گروه مکمل	TM	۸	+	مکمل جینکوبیلوبا
۴	گروه کنترل سالم	CS	۸	-	----
۵	گروه کنترل آلزایمر	CA	۸	+	----
۴	گروه دارونما	D	۵	-	گاواژ آب مقطر
۷	گروه شوک جراحی	SH	۵	+	----

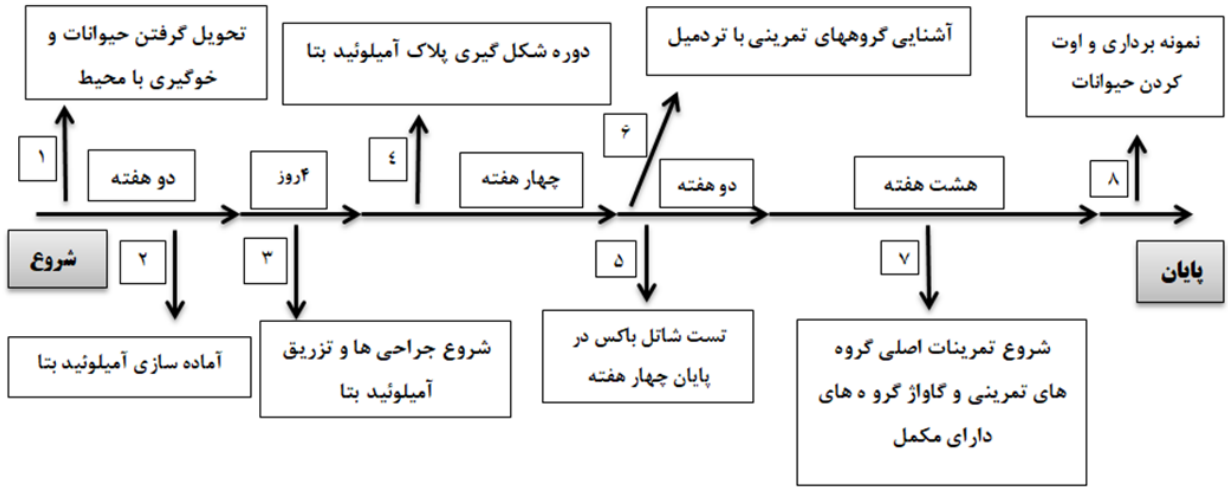
مکمل جینکوبیلوبا از شرکت داروسازی دینه (ایران- تهران) تهیه گردید. در ابتدای هر هفته ۲ گرم از پودر گیاه جینکوبیلوبا با ۵ میلی‌لیتر الکل ۹۹ درصد و ۶/۱ میلی‌لیتر سوربیتول مخلوط شد و بعد از آن با استفاده از آب مقطر رقیق گردید. حیوانات گروه‌ها مکمل و تمرین + مکمل که درمان با مکمل داشتند پنج روز در هفته به‌صورت گاواژ از مکمل آماده‌شده دریافت می‌کردند، همچنین گروه دارونما آب مقطر به‌تنهایی را دریافت کرد. گروه‌ها در ابتدای هفته وزن‌گیری شدند و 100MG/KG از محلول به آن‌ها گاواژ شد.

حیوانات گروه تمرین و گروه تمرین + مکمل ابتدا به مدت دو هفته آشنایی با دستگاه تردمیل داشتند و سپس درمان اصلی شروع شد. در هفته اول تمرین با دو جلسه پانزده‌دقیقه‌ای با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز شد و در هفته پایانی (هفته هشتم) به چهار جلسه پانزده‌دقیقه‌ای و سرعت ۱۶ متر بر دقیقه رسید که شرح کامل آن در جدول ۲ آمده است. شایان ذکر است در تمام مراحل تمرین حیوانات ۵ دقیقه گرم‌کردن و ۵ دقیقه استراحت‌های فعال بین جلسات ۱۵ دقیقه‌ای تمرین و همچنین ۵ دقیقه مرحله سردکردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه را داشتند. کلیه تمرینات و گاواژ به مدت ۵ روز در هفته و هشت هفته متوالی انجام شد.

