

تأثیر تمرینات هوازی با شدت متوسط و آنتوسیانیدین بر بیان ژن BDNF و IL10 در موش‌های در معرض آلودگی با ذرات PM2

افسانه شعبی^۱، جبار بشیری^{۲*}، حمدالله هادی^۳
۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲ استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تبریز دانشگاه آزاد اسلامی، ، تبریز ، ایران
۳ دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، مرکز آموزش علوم پایه افسری انتظامی نصر، دانشگاه علوم انتظامی امین، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول: دکتر جبار بشیری
تلفن همراه: ۰۹۱۴۱۰۸۱۳۰۹
ایمیل: bashiri.jabbar@gmail.com

The Effects of Moderate-Intensity Aerobic Exercise and Anthocyanidin Supplementation on BDNF and IL-10 Gene Expression in Mice Exposed to PM2.5 Air Pollution

Afsaneh Shoeibi¹, Jabbar Bashiri^{*2}, Hamdollah Hadi³

¹ PhD Student in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

² Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education and sport sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

³ Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Nasr Basic Officer Training Center, Amin Police University, Tehran, Iran.

*Corresponding Authors:

Department of Physical Education, Islamic Azad University, Tabriz Branch. Tabriz,

Dr Jabar bashiri; Mobile:+989141081309

email: bashiri.jabbar@gmail.com

عنوان مکرر: تأثیر تمرین و مکمل بر بیان ژن BDNF در موش‌های در معرض آلودگی

Running title: The Impact of Exercise and Supplementation on BDNF in Mice Exposed to Airborne PM2.5 Pollution

چکیده

زمینه و هدف: آلودگی هوا، به‌ویژه ذرات معلق PM_{2.5}، که می‌تواند عملکرد شناختی و سلامت مغز را تحت تأثیر قرار دهد. هدف از پژوهش حاضر تعیین تأثیر تمرینات هوازی با شدت متوسط و آنتوسیانیدین بر بیان ژن BDNF و IL10 در موش‌های در معرض آلودگی با ذرات PM_{2.5} بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۳۰ سر موش نر گونه C57bl/6 ۳ تا ۴ ماهه بصورت تصادفی انتخاب و پس از ۷ روز سازگاری با محیط بصورت تصادفی به ۵ گروه ۱. کنترل سالم (۶ راس)، ۲. PM_{2.5} (۶ راس)، ۳. PM_{2.5} - آنتوسیانیدین (۶ راس)، ۴. PM_{2.5} - تمرین (۶ راس) و ۵. PM_{2.5} - آنتوسیانیدین - تمرین (۶ راس) تقسیم شدند. تمرین استقامتی به مدت هشت هفته و هفته‌ای ۵ جلسه تمرین موردنظر را انجام دادند. سطوح بیان ژن بیان ژن BDNF و IL10 با استفاده از روش Real Time PCR انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ انجام شد.

نتایج: نتایج پژوهش نشان داد بیان ژن BDNF و IL10 در گروه PM_{2.5} نسبت به گروه سالم کاهش معناداری داشت ($P < 0.001$ و $P < 0.001$). با این حال، مداخلات تجربی در گروه PM_{2.5} تأثیر قابل‌توجهی در افزایش بیان ژن BDNF داشت؛ مقدار آن در گروه مکمل، تمرین و ترکیبی در مقایسه با گروه PM_{2.5} افزایش یافت (به ترتیب ۷۵/۹٪، ۱۴۹/۱٪ و ۲۲۷/۸٪). همچنین اثر تعاملی مکمل و تمرین افزایش بیشتری در مقایسه با گروه آنتوسیانیدین و تمرین به تنهایی داشت (به ترتیب ۳۱/۲٪ و ۸۶/۵٪). نتایج نشان داد که بیان ژن IL10 در گروه آنتوسیانیدین، تمرین و ترکیبی در مقایسه با گروه PM_{2.5} افزایش یافت (به ترتیب ۵۰/۴٪، ۵۸/۱٪ و ۱۰۰/۴٪). همچنین اثر تعاملی مکمل و تمرین افزایش بیشتری در مقایسه با گروه مکمل و تمرین به تنهایی داشت (به ترتیب ۸۶/۳٪ و ۴۴/۷٪).

