

اثر هشت هفته فعالیت بدنی اجباری همراه با مصرف ژل رویال بر سطح افسردگی و اضطراب و ظرفیت آنتی اکسیدانی در موش های آلزایمری شده با تری متیل تین

مریم عظیم پور^۱، محمد فتحی^۲، امید دزفولیان^۳

چکیده

سابقه و هدف: هدف از این پژوهش، بررسی نقش حفاظتی ژل رویال به عنوان آنتی اکسیدان بر اختلالات رفتاری افسردگی و اضطراب ناشی از سم تری متیل تین و سطح آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در موش های آلزایمری شده با تری متیل تین پس از هشت هفته تمرین اجباری شنا بود. **مواد و روشها:** تحقیق حاضر به صورت تجربی با ۴۸ سر موش صحرایی نر انجام شد؛ که تعداد ۴۰ سر از موش های صحرایی به وسیله تری متیل تین القای آلزایمر شدند. در ادامه موش های صحرایی به طور تصادفی به ۶ گروه: کنترل سالم، کنترل آلزایمر، آلزایمر-تمرین اجباری، آلزایمر-ژل رویال، آلزایمر-شم و آلزایمر-تمرین اجباری-ژل رویال تقسیم شدند. آزمون ارزیابی افسردگی با شنای اجباری و آزمون ارزیابی اضطراب در ماز بعلاوه (صلیبی) مرتفع و بررسی میزان بیان ژن های SOD و GPX با تکنیک ریل تام (Real Time PCR) انجام شد برای کمی سازی مقادیر بیان ژن های هدف از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده گردید. با توجه به غیر طبیعی بودن توزیع مقادیر بیان ژن در برخی از گروه ها، از روش آماری غیر پارامتریک کروسکال والیس توسط نرم افزار SPSS version 20 استفاده شد. **یافته ها:** تفاوت معنی دار در گروه ها به تفکیک متغیرهای وابسته با ($p < 0.05$) نشان داد که تمرین شنا توأم با مصرف ژل رویال باعث کاهش افسردگی و اضطراب شد و تمرین شنا تأثیر معنی داری بر SOD, GPX اعمال نکرد؛ اما مصرف ژل رویال به تنهایی، شاخص SOD و GPX را افزایش داد. **نتیجه گیری:** تجویز تری متیل تین سبب بروز رفتارهای شبه افسردگی و اضطرابی در موش های صحرایی گردید. به نظر می رسد که این حجم از پروتکل اعمال شده تمرین اجباری شنا برای رت های آلزایمری تأثیر مثبتی بر شاخص های آنتی اکسیدانی نداشته است؛ اما تأثیر مثبت مصرف ژل در افزایش SOD, GPX محرز گردید و مصرف ژل رویال با خاصیت آنتی اکسیدانی و تلفیق ورزش اجباری با مصرف مکمل ژل رویال قابلیت تعدیل خلق را در مدل حاضر دارد و می تواند به عنوان یک روش سودمند مورد انسانی قرار گیرد.

واژه های کلیدی: تری متیل تین، فعالیت بدنی اجباری، ژل رویال، افسردگی، اضطراب، ظرفیت آنتی اکسیدانی، آلزایمر

۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۲ دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران، نویسنده مسئول: fathi.m@lu.ac.ir

۳ دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین عامل زوال عقل در دوران میان‌سالی و پیری محسوب می‌شود که به‌طور جدی بر روی شناخت، خلق‌و‌خو و فعالیت‌های روزانه تأثیرگذار است (۱). تحت تأثیر بیماری، قدرت کنترل احساسات و خلق‌و‌خوی فرد دچار اختلال شده و به‌تدریج ناپایداری‌های رفتاری و نشانه‌های اضطراب و افسردگی در بیمار بروز می‌یابد (۲). افسردگی نوعی اختلال خلقی است که با احساس مداوم غم، ناامیدی، کاهش سطح اعتماد به نفس و تمرکز، کندی روانی حرکتی و از دست دادن علائق همراه است که منجر به افت عملکرد بیمار در همه زمینه‌های شغلی، روابط اجتماعی و خانوادگی می‌گردد (۳). افسردگی اغلب با اختلال اضطرابی همراه است. در واقع یکی از دلایل ابتلا به افسردگی، استرس مداوم و ناملايمات زندگی است (۴). اضطراب (استرس) هسته اصلی و مرکزی اختلالات نروتيك و يك احساس منتشر بسیار ناخوشایند و مبهم همراه با دلواپسی است که به فرم یک علامت هشدار دهنده، خبر از خطری قریب‌الوقوع می‌دهد و موجود زنده را برای مقابله آماده می‌سازد. این حالت ذهنی با علائم جسمی و بدنی مختلف مثل تپش قلب، اشکال در تنفس، اختلال در تمرکز حواس و حافظه، بی‌خوابی، سرگیجه، لرزش و تعریق و به‌طور کلی با علائم تحریکی سمپاتیکی همراه است (۵، ۶). در بروز اختلالات اضطرابی و افسردگی عوامل عصبی و هورمونی متعددی نظیر سیستم‌های سروتونرژیک، نورآدرنرژیک، دوپامینرژیک، کوله سیستوکینین، تغییرات سطح سرمی کلسترول، تری‌گلیسرید و مراکز عصبی مختلفی مانند آمیگدال و سیستم لیمبیک، درگیر می‌شوند. همچنین افزایش ترکیبات پیش برنده آپوپتوز منجر به کاهش حجم هیپوکامپ و فرایند عصب‌زایی می‌شود که باعث افزایش اختلالات رفتاری می‌شود (۶). اختلالات اضطرابی و افسردگی خود عمدتاً با نقص دفاع آنتی‌اکسیدانی و به دنبال افزایش فاکتورهای پیش التهابی و عوامل اکسیداتیو نیز به وجود می‌آیند (۷) که می‌تواند به بیماری آلزایمر منجر شود (۴). مطالعات نشان داده‌اند که پاتوژنز مشترکی بین اختلالات سایکولوژیک و نورودژنراتیو دیده می‌شود و در واقع بین اختلالاتی نظیر افسردگی و اضطراب با مرگ نرونی در هیپوکامپ و عوامل التهابی رابطه مستقیمی وجود دارد (۶).

به خاطر نقش مؤثر هیپوکامپ در پردازش احساسات، حافظه و زوال عقل، بخصوص در رابطه با بیماری آلزایمر، این ناحیه از مغز در دوره‌ی افسردگی و اضطراب دچار اختلال می‌شود (۶). آسیب‌های مولکولی متعددی در بیماری آلزایمر شناسایی شده است، اما به‌طور کلی آسیب‌های اکسیداتیو و التهابی منجر به اختلالات عملکردی در میتوکندری‌ها و تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند که در نهایت به آسیب نورون‌ها، آتروفی مغزی، آسیب به غشای لیپیدی، اختلال در متابولیسم اسیدهای چرب و کلسترول، اختلال عملکرد سیناپسی و مهار مولکول‌های پیام‌رسان در حافظه می‌انجامد (۸، ۱). بافت‌های مغز حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند که در مقابل حملات رادیکال‌های آزاد آسیب‌پذیری خاصی دارند (۹). آسیب اکسیداتیو در سلول‌های عصبی اغلب باعث افزایش فعالیت سلول‌های گلیال و فیبرهای عصبی و منجر به آزادی عوامل پیش التهابی، سایتوکاین‌ها و گلوتامات می‌شود (۶، ۱۰). بعلاوه فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) که آنزیم‌های درگیر در دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز هستند، در طی بیماری‌های تخریب عصبی کاهش می‌یابد. نشان داده شده است که اغلب مواد حاوی آنتی‌اکسیدان با خاصیت ضدالتهابی با جلوگیری و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش قابل توجه در سلول‌های آپوپتوز ناشی از آسیب‌های عصبی - نخاعی نقش درمانی خود را اعمال می‌کنند (۹).

در حالی که مطالعات در یافتن درمان قطعی برای بیماری آلزایمر با شکست مواجه شده‌اند، سازوکارهای پیشگیری از ابتلا به بیماری یا حداقل کند کردن سیر پیشرفت بیماری توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است (۱). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی یک نگرش غیر دارویی محتمل برای کاهش خطر بیماری آلزایمر است (۱، ۱۰، ۱۱). فعالیت جسمانی منظم یک عامل مهم در تأمین و ارتقای سلامت هست و همچنین ممکن است یک استراتژی مؤثر در به تأخیر انداختن بروز اختلالات رفتاری باشد (۱، ۱۰). مطالعه طولی انجام شده توسط لورین و همکاران نشان می‌دهد انجام فعالیت‌های ورزشی با کاهش خطر نقص در عملکرد شناختی و ایجاد اختلالات رفتاری در مبتلایان به آلزایمر همراه بوده است (۱۲). در مدل‌های حیوانی نشان داده شده که فعالیت بدنی در کنار رژیم غذایی عملکرد شناختی را افزایش می‌دهد (۱، ۴، ۱۰، ۱۳). البته بعضی مطالعات نیز نشان دهنده این تأثیرات مثبت ورزش و فعالیت بدنی در این زمینه نبودند (۱۴-۱۶). تحقیقات نشان داده‌اند که تحت شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک گوناگون مانند ورزش شدید، عدم تحرک و بسیاری از بیماری‌ها، مواد ضد اکسایشی درون‌زاد قادر به کنترل آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد نمی‌باشند و موجب به هم خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به نفع رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۱۷). روند تخریب اکسیداتیو ماکرومولکول‌های بیولوژیک مانند اسیدنوکلئیک، پروتئین‌ها، چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد شده و بنابراین باعث فعال شدن مسیرهای سیگنالی و پیشرفت وضعیت‌های پاتولوژیک از قبیل بیماری‌های تخریب عصبی و اثرات سایتوتوکسیک می‌شود (۱، ۸). این عوارض در طولانی مدت اتفاق می‌افتند و از طریق سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بدن از جمله سوپراکساید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) مشخص می‌گردد (۱۰، ۱۸).