جدول ۲. زمان‌بندی پروتکل‌های تمرینی

زمان‌بندی (پنج روز در هفته)	دو هفته قبل	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
مدت تمرینات	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه
تعداد جلسات در هرروز	یک جلسه آشنایی	دو جلسه	دو جلسه	سه جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه
سرعت تمرینات	۵ تا ۸ متر در دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۱۴ متر بر دقیقه	۱۴ متر بر دقیقه	۱۶ متر بر دقیقه	۱۶ متر بر دقیقه

بیست‌وچهار ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ابتدا وزن‌گیری از حیوانات انجام شد، سپس به‌وسیله کتامین 100MG/KG و زایلازین 8MG/KG به خواب عمیق رفتند و کاملاً بی‌هوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی کامل، سر حیوان به‌وسیله گیوتین قطع گردید، مغز کامل جدا شد. پس از منجمدشدن مغز هر نیمه به‌وسیله پنس بافت هیپوکامپ با دقت از مغز جدا شد و در میکروتیوپ قرار گرفت. در میکروتیوپ‌هایی که بافت هیپوکامپ گذاشته شده بود به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول فسفات بافر سالین ۰/۱ میلی‌مولار به‌وسیله سمپلر اضافه شد و بافت به‌وسیله دستگاه به مدت یک دقیقه هموژنایز گردید و بلافاصله پس از آن با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سرم جداشده از بافت در میکروتیوپ‌های کوچک‌تر منتقل گردید و شماره‌گذاری شد. اندازه‌گیری مقادیر BDNF به‌وسیله کیت الایزا با Cat. No: ZB-10476C-R9648 مربوط به شرکت ZellBio GmbH (Germany) انجام شد. فلوچارتی از مسیر انجام مطالعه بر روی حیوانات موردمطالعه در شکل۱ مشاهده می‌شود.



شکل ۱. فلوچارت مسیر انجام مطالعه و آزمایش‌ها بر روی حیوانات موردمطالعه

در این پژوهش، کلیه عملیات تجزیه‌وتحلیل آماری در سطح معناداری (P <۰/۰۵) و به‌وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. آمار توصیفی شامل انحراف استاندارد و میانگین در قسمت آمار استنباطی از آزمون شاپیروویلک برای بررسی نرمال‌بودن داده‌ها استفاده گردید. برای مقایسه اختلاف میانگین بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد و برای یافتن محل اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

۳. یافته‌ها

با توجه به داشتن توزیع طبیعی داده‌ها در بین گروه‌های پژوهش و همچنین همگونی تجانس واریانس‌ها از آزمون پارامتریک تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه گروه‌های پژوهش استفاده شد، نتایج تحلیل آماری نشان داد که بین گروه‌های موردنظر اختلاف معناداری وجود دارد و مقدار معنی‌داری کوچک‌تر از ۰/۰۵ است. به دلیل معنی‌دار بودن تغییرات از آزمون تعقیبی توکی برای یافتن تفاوت‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها نشان داد تمرین استقامتی تناوبی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا به‌صورت همزمان می‌تواند سطحBDNF را به‌شدت افزایش دهد سطح BDNF در گروه تمرین + مکمل در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم، کنترل آلزایمر، گروه دارونما و گروه شوک جراحی بالاتر بود. بالاتربودن سطح فاکتور در گروه کنترل سالم می‌تواند نشان‌دهنده تأثیرات مثبت دو متغیر ورزش و مکمل برای پیشگیری از بروز بیماری باشد.

سطح BDNF در گروه تمرین به‌تنهایی با سایر گروه‌ها معنادار نبود یعنی افزایش پیدا نکرده است.

سطح BDNF در گروه مکمل به‌تنهایی با سایر گروه‌ها معنادار نبود یعنی افزایش پیدا نکرده است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد استرس ناشی از گاواژ و جراحی باعث کاهش سطح BDNF می‌شود. سطح BDNF در گروه دارونما و شوک جراحی با گروه‌های تمرین، تمرین + مکمل و گروه مکمل کاهش پیداکرده است (جدول ۳).