نتیجه‌گیری: آلودگی محیطی با کاهش بیان ژن‌های BDNF و IL-10، عملکرد دستگاه عصبی و دفاعی بدن را مختل می‌کند؛ در حالی‌که تمرین ورزشی و مصرف آنتوسیانیدین، به‌ویژه در ترکیب با یکدیگر، موجب افزایش معنادار بیان این ژن‌ها می‌شوند. این اثر هم‌افزایی احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی نوروتروفیک مانند CREB و ERK و مسیرهای تنظیم‌کننده ایمنی مانند JAK/STAT صورت می‌گیرد.

کلمات کلیدی: تمرین ورزشی، آنتی اکسیدان، التهاب، آلودگی هوا.

Abstract

Background and Objective: Air pollution, particularly fine particulate matter (PM_{2.5}), can adversely affect cognitive function and brain health. This study aimed to investigate the effects of moderate-intensity aerobic exercise and anthocyanidin supplementation on the expression of BDNF and IL-10 genes in mice exposed to PM_{2.5} particles.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 male C57BL/6 mice aged 3 to 4 months were randomly selected and, after a 7-day acclimatization period, assigned to five groups (n=6 per group): (1) healthy control, (2) PM_{2.5} exposure, (3) PM_{2.5} + anthocyanidin, (4) PM_{2.5} + exercise, and (5) PM_{2.5} + anthocyanidin + exercise. The endurance training protocol consisted of five sessions per week for eight weeks. Gene expression levels of BDNF and IL-10 were measured using Real-Time PCR. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test at a significance level of $p < 0.05$.

Results: The findings of the study revealed a significant reduction in the expression of BDNF and IL-10 genes in the PM_{2.5}-exposed control group compared to the healthy control group ($p < 0.001$ for both). However, experimental interventions in the exposed groups led to a marked increase in BDNF gene expression: 75.9% in the supplement group, 149.1% in the exercise group, and 227.8% in the combined intervention group, relative to the PM_{2.5} control. Notably, the synergistic effect of combining supplementation and exercise resulted in greater increases compared to either intervention alone (31.2% vs. supplement, 86.5% vs. exercise). Similarly, IL-10 gene expression increased by 50.4%, 58.1%, and 100.4% in the supplement, exercise, and combined groups, respectively, compared to the PM_{2.5} control group. The combined intervention also demonstrated a stronger effect than either treatment alone (86.3% vs. supplement, 44.7% vs. exercise).

Conclusion: Environmental pollution impairs neural and immune function by downregulating BDNF and IL-10 gene expression. In contrast, aerobic exercise and anthocyanidin supplementation—especially when combined—significantly upregulate these genes. This synergistic effect is likely mediated through activation of neurotrophic signaling pathways such as CREB and ERK, and immune-regulatory pathways like JAK/STAT.