هیپوکامپ به دلیل توانایی تغییرپذیری عصبی بالا، آسیب‌پذیرترین ناحیه مغزی نسبت به استرس اکسایشی می‌باشد. در مقابل تأیید اثرات سودمند فعالیت جسمانی بر سلامتی، فعالیت شدید ورزشی، به علت افزایش متابولیسم و اکسیژن مصرفی بالا، منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و مجموع آنتی‌اکسیدان‌های کل (TAC) بدن را کاهش می‌دهد (۱۷). مدت و شدت فعالیت نیز بر تولیدات گونه‌های رادیکالی مؤثر است. در چنین مواقعی نقش مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در مواد غذایی اهمیت می‌یابد در این بین یکی از مواد غذایی سرشار از آنتی‌اکسیدان‌ها، با خاصیت ضدالتهابی، ژل رویال است که نقش مفیدی بر عملکرد سیستم عصبی و آنتی‌آپوپتوزی و ضدالتهابی در مغز دارد (۹)؛ ژل رویال دارای ارزش غذایی فراوان بوده و توسط زنبورهای عسل کارگر جوان برای تغذیه لاروهای کندو به‌خصوص لاروهای انتخابی برای شکل‌گیری زنبور ملکه ترشح می‌شود (۱۳)؛ با توجه به این که یکی از عوارض بیماری آلزایمر مرگ نرونی هست، این ژل به دلیل القای نروژنز و تمایز نرونی ممکن است در پیشگیری و یا درمان این بیماری و سایر اختلالات نروژنراتیو نقش داشته باشد (۹). امروزه، قهرمانان ورزشی و حتی مردم عادی جهت جلوگیری از اثرات منفی فعالیت بدنی و پیشگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت به مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی روی آورده‌اند (۱۹) اما در سال‌های اخیر فرضیه‌های متفاوتی مطرح گردیده است و به‌طور شگفت‌آوری برخی از محققین مشاهده کرده‌اند که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها قبل، حین و یا پس از فعالیت، نه تنها باعث کاهش استرس اکسیداتیو نمی‌شود بلکه گاهی باعث افزایش آن گردیده است (۱۹)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که فعالیت بدنی یک شمشیر دو لبه است: اگر فعالیت بدنی با شدت متوسط انجام گیرد می‌تواند باعث بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و در این حالت فعالیت خود یک آنتی‌اکسیدان به شمار می‌رود، ولی اگر خیلی شدید

باشد خود سبب استرس اکسیداتیو می‌شود، در این حالت شاید مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها مفید واقع شود (۲۰). البته در حالت دوم نیز بحث و جدل وجود دارد و گاهی مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها نه تنها باعث کاهش استرس اکسیداتیو نشده‌اند بلکه سبب افزایش استرس اکسیداتیو نیز شده‌اند (۱۹، ۲۱)؛ بنابراین، هنوز زود است که در مورد دوز مصرفی، مدت مصرف و حتی نوع آنتی‌اکسیدان مصرفی با قطعیت اظهار نظر نمود و در این زمینه نیاز به تحقیقات وسیع‌تری وجود دارد. ضمناً در مورد مرز دقیق فعالیت متوسط و شدید در مورد افراد مختلف با آمادگی جسمانی، سن و جنس متفاوت، نیاز به تحقیقات بیشتری است (۲۰)؛ تحقیقات نشان می‌دهد چنانکه درمان‌های مؤثر برای درمان و پیشگیری از آلزایمر شناخته نشود، رقم مبتلایان به این بیماری تا سال ۲۰۴۰ به مرز یکصد میلیون نفر خواهد رسید (۲۲) و امروزه استفاده از داروهای آرام‌بخش و ضد اضطراب و افسردگی یکی از اقدامات پر مصرف داروها به حساب می‌آیند که اکثراً از نظر روانی ایجاد اعتیاد می‌کنند و بر سیستم اعصاب مرکزی تأثیر داشته و عموماً دارای اثرات جانبی ناخواسته و گاهی خطرناک می‌باشند، بنابراین جهت‌گیری به سمت معرفی روش‌های طبیعی مؤثر و در عین حال با عوارض کمتر منطقی است (۱، ۱۰) با توجه به ابهامات موجود در خصوص مصرف مکمل‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در کنار تأثیرات متفاوت فعالیت‌های ورزشی بر اختلالات رفتاری و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، این تحقیق قصد دارد که اثر هشت هفته فعالیت بدنی اجباری شنا همراه با مصرف ژل رویال بر سطح افسردگی و اضطراب و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌های آلزایمری شده با تری‌متیل‌تین را بررسی نماید.

روش پژوهش

جامعه تحقیق حاضر را ۴۸ سر موش صحرایی نژاد اسپراگ داوولی Sprag dowley نر تشکیل دادند که در پاییز سال ۱۳۹۷ از بین موش‌های نر هشت‌هفته‌ای مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت انتخاب شده و به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد مرودشت منتقل گردیدند. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد کنترل و ثبت شد. چرخه روشنایی-تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یک‌بار به‌طور دقیق توسط تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. بر اساس راهنمایی شورای پژوهش ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی تلاش بر این شد که هرگونه استرس غیرضروری به حیوانات حذف گردد. موش‌ها به مدت یک هفته جهت سازگاری در شرایط استاندارد نگهداری شدند. در ادامه در روز هشتم تعداد ۴۰ سر از موش‌های صحرایی به‌وسیله سم ارگانوتین تری‌متیل‌تین کلراید (TMT) Trimethyltin chloride القای آلزایمر شدند. این سم دارای پتانسیل مسمومیت عصبی است که باعث ایجاد آسیب‌های جدی به‌خصوص در ناحیه هیپوکامپ مغز و بروز حالت شبه آلزایمر و عوارضی همچون افزایش اضطراب، بیش‌فعالی و پرخاشگری می‌شود (۲۳). به‌طور کلی، این خصیصه‌های تری‌متیل‌تین، شانس استفاده از آن را به‌عنوان یک هدف مهم برای مطالعات عملکرد مغز و شناخت بهتر مکانیسم‌های بیماری آلزایمر و متعاقب آن راه‌های درمان به ما می‌دهد (۲۴). مقدار ۸ میلی‌گرم از این ماده را درون ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال (نرمال سالین) حل نموده و برای تزریق به موش‌های صحرایی آماده و مقدار ۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن موش‌های صحرایی سم TMT به موش‌های صحرایی به‌صورت درون صفاقی تزریق شد (۲۵). پس از تزریق TMT، جهت تشخیص آلزایمر با مشاهده‌ی یکسری علائم رفتاری در موش‌های صحرایی بررسی گردید. این علائم بالینی عبارت‌اند از: رعشه‌های عضلانی، افزایش دمای بدن، خونریزی از چشم و بینی، حالت تهوع، تشنج و پیچ‌وتاب‌های دمی (۲۷-۲۵). در ادامه موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به ۶ گروه (۱) کنترل سالم (بدون

دستکاری تجربی - عدم انجام تمرین، بدون دریافت ژل رویال و سم تری‌متیل‌تین-، (۲) کنترل آلزایمر (دریافت سم تری‌متیل‌تین، عدم انجام تمرین و بدون دریافت ژل رویال)، (۳) آلزایمر-تمرین اجباری (دریافت سم تری‌متیل‌تین و انجام ۸ هفته تمرین اجباری شنا)، (۴) آلزایمر-ژل رویال (دریافت سم تری‌متیل‌تین و مصرف ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژل رویال)، (۵) آلزایمر-شم (دریافت سم تری‌متیل‌تین و سرم فیزیولوژی به‌عنوان حلال ژل رویال)، (۶) آلزایمر-تمرین اجباری-ژل رویال (دریافت سم تری‌متیل‌تین و مصرف ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژل رویال و انجام ۸ هفته تمرین اجباری شنا)، تقسیم شدند.

تهیه و مصرف ژل رویال: جهت تهیه عصاره ژل، ۱۰ گرم ژل رویال را در ۱۰۰۰ سی‌سی آب مقطر دیونیزه ریخته و مخلوط را به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کرده سپس محلول از صافی عبور داده شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و در هنگام تزریق با دوز ۱۰۰ mg/kg روزانه به مدت هشت هفته به‌صورت درون صفاقی تزریق شد (۲۸).