جدول ۳. نتایج آزمون تعقیبی توکی

گروه (I)	گروه (J)	اختلاف میانگین (I-J)	خطای استاندارد	p-value
تمرین و مکمل	کنترل سالم	۳۴/۶۷۰۷۵*	۹/۸۹۲۳۱	۰/۰۱۷*
	کنترل آلزایمر	۳۹/۱۱۶۱۲*	۹/۸۹۲۳۱	۰/۰۰۵*
	دارونما	۵۴/۳۳۰۲۲*	۱۱/۲۷۸۹۷	۰/۰۰۵*
	شم	۶۱/۳۹۶۳۰*	۱۱/۲۷۸۹۷	۰/۰۰۵*
تمرین	دارونما	۳۷/۱۳۰۸۰*	۱۱/۲۷۸۹۷	۰/۰۳۰*
	شوک جراحی	۴۴/۳۰۳۸۰*	۱۱/۲۷۸۹۷	۰/۰۰۵*
مکمل	دارونما	۳۵/۱۴۲۴۲*	۱۱/۲۷۸۹۷	۰/۰۴۷*
	شوک جراحی	۴۲/۳۱۵۴۲*	۱۱/۲۷۸۹۷	۰/۰۰۹*

٤. بحث و نتیجه‌گیری

هدف این پژوهش، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی تناوبی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا بر سطح BDNF بود. یافته‌ها نشان داد تمرین استقامتی تناوبی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا به‌صورت هم‌زمان می‌تواند سطح BDNF را به‌طور قابل‌توجهی افزایش دهد. بیماری آلزایمر با اختلال در تنظیم فاکتورهای نوروتروفیک خاص و گیرنده‌های آن‌ها همراه است که نقش مهمی در انحطاط عصبی دارد (۸). فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) متعلق به خانواده نوروتروفین‌ها است.BDNF گسترده‌ترین نوروتروفین در سیستم عصبی مرکزی CNS است و تا حد زیادی در نواحی حیاتی مانند هیپوکامپ، آمیگدال، هیپوتالاموس، نئوکورتکس و به‌شدت در قشر جلوی مغز بیان می‌شود (۹). به‌طور کلی افزایش در تبدیل Pro-BDNF، IGF-1، استروژن، سطوح فعالیت اکسیداتیو و تولید NO و کاهش غلظت کورتیکوسترون به‌عنوان مکانیسم‌های بالقوه برای افزایش BDNF پس از ورزش درنظر گرفته شده است که می‌تواند با توجه به شدت ورزش و جنسیت تغییر کند (۱۰). اکبری و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیقی بیان کردند که تقویت درازمدت در اثر ورزش، در نواحی مختلف هیپوکامپ افزایش به‌وجود می‌آورد. درنتیجه ورزش با سازوکارهایی چون افزایش سطوح BDNF به‌عنوان میانجی‌گر اثرهای سیناپسی، اتصالات عصبی و پلاستیسیتی در مغز، موجب افزایش حافظه و یادگیری می‌شوند (۱۱). یعقوبی و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای تأثیر هم‌زمان ورزش و مکمل امگا ۳ بر AB42 در هیپوکامپ موش‌های نر مدل آلزایمر را بررسی کردند. در نتایج این تحقیق آمده است که تمرینات ورزشی هوازی با دریافت مکمل را می‌توان به‌عنوان یک درمان در بیماری آلزایمر درنظر گرفت (۱۲). مدهت و همکاران (۲۰۲۰) در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که استفاده از مکمل و ویتامین D به همراه ورزش، افزایش معناداری در BDNF ایجاد می‌کند و به‌طورکلی ترکیب استفاده از دو متغیر را به‌عنوان درمان مؤثر در درمان AD معرفی کردند (۱۳). حسنوند و همکاران (۱۳۹۹) در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که هشت هفته تمرین به همراه استفاده از مکمل جینکوبیلوبا باعث افزایش معنادار فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در مردان سالمند افسرده گردید.