Keywords: Aerobic exercise, Antioxidant, Inflammation, Air pollution

مقدمه

یکی از مشکلات جدی که امروزه در جهان با آن مواجه هستیم بحث آلودگی هوا است که طیف وسیع و متنوعی از آلاینده‌ها را وارد اتمسفر می‌کند و سبب آسیب رساندن به انسان، دیگر موجودات زنده و محیط زیست می‌شود (۱). یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های هوا، ذرات معلق^۱ (PM) می‌باشد که شامل یک مخلوط ناهمگن از ذرات جامد و مایع در هوا است که به‌طور مداوم از لحاظ اندازه و ترکیب شیمیایی در فضا و زمان تغییر می‌کند و با اثرات نامطلوب بهداشتی کوتاه‌مدت و طولانی‌مدت از جمله بیماری‌های تنفسی، قلب و عروق و... همراه است (۲). آلودگی هوا، به‌ویژه ذرات معلق PM_{2.5}، که می‌تواند عملکرد شناختی و سلامت مغز را تحت تأثیر قرار دهد. مطالعات نشان داده‌اند که قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض این آلاینده‌ها باعث افزایش استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و کاهش نورون‌زنی می‌شود (۳). شایان ذکر است ذرات ریز معلق می‌توانند مسیر تنفسی را هدف قرار داده و اثرات متوالی را آغاز کنند، که شامل فعال‌سازی عوامل التهابی موضعی و ایجاد یک زنجیره التهابی منجر به آسیب عصبی و تهدید جدی عملکرد شناختی است. قرار گرفتن مکرر در معرض ریزگردها ممکن است با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌هایی مانند آلزایمر و پارکینسون مرتبط باشد. همچنین ذرات معلق می‌توانند باعث افزایش تولید بنیان‌های آزاد^۲ و التهاب در مغز شوند، که عملکرد شناختی را مختل می‌کند (۱). BDNF یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های نوروتروفیک است که نقش کلیدی در نورون‌زنی، بقای نورون‌ها، و تقویت سیناپس‌های عصبی دارد. کاهش سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز (BDNF)، که نقش حیاتی در تحریک رشد نورون‌های جدید در هیپوکامپ (ناحیه‌ای مرتبط با حافظه و یادگیری) دارد، با بروز افسردگی، بیماری آلزایمر و سایر اختلالات نورودژنراتیو ارتباط دارد (۴). همچنین IL-10، یک سایتوکاین ضدالتهابی و تنظیم‌کننده ایمنی قوی است که توسط چندین نوع سلول ایمنی فعال‌شده تولید می‌شود. این سایتوکاین می‌تواند عملکردهای حیاتی برای حفظ تعادل بافت در هنگام عفونت و التهاب از جمله حذف میتوکندری‌های ناکارآمد و مهار آپوپتوزیس ایفا کند. به عنوان یک سایتوکاین چندوجهی، IL-10 یک گزینه درمانی امیدوارکننده برای بسیاری از بیماری‌ها مانند فیبروز ریوی و بیماری التهابی روده محسوب می‌شود (۵). با این حال، اینکه آیا IL-10 خارجی می‌تواند از بافت‌های ریوی در برابر آسیب ناشی از PM_{2.5} محافظت کند، هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است. ورزش به‌عنوان یک مداخله اقتصادی، غیرتهاجمی و مؤثر برای پیشگیری از بیماری‌های مزمن متابولیکی پذیرفته شده است. شرکت منظم در تمرینات هوازی سبب بهبود عملکرد شناختی و افزایش حجم هیپوکامپ می‌شود. بنابراین، تمرینات هوازی ممکن است یک استراتژی درمانی بالقوه برای افراد مبتلا به بیماری آلزایمر با ارتقاء محافظت عصبی و انعطاف‌پذیری عصبی از طریق تنظیم مثبت BDNF ارائه دهد. ورزش هوازی به‌طور مداوم نشان داده است که موجب افزایش بیان BDNF در نواحی مختلف مغز، از جمله هیپوکامپ، در مدل‌های انسانی و حیوانی می‌شود (۶). برای نمونه، ورزش استقامتی در موش‌ها موجب افزایش Fndc5، پروتئینی عضلانی که به‌صورت آیریزین ترشح می‌شود، شده و این مولکول در هیپوکامپ افزایش می‌یابد و تحت تنظیم PGC-1 α قرار دارد؛ فرآیندی که در نهایت منجر به افزایش BDNF می‌شود. BDNF ناشی از ورزش نقش کلیدی در عملکرد شناختی، فعالیت سیناپسی، نوروپلاستیسته و شکل‌گیری حافظه دارد و اختلال در تنظیم آن با بیماری‌های روان‌پزشکی و نورودژنراتیو مرتبط است. ورزش همچنین از طریق مسیرهای سیگنال‌دهی BDNF، از جمله فعال‌سازی مسیر AMPK/PGC-1 α /CREB در مغز، موجب تحریک نورون‌زنی و جلوگیری از نورودژنراسیون می‌شود (۷). ورزش هوازی، به‌ویژه با شدت متوسط، تأثیر قابل‌توجهی بر بیان ژن فاکتور نوروتروفیک

¹ Particulate Matter

² Free radicals

مشتق شده از مغز (BDNF) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) دارد (۸). ریبیرو^۳ و همکاران نشان دادند که تمرین هوازی به افزایش سطح محیطی BDNF منجر می شود که می تواند از سد خونی مغزی عبور کند و وارد دستگاه عصبی مرکزی شود. این اثرات به ویژه در مواجهه با عوامل استرس زای محیطی مانند ذرات معلق ریز (PM2.5) اهمیت دارند؛ عواملی که به خوبی شناخته شده اند که موجب پاسخ های التهابی و اختلال در سوخت و ساز چربی می شوند (۹).