پروتکل تمرینی: موش‌های صحرایی در گروه‌های تمرین اجباری را به‌صورت پیش‌رونده، به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته در قالب تمرینات شنا در وان شنای مخصوص جوندگان انجام شد. جهت انجام تمرینات شنا در هفته اول موش‌های صحرایی به مدت ۵ دقیقه به تمرین پرداخته و در آخر این مدت زمان به ۶۰ دقیقه رسید (۲۹). در جدول ۱ پروتکل تمرینی در روزهای هفته نشان داده شده است. این نکته قابل ذکر است که مدت زمان تمرین در هر هفته نسبت به هفته قبل ۱۰ دقیقه اضافه شد. گروه‌های مصرف ژل رویال به مدت هشت هفته روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژل رویال را به‌صورت درون صفاقی دریافت نمودند (۲۸).

جدول ۱: پروتکل تمرینی در روزهای هفته

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
تعداد جلسه تمرین در هفته	۳ روز	۳ روز	۳ روز	۳ روز	۳ روز	۳ روز	۳ روز	۳ روز
مدت زمان تمرین در هر جلسه	۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۲۵ دقیقه	۳۵ دقیقه	۴۵ دقیقه	۵۵ دقیقه	۶۰ دقیقه	۶۰ دقیقه

آزمون ارزیابی افسردگی با آزمون شنای اجباری:

رفتارهای شبه افسردگی مبتنی بر ناامیدی در موش‌ها در آزمون شنای اجباری ارزیابی شد (۴). بر اساس نظریه درماندگی مارتین سلینگمن، در صورتی که حیوان در معرض استرس مداوم قرار گیرد و راه‌گزینی از آن نداشته باشد، رفته‌رفته امید به گریز از این شرایط را از دست داده و تحرک و فعالیت خود را متوقف می‌نماید و بی‌حرکت می‌شود (۳۰). برای اندازه‌گیری زمان بی‌حرکتی مجموعه زمان‌هایی که جانور بی‌حرکت می‌ماند را طی یک محدوده زمانی مشخص که شامل ۶ دقیقه که یک دقیقه برای تطابق حیوان با محیط و ۵ دقیقه مابقی زمان ثبت گردید. افزایش زمان بی‌حرکتی را معادل افسردگی و کاهش آن را به مثابه اثربخشی درمان ضدافسردگی در نظر می‌گیرند.

روش آزمایش به این صورت بود که ظرف شیشه‌ای به طول ۲۵ سانتی‌متر و عرض ۱۲ سانتی‌متر با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر از آب ۲۵ درجه پر شده و حیوان از ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری و به‌ملایمت درون آب قرار داده شد و به‌طور قراردادی، قطع حرکات دست و پای موش به‌عنوان بی‌حرکت شدن در نظر گرفته شد (۴).

آزمون ارزیابی اضطراب در ماز بعلاوه (صلیبی) مرتفع Elevated Plus Maze یا دستگاه (EMP):
دستگاه EMP برای ارزیابی آزمون رفتاری اضطراب استفاده شد که مدلی استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است. این دستگاه شامل دو بازوی باز (هر یک ۵۰ الی ۱۰۰ سانتی‌متر و دو بازوی بسته ۵۰ سانتی‌متری) و یک کفه مرکزی (۴۰ × ۱۰) می‌باشد. بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته هم روبروی یکدیگر قرار دارند. این دستگاه حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد. هر موش به مدت ۵ دقیقه در ماز قسمت کفه و رو به بازوی باز قرار داده شد و شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب از طریق مشاهده آن‌ها بررسی و فعالیت‌های جستجوگرانه ثبت گردید که شامل: ۱- زمانی که هر حیوان در بازوهای بسته و یا باز سپری کرده ۲- تعداد ورود به بازوهای باز و بسته. افزایش ورود به بازوهای باز و افزایش مدت سپری شده در بازوی باز شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی می‌شود (۳۱) منظور از ورود به بازوی باز یا بسته، قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی موردنظر است. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز (Open Arm Entries (OAE) و درصد زمان ماندن در بازوی باز (Open Arm Time (OAT) به طریق زیر محاسبه شد:

$$OAE = \frac{\text{تعداد ورود به بازوی باز}}{\text{تعداد ورود به بازوی باز} + \text{تعداد ورود به بازوی بسته}} \times 100$$

$$OAT = \frac{\text{مدت زمان ماندن در بازوی باز}}{\text{مدت زمان توقف در بازوی باز} + \text{مدت زمان توقف در بازوی بسته}} \times 100$$

بررسی میزان بیان ژن‌های SOD و GPX:

پس از پایان یافتن آزمون‌های رفتاری حیوانات با کلروفرم کشته شده و پس از خون‌گیری از قلب، بافت هیپوکامپ از مغز جدا شده و بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب متناسب با بافت، رت و ساعت تشریح و گروه مورد آزمایش، به سرعت و با ازت مایع منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در ابتدا بافت‌ها با روش‌های مکانیکی خرد و هموژنیز شدند. برای استخراج RNA بر اساس دستورالعمل کیت استخراج RNA سفارش شرکت یکتا تجهیز ایران با نام FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit (sample: up to 100 mg of animal tissue; cultured cells of animal, fungus or bacteria) انجام گرفت. ۳۰ میلی‌گرم بافت مورد نظر را در نیتروژن مایع خشک و پس از کویدن در آونگ استریل، درون تیوب ۱/۵ قرار دادیم. اولین مرحله برای استخراج RNA از سلول‌های حیوانی از بین بردن دیواره‌ی سلول‌ها با کمک یک بافر لیز کننده (در اینجا RB Buffer) می‌باشد. ۳۵۰ μl از RB Buffer به نمونه (سوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد؛ در مرحله بعد درون تیوب جمع شونده قرار گرفت و با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ محلول رویی به یک تیوب میکروسانتریفیوژ جدید انتقال یافت. سپس هم‌حجم آن یعنی ۳۵۰ میکرو لیتر اتانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید. سپس

نمونه‌ای که اتانول به آن اضافه شده بود به RB Mini Column انتقال یافت و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانترفیوژ گردید و محلول درون تیوپ جمع شونده دور ریخته شد. در مرحله بعد ۵۰۰ میکرولیتر از بافر شستشوی ۱ به RB Mini Column اضافه گردید و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانترفیوژ گردید و محلول درون تیوپ جمع شونده دور ریخته شد. در ادامه RB Mini Column با ۷۵۰ میکرولیتر از بافر شستشوی ۲ با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانترفیوژ شد و محلول درون تیوپ جمع شونده دور ریخته شد. این مرحله دوبار تکرار شد؛ سپس به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ انجام شد؛ سپس RB Mini Column درون تیوپ شستشو قرار داده شد و ۵۰ میکرولیتر از RNase-free ddH₂O به RB Mini Column اضافه شد و ۱ دقیقه به آن زمان داده شد و سپس به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ گردید. محلول نهایی، RNAهای استخراج شده بود که در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سنتز cDNA طبق دستورالعمل موجود در کیت فرمنتاز (K1621) ساخت آمریکا انجام گردید. واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid™- MuLV Reverse transcriptas صورت گرفت.

هنگام تهیه cDNA از نمونه تخلیص شده پس از قرائت جذب، حجمی شامل ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته سپس ۰/۵ میکرولیتر Random Hexamers (الیگودنوکسی ریبونوکلوئید که به‌عنوان یک پرایمر برای شروع سنتز cDNA استفاده می‌شود)، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر oligodT و سپس تا حجم ۱۲ میکرولیتر آب موجود در کیت اضافه گردید و به دمای ۶۵ درجه به مدت ۵ دقیقه منتقل گردید. و سپس به مدت ۲ دقیقه بر روی یخ قرار گرفت. در مرحله بعد ۴ μl از 5X Reaction Buffer و ۲ μl از dNTP Mix و ۱ μl از RiboLock RNase Inhibitor و ۱ μl از RevertAid RT به ترکیب قبل که برای ۵ دقیقه در دمای ۶۵ قرار گرفته بود اضافه کردیم. سپس ترکیب ابتدا به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ قرار گرفت. بعد از آن به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ قرار گرفت. در آخر به‌منظور از کار افتادن آنزیم RT، تیوب‌های واکنش را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم. cDNA آماده شده جهت انجام RT-PCR مورد استفاده قرار گرفت یا جهت نگهداری به فریزر °C-20 منتقل گردید. پس از بهینه سازی واکنش، cDNA مربوط به گروه‌های مورد آزمایش تحت واکنش RT-PCR قرار گرفتند. اصول انجام RT-PCR مشابه PCR معمولی بود با این تفاوت که به جای MasterMix معمولی از MasterMix حاوی سایبرگرین (تاکارا) استفاده گردید. دمای اتصال برای همه پرایمرها °C-۶۰ می‌باشد. توالی پرایمرهای مورد استفاده نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. پس از اتمام فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشر فلورسانس با محاسبه $\Delta\Delta Ct$ میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به B2m و حالت کنترل که فاقد محیط‌های تمایزی است را سنجیدیم؛ و سپس با استفاده از فرمول $\Delta\Delta Ct-2$ میزان بیان آن محاسبه گردید.