در دیگر نتایج این مقاله آمده است که بیشترین افزایش در مقدار BDNF در گروه تمرین ترکیبی به همراه مکمل در مقایسه با گروه‌های تمرین یا مکمل به‌تنهایی بود (۱۴)که با نتایج پژوهش حاضر همخوان می‌باشد اما صادقی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۹) ناهمسو با نتایج ما در پژوهشی بیان کردند کاربرد ترکیبی جینکوبیلوبا و ورزش بر سطح NT-4 و BDNF مغز تأثیری نداشت، به‌نظر می‌رسد تمرین در کاربرد ترکیبی از کاهش NT-4 با تجویز جینکوبیلوبا جلوگیری کرده است، درنتیجه فرض بر این است که جینکوبیلوبا علاوه بر کاهش NT-4 هیپوکامپ، یادگیری و حافظه را در افراد جوان از طریق مکانیسم‌های دیگر کاهش می‌دهد (۱۰). بکیر و همکاران (۲۰۲۳) نیز در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که مصرف مکمل کافئین به همراه ورزش بر یادگیری و حافظه تأثیری ندارد (۱۵) که این نتیجه نیز با نتایج پژوهش حاضر همخوان نمی‌باشد. دیگر نتایج در تحقیق حاضر نشان داد هشت هفته تمرین استقامتی تناوبی به‌تنهایی باعث افزایش سطح BDNF نسبت به گروه کنترل آلزایمر نمی‌شود اما افشانی و همکاران (۱۴۰۱) در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که تمرین تناوبی سرعتی با تکرارهای کوتاه می‌تواند سطح BDNF را در هیپوکامپ افزایش دهد (۱۶). علاوه بر این نتایج ما نشان داد سطح BDNF هیپوکامپ به دنبال تجویز جینکوبیلوبا که یک گیاه تقویت‌کننده حافظه است تغییر نکرد. همسو با نتایج ما صادقی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیقی بیان کردند سطح BDNFهیپوکامپ به دنبال تجویز جینکوبیلوبا که یک گیاه تقویت‌کننده حافظه است تغییر نکرد (۱۰). نا همسو با این نتیجه شهیدی و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای بیان کردند درمان با جینکوبیلوبا اختلال حافظه ناشی از آمیلوئیدبتا را بهبود می‌بخشد. جینکوبیلوبا می‌تواند آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی به‌ویژه گلوتامات را در پایانه‌های عصبی هیپوکامپ افزایش دهد و عملکرد شناختی را بهبود بخشد (۱۷).

نتایج این پژوهش نشان داد که در مقایسه گروه کنترل سالم با گروه تمرین + مکمل سطح BDNF در گروه تمرین + مکمل بالاتر بود که نشان‌دهنده تأثیرات مثبت دو متغیر ورزش و مکمل در پیشگیری از بروز بیماری می‌باشد. همسو با این نتیجه گرسلین مای و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه‌ای که برای چشم‌انداز پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر انجام دادند بیان کردند که ورزش به‌تنهایی نمی‌تواند آلزایمر را به‌طور مؤثر درمان یا معکوس کند اما ترکیب ورزش با سایر مداخلات دارویی و غیردارویی می‌تواند به بهبود عملکرد کلی و به‌طور بالقوه به کندکردن پیشرفت بیماری کمک کند (۱۸).

یافته‌ها در این پژوهش نشان دادند استرس محیطی (در این پژوهش استرس گاواژ و استرس جراحی) به‌شدت باعث کاهش سطح BDNF می‌شود. انجام ورزش منظم به کاهش استرس کمک می‌کند و همچنین BDNF و سایر عوامل نوروتروفیک را در بافت مغز افزایش می‌دهد (۱۹). همسو با نتایج ما تایلور اس و همکاران (۲۰۲۲) اظهار داشتند یافته‌های موجود در خصوص BDNF نشان از اهمیت ورزش و استفاده از مکمل‌های گیاهی دارد، همچنین نشان‌دهنده تأثیرگذاری استرس بر روی این فاکتور می‌باشد. مطالعات حیوانی و انسانی نشان می‌دهد که استرس اولیه زندگی، تأثیرات ناسازگاری بر رشد مغز دارد و افراد را در معرض ابتلا به اختلالات رفتاری و عصبی روانی در مراحل بعدی زندگی قرار می‌دهد. این نتیجه تا حدی به اختلال در تنظیم فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز رخ می‌دهد که نقشی حیاتی در برنامه‌ریزی عصبی اولیه و سلامت مغز در بزرگ‌سالی دارد. یک مکانیسم درمانی بالقوه برای معکوس‌کردن تأثیرات استرس بر بیان BDNF، ورزش هوازی به دلیل خواص محافظت‌کننده عصبی و تأثیر مثبت آن بر بیان BDNF است. ورزش هوازی راه را برای راهبردهای درمانی بالقوه مهیج و جدید باز می‌کند زیرا یک مداخله رفتاری است که به‌آسانی و رایگان در دسترس عموم است (۲۰). فیلهو و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که هشت هفته تمرین متناوب روزانه با شدت بالا به مدت ۸ دقیقه می‌تواند باعث بهبود یادگیری و حافظه شود و همچنین با افزایش BDNF باعث کاهش پلاک‌های عصبی گردد (۲۱).