جدول ۲: لیست پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
B2m	Forward: 5'- CGTGCTTGCCATTCAGAAA -3'	244
	Reverse: 5'-ATATACATCGGTCTCGGTGG -3'	
SOD	Forward: 5'- CAAGGAACCACAGGCCTTAT -3'	133
	Reverse: 5'- GGCTAACATTCTCCCAGTTGA-3'	
Gpx1	Forward: 5'- CATTGAGAATGTCGCGTCCC-3'	141
	Reverse: 5'- TTGCCATTCTCCTGATGTCCG-3'	

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

با توجه به غیر طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از روش آماری کروسکال والیس استفاده شد. کلیه محاسبات آماری از طریق نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ انجام گرفت.

یافته‌ها

جدول ۳ یافته‌های توصیفی متغیرهای وابسته مربوط به شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی SOD, GPX و جدول ۴ شاخص بی‌حرکتی مربوط به آزمون افسردگی شنای اجباری و شاخص‌های OAE و OAT که به ترتیب معرف درصد ورود به بازوی باز و درصد ماندن در بازوی باز، مربوط به آزمون اضطراب ماز بعلاوه مرتفع است را به تفکیک گروه‌ها نشان می‌دهد. نتایج آزمون کروسکال والیس با سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) نشان داد که هشت هفته فعالیت بدنی اجباری همراه با مصرف ژل رویال بر متغیرهای وابسته SOD با $P = 0/0001$ ، GPX با $P = 0/0001$ ، OAE با $P = 0/0001$ ، OAT با $P = 0/0001$ ، بی‌حرکتی با $P = 0/0001$ ، در موش‌های آلزایمری شده با تری‌متیل‌تین تأثیر معنی‌داری دارد. بنابراین نتایج تحلیل کروسکال والیس نشان می‌دهد که با سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) در هر کدام از پنج متغیرهای OAT, SOD, GPX, OAE و بی‌حرکتی حداقل در یکی از گروه‌ها تفاوت معنی‌دار وجود دارد.

جدول ۳: مقادیر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های پژوهش

گروه	متغیر	میانگین \pm انحراف معیار	میانگین \pm خطای معیار
آلزایمر-تمرین اجباری	SOD (Fold change)	۰/۳۲۷۰ \pm ۰/۲	۰/۳۲۷ \pm ۰/۱
		۰/۲۴۹۳ \pm ۰/۲	۰/۲۴۹۳ \pm ۰/۱
		۱/۳۶۵۰ \pm ۰/۴۴	۱/۳۶۵۰ \pm ۰/۲
		۰/۲۴۰۰ \pm ۰/۱	۰/۲۴ \pm ۰/۰۲
		۰/۹۸۰۰ \pm ۰/۳	۰/۹۸ \pm ۰/۱۱
		۰/۲۲۱۴ \pm ۰/۱	۰/۲۲۱۴ \pm ۰/۰۳
آلزایمر-تمرین اجباری	GPX (Fold change)	۰/۲۲۲۹ \pm ۰/۱	۰/۲۲۲۹ \pm ۰/۰۳
		۰/۲۸۸۴ \pm ۰/۲	۰/۲۸۸۴ \pm ۰/۱
		۰/۷۸۷۵ \pm ۰/۲۳	۰/۷۸۷۵ \pm ۰/۱
		۰/۱۴۳۰ \pm ۰/۰۲	۰/۱۴۳۰ \pm ۰/۰۰۸
		۰/۴۹۶۷ \pm ۰/۳	۰/۴۹۶۷ \pm ۰/۱۰
		۰/۱۱۴۳ \pm ۰/۰۲	۰/۱۱۴۳ \pm ۰/۰۱

جدول ۴: مقادیر شاخص‌های بی‌حرکتی و شاخص‌های ورود به بازوی باز و ماندن در بازوی باز

Mean±SEM	Mean±SD	متغیر	تعداد	گروه
۸۴/۴۲۸۶±۵/۱	۸۴/۴۲۸۶±۱۳/۴	مدت زمان بی‌حرکتی (ثانیه)	۷	آلزایمر-تمرین اجباری
۴۲/۵۷۱۴±۵/۸	۴۲/۵۷۱۴±۱۵/۲۱		۷	آلزایمر-تمرین اجباری-ژل
۶۹/۲۵۰۰±۸/۵	۶۹/۲۵۰۰±۲۳/۹۰		۸	آلزایمر-ژل
۹۲/۶۲۵۰±۵/۴۴	۹۲/۶۲۵۰±۱۵/۴		۸	آلزایمر-شم
۵۳/۶۶۶۷±۵/۹	۵۳/۶۶۶۷±۱۴/۳۴		۸	کنترل-سالم
۱۰۷/۷۱۴۳±۱۳/۶	۱۰۷/۷۱۴۳±۳۵/۹۰		۷	کنترل-آلزایمر
۵۱/۷۱۴۳±۵/۵۴	۵۱/۷۱۴۳±۱۴/۷		ورود به بازوی باز (ثانیه)	۷
۶۵/۵۷۱۴±۶/۴	۶۵/۵۷۱۴±۱۶/۹	۷		آلزایمر-تمرین اجباری-ژل
۵۸/۴۳۷۵±۳/۶	۵۸/۴۳۷۵±۱۰/۱	۸		آلزایمر-ژل
۴۲/۸۷۷۵±۲/۹۱	۴۲/۸۷۷۵±۸/۲۴	۸		آلزایمر-شم
۵۹/۷۲۳۳±۴/۵۲	۵۹/۷۲۳۳±۱۱/۱	۸		کنترل-سالم
۲۳/۸۵۷۱±۲/۲۷	۲۳/۸۵۷۱±۵/۱	۷		کنترل-آلزایمر
۳۸/۲۸۵۷±۸/۳۴	۳۸/۲۸۵۷±۲۲/۱	ماندن در بازوی باز (ثانیه)		۷
۷۲/۷۱۴۳±۶/۴۲	۷۲/۷۱۴۳±۱۷/۰۰		۷	آلزایمر-تمرین اجباری-ژل
۶۳/۶۲۵۰±۷/۵۹	۶۳/۶۲۵۰±۲۱/۵		۸	آلزایمر-ژل
۲۳/۸۷۵۰±۴/۲۱	۲۳/۸۷۵۰±۱۱/۹۲		۸	آلزایمر-شم
۷۱/۳۳۳۳±۷/۷۹	۷۱/۳۳۳۳±۱۹/۱		۸	کنترل-سالم
۱۳/۱۴۲۹±۱	۱۳/۱۴۲۹±۲/۶۰		۷	کنترل-آلزایمر

در کل با عطف به نتایج آزمون کروسکال والیس و تفاضل میانگین‌های گروه‌های معنی‌دار شده، یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) متغیر وابسته بی‌حرکتی در گروه آلزایمر-تمرین اجباری - ژل کمتر از گروه آلزایمر-تمرین اجباری شد که نشان می‌دهد ادغام تمرین اجباری شنا و مصرف ژل رویال باعث کاهش افسردگی شده است. و این شاخص در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در گروه کنترل آلزایمر

بیشتر از گروه کنترل سالم بود که نشان می‌دهد سم تری‌متیل‌تین موجب القای افسردگی شده است. و شاخص SOD در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در گروه آلزایمر- ژل بیشتر از گروه آلزایمر- تمرین اجباری - ژل شد که نشان می‌دهد ژل رویال به تنهایی باعث افزایش سطح SOD شد همچنین این شاخص در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در گروه کنترل سالم بیشتر از گروه‌های آلزایمر- تمرین اجباری - ژل و کنترل آلزایمر شد که می‌تواند نشان دهنده تأثیر اکسایشی سم تری‌متیل‌تین باشد. و تأثیر آنتی‌اکسایشی ژل رویال را نشان می‌دهد. و شاخص GPX در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) گروه آلزایمر-ژل و کنترل سالم بیشتر از گروه کنترل-آلزایمر شد. که تأثیر اکسایشی تری‌متیل‌تین و تأثیر آنتی‌اکسایشی ژل رویال را نشان می‌دهد و شاخص OAT در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در گروه آلزایمر- تمرین اجباری - ژل بیشتر از گروه کنترل آلزایمر شد و در گروه آلزایمر-ژل و کنترل سالم بیشتر از گروه کنترل آلزایمر شد. شاخص OAE در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) گروه کنترل آلزایمر کمتر از آلزایمر- تمرین اجباری و آلزایمر- تمرین اجباری - ژل و آلزایمر-ژل و کنترل سالم شد. که تأثیر سم تری‌متیل‌تین در ایجاد اضطراب را نشان می‌دهد و اثر ضد اضطرابی ژل رویال و تأثیر متقابل تمرین اجباری شنا با ژل رویال را در کاهش اضطراب ناشی از آلزایمر را نشان می‌دهد.

بحث و بررسی

طی این پژوهش به بررسی اثر سمیت TMT در القای حالت شبه آلزایمر و ارتباط آن با اختلالات رفتاری افسردگی و اضطراب در رت‌های بالغ پرداخته شد، سپس اثر آنتی‌اکسیدانی RJ و تأثیر ورزش در مهار التهاب مغزی و بهبود افسردگی و اضطراب ناشی از این مسمومیت مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این که در گروه کنترل آلزایمر (تنها دستکاری تجربی تزریق سم TMT و القای آلزایمر بود) طبق نتایج نسبت به گروه کنترل سالم (بدون دستکاری تجربی) میزان SOD, GPX کمتر و شاخص بی‌حرکتی بیشتر و OAT, OAE کمتر را نشان داده است که همگی نشان دهنده تأثیر سم TMT در بروز افسردگی و اضطراب و کاهش سطح آنزیم‌های اکسیداتیو است. در پژوهش‌های پیشین عنوان شده است که TMT سبب القا آسیب انتخابی و مرگ نرونی در سیستم عصبی می‌شود همچنین دارای اثرات نوروتوکسیک بالقوه در سیستم لیمبیک به‌ویژه هیپوکامپ است که موجب القای آلزایمر تجربی می‌شود (۲۳، ۲۴). هم‌سو با نتایج این تحقیق پژوهشگرانی عنوان نموده‌اند که تجویز TMT سبب کاهش رفتارهای اکتشافی و زمان حرکت‌گریزی در موش‌های صحرایی می‌شود و علت این مسئله را اختلال در انتقال عصبی نوروآدرنژیکی می‌دانند (۲۳)؛ همچنین نشان داده‌اند که مسمومیت با TMT سبب القا ضایعاتی در CNS و افزایش فعالیت‌های پرخاشگرانه و رفتارهای توأم با اضطراب در موش‌های صحرایی می‌شود (۲۳، ۲۴) هرچند مشاهده شده است که بروز این‌گونه رفتارها در حیوانات مختلف بسته به گونه، نژاد، سن، دوز تزریق TMT و یا شیوه تجویز TMT متفاوت است (۲۵). در تست اضطراب با دستگاه (EMP) حیوان مضطرب از حضور در فضایی باز و بدون دیوار هراس و اضطراب دارد و ترجیح می‌دهد که در بازوهای بسته باقی بماند. از طرفی، کاهش دفعات ورود حیوان به بازوهای باز همراه با کاهش زمان حضور آن‌ها نیز بود که خود شاخصی برای وجود رفتارهای اضطرابی در موش‌ها می‌باشد (۳۱). با این اوصاف، با توجه به نتایج تحقیق در خصوص OAT, OAE می‌توان عنوان کرد که به دنبال اجرای تمرین شنا توأم با ژل و گروه ژل به تنهایی میزان اضطراب کاهش داشته است؛ در واقع نشان داد که مصرف ژل رویال منجر به این روند کاهشی گردید چرا که گروه تمرین اجباری شنا به تنهایی کاهش معنی‌داری را در شاخص اضطرابی نشان نداد و تأثیر متقابل مثبت ورزش شنا در کنار مصرف ژل رویال در کاهش اضطراب ناشی از

مسمومیت با TMT ملاحظه گردید. نیز در تست شنای اجباری متغیر وابسته بی حرکتی در گروه‌های تمرین اجباری شنا - ژل رویال کمتر از گروه تمرین اجباری شنا بود که تأثیر مثبت مصرف ژل رویال در کاهش افسردگی را نشان می‌دهد زیرا گروه تمرین اجباری شنا به تنهایی کاهش معنی‌داری را در این متغیر نشان نداد. محققان دپارتمان روانپزشکی و مطالعات خودکشی، گروه مک‌گیل در کبک کانادا دریافتند که بعضی از سلول‌های مغز در بیماران متأثر از افسردگی بزرگ‌تر و ملتهب‌تر می‌شوند که این تغییرات می‌تواند به‌عنوان تأیید نظریه التهاب نورونی در افسردگی شناخته شود (۳۲)؛ بنابراین التهاب ناشی از استرس اکسیداتیو خود منجر به بروز افسردگی و اضطراب شده و عواملی که منجر به کاهش استرس‌های اکسیداتیو می‌گردد در تعدیل این اختلالات رفتاری می‌توانند نقش مثبتی ایفا کنند (۳۳، ۳۴). هیپوکامپ در سازماندهی اطلاعات نقش داشته و با احساسات و خاطرات در ارتباط است و در مسمومیت مزمن با سم تری‌متیل‌تین، بیشترین تأثیر تخریبی بر هیپوکامپ ایجاد می‌شود (۳۳). هیپوکامپ به دلیل توانایی تغییرپذیری عصبی بالا، آسیب‌پذیرترین ناحیه مغزی نسبت به استرس اکسایشی می‌باشد. از طرفی دیگر، سلول‌های فعال مغزی در ریسک مشخصی از خطر آسیب دیدگی توسط رادیکال‌های آزاد قرار دارند چرا که سلول‌های مغزی مصرف اکسیژن بالایی دارند و غشاهای نورونی سیستم اعصاب مرکزی غنی از پلیمرهای اسید چرب غیراشباع می‌باشد که هدف‌های بالقوه‌ای برای پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد. تجمع محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدی نیز می‌تواند در نقایص شناختی دخیل باشند (۹).

با توجه به نتایج به دست آمده به‌نظر می‌رسد مصرف ژل رویال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در مدل مسمومیت ناشی از TMT به‌عنوان الگوی از بیماری آلزایمر، بیش فعالی و سطح بالای اضطراب و افسردگی ناشی از آن را کاهش می‌دهد. تحقیقات نشان داده است که فعالیت ورزشی آثار زیادی بر ساختار و عملکرد CNS دارد و احتمالاً با افزایش بیان و تولید عامل رشد نورونی مشتق شده از مغز (BDNF)، نورونز و سیناپتونز، تحریک آنژیونز، کاهش عوامل التهابی، افزایش میزان فعالیت سیستم سروتونرژیک و کاهش استرس اکسیداتیو در ناحیه هیپوکامپ به تغییرات مورفولوژیکی و رفتاری منجر شده و اثرات ضد اضطراب و افسردگی دارد (۲۰) همچنین ورزش از طریق افزایش جریان خون مغزی باعث تسهیل رشد و عملکرد عصبی می‌شود که این تغییرات عروقی سبب افزایش شکل‌پذیری قشری (بیشتر در ناحیه هیپوکامپ)، رشد و محافظت ساختار عصبی می‌گردد (۳). چرا که احتمالاً فعالیت بدنی موجب افزایش تکثیر سلول‌های عصبی در هیپوکامپ شده که این افزایش تکثیر سلولی منجر به افزایش تقاضا برای مواد مغذی از طریق افزایش عروق عصبی می‌شود و در نهایت این مکانیسم‌ها، موجب پیشرفت در یادگیری و سایر وظایف هیپوکامپ می‌گردد (۳، ۳۵). همچنین نقش سروتونین به‌عنوان عاملی کلیدی در نورونز ناشی از فعالیت ورزشی به خوبی معلوم شده است. به خوبی مشخص شده است اختلال در عملکرد نورون‌های سروتونرژیک به توسعه اضطراب و افسردگی منجر می‌شود (۳). گیرنده‌های سروتونین در هیپوکامپ بیان می‌شوند و تحریک‌پذیری نورونی، پلاستیسیته سیناپس و حافظه را تنظیم می‌کنند. گرین وود و همکاران و کیم و همکاران نشان دادند هشت هفته فعالیت ورزشی به پیام‌رسانی گیرنده سروتونی و بهبود افسردگی منجر شده است (۳۶). به‌نظر می‌رسد تمرین اجباری شنا در این حجم و شدت به دلیل ماهیت اجباری بودن و ملزم داشتن حیوان به ماندن طولانی مدت در حوضچه شنا و در انتها مرحله خشک کردن حیوان و بازگشت به قفس خود ممکن است منجر به وارد شدن استرس به حیوان گردد؛ و ممکن است در درمان رفتارهای شبه افسردگی و اضطراب به تنهایی چندان مفید واقع نشده باشد (۳۵). در توجیه تفاوت‌های مشاهده شده می‌توان بیان کرد که پاسخ اضطراب و افسردگی به