به‌طورکلی می‌توان گفت تمرین استقامتی به‌عنوان یک روش درمانی در دسترس و مکمل جینکوبیلوبا به‌عنوان مکمل خوراکی مقرون‌به‌صرفه در سنین جوانی تا میان‌سالی برای پیشگیری از بروز بیماری آلزایمر در سنین بالاتر توصیه می‌شود. با این‌حال برای دستیابی به دانش عمیق‌تر پیشنهاد می‌شود این آزمایش در گروه رت‌های ماده نیز بررسی شود و با توجه به تأثیر مثبت این دو متغیر پیشنهاد می‌شود بر روی سایر فاکتورهای مغزی نیز موردبررسی قرار گیرد. با توجه به تأثیرات مثبت و منفی مکمل جینکوبیلوبا در تحقیقات گذشته و معنادارنبودن این مکمل در پژوهش حاضر، پیشنهاد می‌شود دوزهای مختلف این مکمل در تحقیقات آینده بررسی گردد. با توجه به کاهش سطح BDNF در گروه‌های شوک جراحی و دارونما نتایج ما نشان داد کنترل استرس و سبک زندگی فعال در کندکردن روند پیدایش بیماری تأثیرگذار می‌باشد که پیشنهاد می‌گردید استرس در تحقیقی محور اصلی بحث قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشگاه علوم پزشکی زاهدان و کارکنان محترم مرکز حیوانات این دانشگاه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش با رعایت تمامی موازین کمیته ملی اخلاق در پژوهش انجام شده است.

این مطالعه دارای کد از کارگروه اخلاق در پژوهش به شماره IR.SSRI.REC-1402-234 می باشد که از پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی دریافت گردیده است.

سهم نویسندگان

نویسندگان در این تحقیق به صورت مساوی مشارکت داشته اند.

حمایت مالی

تمامی هزینه های این پژوهش را محققان تامین کرده اند.

تضاد منافع

پژوهشگران هیچ گونه تضاد منافعی با یکدیگر ندارند.

References

[1]. Paknia S, Sharif MAS, Heidarianpour A. The Effect of Resistance Training Along with Hawthorn Supplementation on Some Indices of Oxidative Stress in Alzheimer's Male Rats. male rats. Journal of Sport Biosciences. 2022; 14 (3): 81-94. https://doi.org/10.22059/jsb.2022.347813.1550

[2]. Azevedo CV, Hashiguchi D, Campos HC, Figueiredo EV, Otaviano SFS, Penitente AR ,et al. The effects of resistance exercise on cognitive function, amyloidogenesis, and neuroinflammation in Alzheimer's disease. Frontiers in Neuroscience. 2023;17. https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1131214

[3]. Xue B, Waseem SMA, Zhu Z, Alshahrani MA, Nazam N, Anjum F, et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Connecting Link Between Nutrition, Lifestyle, and Alzheimer's Disease. Frontiers in Neuroscience. 2022;16:925991. https://doi.org/10.3389/fnins.2022.925991

[4]. Chortane OG, Hammami R, Amara S, Chortane SG, Suzuki K, Oliveira R, et al. Effects of multicomponent exercise training program on biochemical and motor functions in patients with Alzheimer's dementia. Sustainability. 2022;14(7):4112. https://doi.org/10.3390/su14074112

[5]. Zieneldien T, Kim J, Cao C. The multifaceted role of neuroprotective plants in Alzheimer's Disease treatment. Geriatrics. 2022;7(2):24. https://doi.org/10.3390/geriatrics7020024

[6]. Li D, Ma J, Wei B, Gao S, Lang Y, Wan X. Effectiveness and safety of ginkgo biloba preparations in the treatment of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. Frontiers in Aging Neuroscience. 2023 https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1124710.

[7]. Palimariciuc M, Balmus I-M, Gireadă B ,Ciobica A, Chiriță R, Iordache A-C, et al. The Quest for Neurodegenerative Disease Treatment—Focusing on Alzheimer's Disease Personalised Diets. Current Issues in Molecular Biology. 2023;45(2):1519-35 https://doi.org/10.3390/cimb45020098.