ورزش، به میزان این اختلالات رفتاری قبل از ورزش نیز وابسته است؛ و به‌طور خلاصه تأثیر ورزش بر اضطراب چند عاملی و متأثر از شدت ورزش، زمان استراحت پس از ورزش و میزان اضطراب قبل از ورزش است. لذا عدم همخوانی برخی نتایج پژوهش در این زمینه به علت تفاوت در مدت زمان، شدت ورزش، نوع پروتکل تمرینی و زمان انجام آزمایش اضطراب و افسردگی پس از تمرین است (۳۶-۳۸). به‌طوری که نشان داده است فعالیت ورزشی اختیاری به دلیل اختیاری بودن نوع فعالیت برخلاف فعالیت اجباری از ایجاد استرس جلوگیری می‌کند و به اختیار خود حیوان انجام شده و مسیرهای لذت را فعال می‌کند (۱۱). همسو با این تحقیق برخی از تحقیقات گذشته عنوان کرده‌اند که تمرینات اجباری با توجه به ماهیت اجباری بودن با اکراه صورت گرفته و ناخوشایند بوده و در درمان رفتارهای شبه اضطراب و افسردگی مفید واقع نشده‌اند (۳۹)؛ اما در گروه‌های تمرین اجباری شنا به همراه مصرف مکمل ژل تأثیر مثبتی القا شده است که به نظر می‌رسد تأثیر تعاملی ژل رویال و شنا می‌تواند متمر ثمر باشد. از آنجا که هیپوکامپ از ساختارهای مهم مغز می‌باشد که در رابطه با بروز رفتارهای افسردگی و اضطراب هست و عوامل التهابی و استرس‌ها س اکسیداتیو در این ناحیه باعث بروز اختلالات رفتاری می‌شود (۶)؛ می‌توان به این موارد نیز اشاره داشت که در صورت کاهش اضطراب به دنبال ورزش می‌تواند ناشی از تغییرات در هیپوکامپ باشد چراکه نشان داده شده است که دویدن تعداد نورون‌های تحریکی جدید و شاخه‌های دندردی بیشتر را در سرتاسر مدار هیپوکامپ افزایش می‌دهد (۳۸). هیپوکامپ در فرایندهای شناختی نقش دارد و یکی از مستعدترین نواحی مغز به فشار آکسایشی و در نتیجه اختلالات تخریب عصبی و نارسایی‌های حافظه‌ای است. مطالعات انجام شده بیانگر آن است که آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش در پراکسیداسیون لیپیدها شده و از این طریق سبب کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد و تقویت طولانی مدت هیپوکامپ می‌شوند. از سوی دیگر، به‌نظر می‌رسد مغز از توان ضد آکسایشی بالاتری نسبت به سایر بافت‌ها برخوردار بوده و تمرین منظم اثرات مفیدی بر عملکرد مغز دارد و نقش پیشگیرانه و درمانی مهمی در ضربات و بیماری‌های آلزایمر و دیگر بیماری‌های نورودژنراسیون و سایر شرایط تخریبی ایفاء می‌کند (۹). در این راستا باید این نکته را در نظر گرفت که در هنگام ورزش شدید، مصرف اکسیژن در بدن حدود هشت تا ۱۰ برابر افزایش می‌یابد؛ به‌همین دلیل، با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌علت افزایش مصرف اکسیژن ممکن است ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن تضعیف شود (۲۱)؛ بنابراین، ورزش حاد و شدید خود موجب افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود، اما ورزش منظم و متوسط از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش استرس اکسیداتیو خواهد شد (۲۱، ۴۰). داکونا و همکاران گزارش کرده‌اند که تمرین بدنی می‌تواند با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های SOD، CAT و GPX در قشر مغز موش صحرایی، نقش محافظتی در برابر عدم تعادل آکسایشی و آسیب‌های مغزی داشته باشد (۴۱). مطالعه فرآنزونی با بررسی اثر ۳ هفته تمرین تداومی با شدت متوسط نیز بیانگر شرایط آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ است (۵). با این حال، مشاهده شده است که اجرای تمرینات سنگین با بروز پدیده بیش‌تمرینی موجب افزایش فشار آکسایشی شده و بافت مغز و به‌ویژه عملکرد شناختی هیپوکامپ را تحت تأثیر منفی قرار می‌دهد؛ و در واقع برخی از محققین علوم ورزشی معتقدند فعالیت ورزشی با شدت بالا و طولانی مدت می‌تواند با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث آسیب سلول شده و روند پیری را تسریع کنند (۲۱، ۳۷). در این راستا کاملیتی موبرون و همکاران نشان دادند که پس از ۱۲ هفته تمرین با شدت بالا، فعالیت SOD مغزی تغییری نمی‌کند (۴۲). نیز در تحقیقی که توسط رحمانی و همکاران صورت گرفت تمرین شدید ۱۰ هفته‌ای تغییر معنی‌داری را در SOD, GPX هیپوکامپ ایجاد نکرد (۱۰).

در مطالعه حاضر شاخص SOD و GPX تحت تأثیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی ژل رویال در مهار عوامل بروز استرس‌های اکسیداتیو قرار گرفتند و تمرین شنا به تنهایی تأثیر معنی‌داری بر SOD, GPX اعمال نکرد. پیشتر نیز گزارش شده است که ژل رویال فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد مانند یون سوپراکساید و رادیکال هیدروکسیل را دارد؛ همچنین باعث تقویت سیستم کولینرژیک شده و از این طریق باعث تقویت سیستم عصبی خودمختار می‌شود (۳۳). RJ حاوی استرول‌ها و اسیدهای چرب، نمک‌های معدنی و ویتامین‌ها است (۱۳). مشخص شده است که این مواد فعالیت‌های فارماکولوژیکی متفاوتی از قبیل خواص ضدتوموری، ضد میکروبی، اتساع‌دهنده عروق، کاهش‌دهنده فشارخون، تحریک‌کننده رشد، مقاومت در مقابل عفونت‌ها، ضد هایپرکلسترولمی و فعالیت‌های ضدالتهابی دارند. به همین دلیل بیش از ۳۰ سال است که RJ برای استفاده‌های تجاری در تولیدات دارویی، غذاهای مقوی و لوازم آرایشی بکار می‌رود (۳۳). اثرات مفید ناشی از RJ بر روی مغز را به یکسری ترکیبات موجود در آن نسبت داده‌اند که از طریق دستگاه گوارش جذب و از سد خونی مغزی عبور می‌کنند. در بین مواد فعالی که در RJ موجود است پپتیدهای کوچک و اسیدهای چرب غیراشباع کوچک مولکول جالب‌توجه هستند که از هیدرولیز پروتئین‌های بزرگ RJ به دست می‌آیند، آمینواسیدهای آزاد، اسیدهای چرب ۱۰ کربنه (HDA-۱۰) و AMP-N1 oxide و ترکیب منحصربه‌فرد اسید ۱۰- هیدروکسی ترانس ۲- دکانویک (HDEA)، از جمله آن‌هاست (۱۳). یکی از نواحی مغز بالغ که نوروزنز به‌طور مستمر در آن رخ می‌دهد ناحیه شکنج دنداندار از تشکیلات هیپوکامپ است. تحقیقات نشان داده‌اند شرایطی که باعث افزایش نوروزنز و یا ممانعت از مرگ نورونی تحت شرایط متفاوت پاتولوژیکی و یا فیزیولوژیکی در این ناحیه می‌شوند، عملاً منجر به بهبود فرایند یادگیری و حافظه می‌گردند (۹). نشان داده‌شده است که HDEA اثرات BDNF را تقلید و احتمالاً نوروزنز در مغز بالغ را تحریک می‌کند (۱۳). همچنین پپتیدهای کوچک مستخرج از RJ با ۲-۴ اسیدآمینو که در انتهای C خود حاوی tyt است، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی دارد که باعث پاکسازی رادیکال هیدروکسیل می‌شود (۱۳)، همچنین احتمالاً HDA-۱۰ می‌تواند باعث کاهش اضطراب در رت‌های مسن از طریق کاهش مرگ نورونی شود (۳۳). دیگر ترکیب سودمند اثرگذار بر روی سیستم عصبی که تنها در RJ موجود است، آدنوزین منو فسفات AMP adenosine monophosphate (AMP) N1-oxide است که به‌عنوان یک فاکتور نروتروفیک عمل می‌کند (۱۳). در کل این ترکیبات بیواکتیو موجود در RJ بر عملکردهای مغز اثرات مفید دارد و ممکن است در حفظ سلامت و یا استفاده‌های کلینیکی در پیشگیری و درمان برخی از اختلالات عصبی نقش استراتژیک داشته باشد (۱۳). یکی از فاکتورهایی که در پاتوزنز فرایند پیری و بیماری‌های نورودژنراتیو نقش اصلی را بازی می‌کند استرس اکسیداتیو (عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدان) است (۹). در شرایط نرمال، یک تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و تخریب آن‌ها به‌وسیله سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (۸). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با سازوکارهای مختلفی عمل کنند مکانیسم‌هایی همانند برداشت اکسیژن یا کاهش غلظت موضعی اکسیژن و قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌ای و به‌طور کلی قابلیت یک آنتی‌اکسیدان در خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد به عوامل مختلفی بستگی دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به محل تولید رادیکال آزاد و میزان فعالیت آن و تداخل با دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها و جذب و توزیع متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌ها اشاره کرد (۲۰، ۴۳). بنابراین مواد حاوی آنتی‌اکسیدان می‌توانند نقش مهمی در جلوگیری و درمان بیماری‌های نورودژنراتیو بازی کنند (۹).

مطابق با پیش‌بینی‌های مطالعات اخیر، نتایج ما از نظر رفتاری نشان دادند که RJ اثرات مفیدی بر عملکردهای عصبی دارد. در تحقیقی که توسط تیاگو و همکاران بر روی تیمار از طریق خوردن RJ بر روی رت‌های آلزایمری صورت گرفت نشان داد که RJ باعث کاهش استرس‌های اکسیداتیو و افزایش نرون‌زایی در هیپوکامپ رت‌ها شد و عملکردهای شناختی را بهبود بخشید و برخلاف تحقیق حاضر RJ خوراکی بر روی افزایش رفتار جستجوگرانه و کاهش اضطراب از طریق تست ماز علاوه و شنای اجباری تأثیری را نشان نداد (۹). در مطالعه‌ای که توسط یانگ‌مینگ و همکاران انجام شد نشان داد که مصرف خوراکی RJ به مدت ۱۲ هفته به میزان قابل‌توجهی باعث بهبود عملکرد مغزی در خرگوش شد و باعث کاهش سطح آمیلوئید بتا، افزایش SOD و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رفتارهای شناختی در مغز شد (۳۳). مطالعات نشان داده‌اند که بیماری آلزایمر با سطح بالای کلسترول نیز در ارتباط است چراکه تجمع کلسترول می‌تواند باعث تسریع تشکیل پلاک آمیلوئید بتا شود (۱، ۲۵) بنابراین از آنجایی که RJ می‌تواند چربی و کلسترول خون را نیز کاهش دهد و احتمالاً از طریق فعال کردن فرم بتای گیرنده‌های استروژن Estrogen Receptor (ER) نیز می‌تواند بر روی اختلالات رفتاری اثر مثبت بگذارد (۳۳).

طبق فرضیه هورمس (Hormesis) پاسخ سیستم‌های بیولوژیکی بدن به محرک‌های محیطی به‌صورت U وارونه است (۴۴). در واقع این فرضیه بیان‌کننده این نکته است که برای پاسخ مطلوب، میزان محرک وارده بایستی در دامنه محدودی باشد و اگر محرک بیش از حد زیاد یا کم باشد، پاسخ نامطلوب خواهد بود. طبق نظریه Hormesis در خصوص رادیکال‌های آزاد مهم‌ترین تأثیر فعالیت بر بدن ایجاد سازگاری است (۴۵). مطابق تئوری پایه استرس که توسط سیلای طرح ریزی شده است، پاسخ به یک محرک مزمن به تدریج کاهش (واکنش هشدار) و سپس مقاومت در برابر محرک افزایش می‌یابد (مرحله مقاومت) که در نهایت منجر به واماندگی بدن می‌شود (مرحله واماندگی) بنابراین اگر فشارهای مزمن همراه با ریکاوری به موقع و کافی نباشند می‌توانند منجر به پاسخ استرسی نامناسب شوند (۴۶). طبق نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که این حجم از پروتکل اعمال شده تمرین اجباری شنا برای رت‌های آلزایمری تأثیر معنی‌دار مثبتی بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی نداشته است. تمرینات طولانی مدت و متوالی می‌توانند موجب واماندگی و به خطر افتادن سلامتی حتی در افراد تمرین کرده شوند. در واقع، تأثیرات سازگار کننده فعالیت بدنی منظم، سیستمیک می‌باشد و ویژگی‌های فعالیت بدنی منحصر به فرد است. این سازگاری در اثر تمرینات منظم با تئوری هورمس قابل توجیه است. همان‌طور که قبلاً ذکر گردید، مطابق این تئوری، مواد شیمیایی و یا سمی در دوز پایین می‌توانند نقش محرک و در دوز بالا نقش مهاری ایفا نمایند به این مفهوم که مقادیر معینی از این مواد می‌توانند نقش مثبت داشته باشند (۴۴) بنابراین، مدت تمرینات در تمرینات استقامتی با شدت بالا عامل مهمی در تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به شمار می‌رود (۲۰). به‌طور کلی ارتباط نزدیکی بین تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و شدت ورزش وجود دارد (۲۱). در انسان و حیوانات، تمرینات فیزیکی شدید ممکن است القاء وضعیتی را نمایند که دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت‌های متعدد بوسیله واسطه‌های اکسیژنی فعال مغلوب گردد (۸). معمولاً تمرین هوازی با شدت زیاد به ویژه با بیشترین توان با مقادیر زیاد متابولیسم بی‌هوازی و هیپوکسی همراه است تمرین شدید موجب نبود تعادل بین تولید رادیکال آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدان بدن می‌شود. درحالی‌که تمرین هوازی با شدت متوسط منجر به افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش فشار اکسایشی می‌شود (۲۱). در خصوص اثرات ورزش بر فعالیت GPX, SOD مغزی نتایج متضادی منتشر گردیده است. بر طبق این نتایج فعالیت این آنزیم در طی ورزش افزایش، کاهش یا بدون تغییر می‌ماند (۲۰، ۴۳) در یک مطالعه انجام شده به

دنبال ورزش تردمیل میزان فعالیت این آنزیم‌ها در مغز کاهش یافته است (۸) اما در مطالعه دیگر شنای ناگهانی به مدت ۳۰ دقیقه باعث افزایش فعالیتشان گردیده است (۴۳). هم سو با این تحقیق نوناتو و همکاران هیچ گونه تفاوتی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام غیر آنزیمی در مغز موش‌ها پس از تمرینات شنا مشاهده نکردند (۱۸)؛ و نشان داده شد تمرینات شدید همراه با استراحت غیر کافی منجر به تحریک نوتروفیل‌ها گشته که می‌توانند باعث تولید ROS شوند و در نهایت منجر به ایجاد فشار اکسایشی گردند (۲۰).

در کل ارتباط بین ورزش و استرس اکسیداتیو بی‌نهایت پیچیده است و به نوع، شدت و مدت ورزش بستگی دارد (۱۸، ۴۳)؛ بنابراین انجام تحقیقات دقیق و متمرکز بر شیوه‌های مختلف فعالیت ورزشی و شدت‌های متفاوت فعالیت همچنین بررسی دوزهای مختلف مصرف RJ یک ضرورت در مطالعات آینده‌نگر است. بی‌شک نتایج این پژوهش و پژوهش‌های هم‌راستا با این تحقیق به روشن شدن مکانیسم‌های تأثیرگذار بر بدن و توصیه دقیق‌تر فعالیت ورزشی همراه با مصرف مکمل‌های غذایی، به گروه‌های خاص کمک خواهد کرد.

نتیجه‌گیری

از آنجایی که طی این مطالعه مشخص گردید تجویز TMT سبب بروز رفتارهای شبه افسردگی و اضطرابی در موش‌های صحرایی می‌گردد و این رفتارها نه تنها به مرور زمان کاهش نمی‌یابند بلکه تثبیت شده و به طور پیش‌رونده‌ای ادامه پیدا خواهد کرد؛ لذا مدل تخریب عصبی القا شده با TMT می‌تواند به‌عنوان یک مدل پایدار در مطالعه اختلالات رفتاری ناشی از بیماری آلزایمر مورد بررسی قرار گیرد و مدل معتبری برای بررسی فرضیات آن باشد همچنین مطالعه حاضر با بررسی اثر تمرین اجباری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدافسردگی و اضطراب RJ نشان داد که مکمل RJ قابلیت تعدیل خلق را در مدل حاضر دارد و تلفیق ورزش اجباری با مصرف مکمل ژل رویال، می‌تواند به‌عنوان یک روش سودمند مورد استفاده انسانی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی دوره دکترای فیزیولوژی ورزشی (نویسنده اول) دانشگاه لرستان با کد اخلاق Lu.acra.2020.41 می‌باشد. در پایان از تمامی دوستان و همکارانی که در طی مراحل این پژوهش یاری کننده ما بودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

حامی مالی

این پژوهش هیچگونه کمک مالی از سازمان‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

هر سه نویسنده در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

1. Bhatti GK, Reddy AP, Reddy PH, Bhatti JS. Lifestyle modifications and nutritional interventions in aging-associated cognitive decline and Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience*. 2019;11.
2. Lopez C, Sanchez JL, Martin J. [Exploratory analysis of the influence of cognitive reserve on the benefits of cognitive stimulation therapy in patients with sporadic late-onset Alzheimer's disease]. *Revista de neurologia*. 2020;70(8):271-81.
3. Rao U, Chen L-A, Bidesi AS, Shad MU, Thomas MA, Hammen CL. Hippocampal changes associated with early-life adversity and vulnerability to depression. *Biological psychiatry*. 2010;67(4):357-64.
4. Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology*. 2005;177(3):245-55.
5. 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.
6. Zhong H, Rong J, Zhu C, Liang M, Li Y, Zhou R. Epigenetic modifications of GABAergic interneurons contributes to the deficits in adult hippocampus neurogenesis and depression-like behavior in prenatally stressed mice. *The international journal of neuropsychopharmacology*. 2020.
7. Miki T, Eguchi M, Kochi T, Akter S, Hu H, Kashino I, et al. Prospective study on the association between dietary non-enzymatic antioxidant capacity and depressive symptoms. *Clinical nutrition ESPEN*. 2020;36:91-8.
8. Agar A, Kucukatay V, Yargicoglu P, Bilmen S, Gumuslu S, Yucel G. Effect of sulfur dioxide inhalation on erythrocyte antioxidant status and lipid peroxidation in experimental diabetes. *Diabetes and Metabolism*. 2000;26(2):140-4.
9. Guardia de Souza EST, do Val de Paulo MEF, da Silva JRM, da Silva Alves A, Britto LRG, Xavier GF, et al. 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):e03281.
10. 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. 2018.
11. Zolfaghari F, Peeri M, Hosseini M-J. The effect of adolescent treadmill mandatory exercise on symptoms of depression and brain inflammatory responses following maternal separation stress in mature male rats. *EBNESINA*. 2018;19(4):4-12.
12. Laurin D, Verreault R, Lindsay J, MacPherson K, Rockwood K. Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Archives of neurology*. 2001;58(3):498-504.
13. 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):e03281.