[8]. Nasrolahi A, Javaherforooshzadeh F, Jafarzadeh-Gharehziaaddin M, Mahmoudi J, Asl KD, Shabani Z. Therapeutic potential of neurotrophic factors in Alzheimer's Disease. Molecular Biology Reports. 2022:1-13. https://doi.org/10.1007/s11033-021-06968-9

[9]. Gliwińska A, Czubilińska-Łada J, Więckiewicz G, Świętochowska E, Badeński A, Dworak M, et al. The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Diagnosis and Treatment of Epilepsy, Depression, Schizophrenia, Anorexia Nervosa and Alzheimer's Disease as Highly Drug-Resistant Diseases: A Narrative Review. Brain Sciences. 2023;13(2):163. https://doi.org/10.3390/brainsci13020163

[10]. Sadeghinejad M, Soltani Z, Afzalpour ME, Khaksari M, Pourranjbar M. What is the combined effect of intense intermittent exercise and Ginkgo biloba plant on the brain neurotrophic factors levels, and learning and memory in young rats? Pharmacological Reports. 2019;71(3):503-8 https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.02.006

[11]. Eslimi Esfahani, D., Oryan, S., Hatami, M. Effect of Marshmallow extract on improving passive avoidance memory disorders in male Wistar rats. Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 2018; 31(1): 14-24. (Persian). DOI: 20.1001.1.23832614.1397.31.1.2.8

[12]. Yaghoubi A. The Effects of Aerobic Training and Omega-3 Intake on Aβ42, Neprilysin, and γ-Secretase in the Hippocampus of Male Rats Alzheimer's model. Tehran, Iran: Islamic Azad University. 2021. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-427829/v1

[13]. Medhat E, Rashed L, Abdelgwad M, Aboulhoda BE, Khalifa MM, El-Din SS. Exercise enhances the effectiveness of vitamin D therapy in rats with Alzheimer's disease: emphasis on oxidative stress and inflammation. Metabolic brain disease. 2020;35:111-20. https://doi.org/10.1007/s11011-019-00504-2

[14]. Hasanvand B, Farhadi A. Effect of combined exercise and Ginkgo biloba supplementation for 8 weeks on brain-derived neurotrophic factor level in depressed older men. Iranian Journal of Ageing. 2021;16(2):234-47. (Persian) 10.32598/sija.16.2.2805.1

[15]. Bakir F, ÇEVİK ÖS, KELOĞLAN SM, Şahin L. Effect of caffeine supplementation during treadmill exercise on hippocampal genes expression levels in adolescent rats. The European Research Journal. 2023;9(2):348-58 https://doi.org/10.18621/eurj.1241667.

[16]. Afshani M, Nasiri E, Khalili M. The effect of sprint interval training with short repetitions on hippocampal Brain-derived neurotrophic factor levels, learning and spatial memory in adult Wistar rats. KAUMS Journal (FEYZ). 2023;27(1):761-9 .(Persian) DOI:10.48307/FMSJ.2023.27.1.12

[17]. Shahidi S, Ghahremanitamadon F, AslS S, Komaki A, Afshar S, Hashemi-Firouzi N. Electrophysiological, behavioral and molecular study of vitamin E and Ginkgo biloba in a rat model of Alzheimer's disease. Res J Pharmacogn. 2021;8(1):39-51 DOI: 10.22127/RJP.2020.250269.1630

[18]. Mai G, Fan X. The Preventive and Therapeutic Prospects of Physical Activity on Alzheimer's Disease and the Potential Underlying Mechanisms. 2023;5(2):1055

[19]. Shamsipour S, Sharifi G, Taghian F. Impact of interval

training with probiotic (L. plantarum/Bifidobacterium bifidum) on passive avoidance test, ChAT and BDNF in the hippocampus of rats with Alzheimer's disease. Neuroscience letters. 2021;756:135949. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135949

[20]. Campbell TS, Donoghue KM, Ghosh U, Nelson CM, Roth TL. Early life stress affects Bdnf regulation: a role for exercise interventions. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(19):11729. https://doi.org/10.3390/ijms231911729

[21]. Vasconcelos-Filho FS, da Rocha-E-Silva RC, Martins JE, Godinho WD, da Costa VV, Ribeiro JK, et al. Neuroprotector effect of daily 8-minutes of high-intensity interval training in rat Aβ1-42 Alzheimer disease model. Current Alzheimer Research. 2020;17(14):1320-33. https://doi.org/10.2174/1567205018666210218161856