14. Verghese J, Lipton RB, Katz MJ, Hall CB, Derby CA, Kuslansky G, et al. Leisure activities and the risk of dementia in the elderly. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(25):2508-16.
15. Madden DJ, Blumenthal JA, Allen PA, Emery CF. Improving aerobic capacity in healthy older adults does not necessarily lead to improved cognitive performance. *Psychology and aging*. 1989;4(3):307.
16. Broe G, Creasey H, Jorm A, Bennett H, Casey B, Waite L, et al. Health habits and risk of cognitive impairment and dementia in old age: a prospective study on the effects of exercise, smoking and alcohol consumption. *Australian and New Zealand journal of public health*. 1998;22(5):621-3.
17. Cesur G, Atay E, Ogut S, Polat M, Ongel K. Effect of indoor climbing exercise on plasma oxidative stress, hematologic parameters and heart rate responses in sedentary individuals. 2012.
18. Nonato L, Rocha-Vieira E, Tossige-Gomes R, Soares A, Soares B, Freitas D, et al. Swimming training attenuates oxidative damage and increases enzymatic but not non-enzymatic antioxidant defenses in the rat brain. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2016;49(10).
19. Nakhostin-Roohi B, Babaei P, Rahmani-Nia F, Bohlooli S. Effect of vitamin C supplementation on lipid peroxidation, muscle damage and inflammation after 30-min exercise at 75% VO² max. *Journal of sports medicine and physical fitness*. 2008;48(2):217.
20. Ogonovszky H, Sasvári M, Dosek A, Berkes I, Kaneko T, Tahara S, et al. The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. *Canadian journal of applied physiology*. 2005;30(2):186-95.
21. Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. *Asian journal of sports medicine*. 2015;6(1).
22. Tanzi R, Parson A. *Decoding Darkness: The genetic causes of Alzheimer's disease*. PERSEUS (NY) Publishing. 2014:69-73.
23. Ceccariglia S, Alvino A, Del Fa A, Parolini O, Michetti F, Gangitano C. Autophagy is Activated In Vivo during Trimethyltin-Induced Apoptotic Neurodegeneration: A Study in the Rat Hippocampus. *International journal of molecular sciences*. 2019;21(1).
24. Malekzadeh S, Edalatmanesh MA, Mehrabani D, Shariati M. Effect of the Xenograft Transplantation of Human Dental Pulp Stem Cells on Anxiety and Memory in Trimethyltin Induced-Alzheimer Disease Model. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2019;13(7):10-21.
25. Bazyar Y, Rafiei S, Hosseini A, Edalatmanesh MA. Effect of endurance exercise training and gallic acid on tumor necrosis factor- α in an animal model of alzheimer's disease. 2015.
26. Malekzadeh S, Edalatmanesh MA, Mehrabani D, Shariati M. Drugs induced Alzheimer's disease in animal model. *Galen Medical Journal*. 2017;6(3):185-96.
27. Zare M, Zar A, Edalatmanesh M. The implementation of eight weeks of endurance training and lithium chloride administration on brain-derived

- neurotrophic factor (BDNF) serum levels in rats with alzheimer's disease. *J Adv Med Biomed Res.* 2016;24(103):62-70.
28. Arzi A, Houshmand G, Goudarzi M, Khadem Haghghighian 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):50-6.
29. Webster I, Du Toit EF, Huisamen B. The effect of long term swim training on physiological stress levels in the rat: peer reviewed short communication. *Medical technology SA.* 2010;24(2):37-40.
30. Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P. *Comprehensive textbook of psychiatry: lippincott Williams & wilkins Philadelphia, PA; 2000.*
31. Marco EM, Llorente R, López-Gallardo M, Mela V, Llorente-Berzal Á, Prada C, et al. The maternal deprivation animal model revisited. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* 2015;51:151-63.
32. Nemoda Z, Massart R, Suderman M, Hallett M, Li T, Coote M, et al. Maternal depression is associated with DNA methylation changes in cord blood T lymphocytes and adult hippocampi. *Translational psychiatry.* 2015;5(4):e545-e.
33. Pan Y, Xu J, Jin P, Yang Q, Zhu K, You M, et al. Royal Jelly Ameliorates Behavioral Deficits, Cholinergic System Deficiency, and Autonomic Nervous Dysfunction in Ovariectomized Cholesterol-Fed Rabbits. *Molecules (Basel, Switzerland).* 2019;24(6):1149.
34. Patki G, Li L, Allam F, Solanki N, Dao AT, Alkadhi K, et al. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiology & behavior.* 2014;130:47-53.
35. Sadeghi M, Peeri M, Hosseini M-J. Adolescent voluntary exercise attenuated hippocampal innate immunity responses and depressive-like behaviors following maternal separation stress in male rats. *Physiology & behavior.* 2016;163:177-83.
36. Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Burhans D, Brooks L, Campeau S, et al. Wheel running alters serotonin (5-HT) transporter, 5-HT1A, 5-HT1B, and alpha1b-adrenergic receptor mRNA in the rat raphe nuclei. *Biological psychiatry.* 2005;57(5):559-68.
37. Jafarzadeh Baghan A, Azarbayjani MA. The effect of four weeks of voluntary and compulsory training on anxiety-like behavior induced by childhood stress and cerebellar inflammatory factors in rats. *Yafteh.* 2019;21(3).
38. Vimalanathan A, Gidyk DC, Diwan M, Gouveia FV, Lipsman N, Giacobbe P, et al. Endocannabinoid modulating drugs improve anxiety but not the expression of conditioned fear in a rodent model of post-traumatic stress disorder. *Neuropharmacology.* 2020:107965.
39. Evans GW, Kim P. Childhood poverty, chronic stress, self-regulation, and coping. *Child development perspectives.* 2013;7(1):43-8.
40. Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in

- humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation*. 2003;108(5):530-5.
41. da Cunha MJ, da Cunha AA, Ferreira AG, Machado FR, Schmitz F, Lima DD, et al. Physical exercise reverses glutamate uptake and oxidative stress effects of chronic homocysteine administration in the rat. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2012;30(2):69-74.
42. Camiletti-Moirón D, Aparicio VA, Nebot E, Medina G, Martínez R, Kapravelou G, et al. High-protein diet induces oxidative stress in rat brain: protective action of high-intensity exercise against lipid peroxidation. *Nutricion hospitalaria*. 2015;31(2):866-74.
43. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Belló-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Canadian journal of applied physiology*. 2005;30(6):723-34.
44. Calabrese EJ, Baldwin LA. Defining hormesis. *Human & experimental toxicology*. 2002;21(2):91-7.
45. Hill Y, Kiefer AW, Silva PL, Van Yperen NW, Meijer RR, Fischer N, et al. Antifragility in Climbing: Determining Optimal Stress Loads for Athletic Performance Training. *Front Psychol*. 2020;11:272.
46. Selye H. Stress and distress. *Comprehensive therapy*. 1975;1(8):9-13.
47. Notkola I-L, Sulkava R, Pekkanen J, Erkinjuntti T, Ehnholm C, Kivinen P, et al. Serum total cholesterol, apolipoprotein E {FC12} e4 allele, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology*. 1998;17(1):14-20.

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

Maryam Azimpour¹, Mohammad Fathi^{1*}, Omid Dezfoulian².

1 Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran

2 Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, University of Khoramabad, Lorestan, Iran

* **Corresponding author:** fathi.m@lu.ac.ir

Abstract

Background and Purpose: The aim of this study was to investigate the protective role of Royal Jelly as an antioxidant on behavioral disorders of depression and anxiety caused by trimethyltin toxin and the level of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in Alzheimer's rats treated with trimethyltin after eight weeks of forced swimming exercise.

Methodology: The present study was performed experimentally with 48 male rats; 40 of them were induced by Alzheimer's TMT. The rats were randomly divided into six groups: Healthy control, Alzheimer's control, Alzheimer- forced exercise, Alzheimer- sham, Alzheimer- forced exercise- royal jelly and Alzheimer's-Royal Jelly were divided. Forced Swimming Test (FST) for depression assessment and Elevated Plus-Maze (EPM) for anxiety assessment were used. The expression of SOD and GPX genes were evaluated by Real Time PCR technique. The $2^{-\Delta\Delta CT}$ formula was used to quantify the expression values of the target genes. Due to the abnormal distribution of some data, the non-parametric statistical method of Kruskal–Wallis was used by SPSS version 20.

Results: Significant differences in groups with dependent variables ($p < 0.05$) showed that swimming training with Royal Jelly reduced depression and anxiety, and swimming training did not have a significant effect on SOD and GPX. But taking Royal Jelly alone increased the SOD and GPX index.

Conclusion: Trimethyltin administration induced depressive and anxiety-like behaviors in rats. This volume of forced swimming training protocol for Alzheimer's rats does not seem to have a positive effect on antioxidant parameters. However, the positive effect of royal jelly consumption on increasing SOD, GPX was observed, and the use of royal jelly with antioxidant properties and the combination of forced exercise with the use of royal jelly supplement has the ability to modulate mood in the current model, and can be used as a useful method.

Key words: Trimethyltin, Royal Jelly, Depression, Anxiety, Antioxidant Capacity, Alzheimer.