از طرفی مکمل های گیاهی می توانند تأثیر مثبتی بر نوروزن (تولید نورون های جدید) داشته باشند. برخی گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و نوروتروفیک می توانند رشد و بقای نورون ها را تقویت کنند. آنتوسیانیدین ها ترکیبات پلی فنولی هستند که در بسیاری از میوه ها و سبزیجات رنگی یافت می شوند و به دلیل خواص آنتی اکسیدانی قوی، نقش مهمی در سلامت مغز دارند (۱۰). مطالعات نشان داده اند این ترکیبات می توانند نوروزن (تولید نورون های جدید) را تحریک کنند و در حفظ عملکرد شناختی مؤثر باشند. آنتوسیانیدین ها با کاهش آسیب های ناشی از بنیان های آزاد، محیط مناسبی برای رشد نورون های جدید فراهم می شود. التهاب مزمن می تواند مانع نوروزن شود، اما آنتوسیانیدین ها با تنظیم مسیرهای التهابی، این فرآیند را بهبود می بخشند (۱۰). آنتوسیانین ها به دلیل نقش بالقوه شان در کاهش زوال شناختی و حافظه مرتبط با پیری و بیماری های نورودژنراتیو (NDDs) مورد توجه زیادی قرار گرفته اند. یکی از اصلی ترین روش هایی که آنتوسیانین ها تأثیرات سودمند خود را اعمال می کنند، خاصیت آنتی اکسیدانی قوی آن ها است. با حذف بنیان های آزاد و کاهش استرس اکسایشی در مغز، آنتوسیانین ها به محافظت از نورون ها در برابر آسیب کمک کرده و عملکرد شناختی را حفظ می کنند (۱۱). همچنین، ثابت شده است که آنتوسیانین ها التهاب مغز را کاهش می دهند، که با پیشرفت بیماری های نورودژنراتیو مانند آلزایمر مرتبط است. آنتوسیانین ها توانایی بهبود ارتباطات عصبی و انعطاف پذیری سیناپسی را دارند که برای یادگیری و حافظه ضروری است (۱۰). اگرچه منابع موجود به طور مستقیم به اثر ترکیبی ورزش هوازی با شدت متوسط و مکمل های آنتوسیانیدین بر بیان ژن های BDNF و IL-10 در موش های در معرض PM2.5 اشاره نکرده اند، اما تحلیل جامع اجزای منفرد این ترکیب می تواند دیدگاه هایی درباره ساز و کارهای بالقوه و مسیرهای پژوهشی آینده ارائه دهد. با این حال، هنوز شواهد آزمایشگاهی کافی برای تأیید اثرات محافظتی ورزش و مکمل های طبیعی بر کاهش اختلال شناختی ناشی از PM2.5 و ساز و کارهای آن وجود ندارد. لذا پژوهش حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که تمرینات با شدت متوسط و مصرف آنتوسیانیدین چه تأثیری بر بیان ژن و IL-10 در موش های در معرض PM2.5 دارد؟

مواد و روش ها

نمونه های پژوهش

در این پژوهش تجربی، ۳۰ سر موش نر گونه C57bl/6 ۳ تا ۴ ماهه بصورت تصادفی انتخاب و پس از ۷ روز سازگاری با محیط بصورت تصادفی به ۵ گروه ۱. کنترل سالم (۶ راس)، ۲. PM2.5 (۶ راس)، ۳. PM2.5 - آنتوسیانیدین (۶ راس)، ۴. PM2.5 - تمرین (۶ راس) و ۵. PM2.5 - آنتوسیانیدین - تمرین (۶ راس) تقسیم شدند. موش ها به تعداد ۶ عدد در هر قفس از جنس پلی کربنات (۱۵×۱۵×۱۵ سانتی متر)، در یک شرایط کنترل شده (دمای ۲۲±۲ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵±۵ درصد، و یک سیکل شب و روز ۱۲:۱۲) و آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش ها

³ Ribeiro et al

بر اساس ضوابط کمیته اخلاقی کار با حیوانات دانشگاه با کد تایید شد.

القاء آلودگی

قرارداد تمرین^۴

تمرینات ورزشی استقامتی و آزمون‌های خستگی در نوارگردان انجام گرفت. به طور خلاصه به عنوان یک نوع تمرین با شدت متوسط و بالا روی نوارگردان به مدت ۸ هفته (۵ روز در هفته) انجام شد. بعد از یک هفته که با تمرینات نوارگردان سازگاری انجام شد، سرعت دویدن و مدت زمان تمرین به تدریج افزایش یافته تا حداکثر VO_2 % ۷۰ (حداکثر ۲۵ متر در دقیقه) برسد. کل زمان تمرینات ورزشی ۴۵ دقیقه بود. درجه شیب نوارگردان صفر تنظیم شده و سرعت نیز با افزایش ۳ متر در دقیقه تنظیم شد و از ۱۰ متر در دقیقه شروع شد تا به سرعت نهایی ۲۵ متر در دقیقه (حداکثر VO_2 % ۷۰) رسید (۲۴).

تعداد جلسات در هفته	مدت زمان تمرین (دقیقه)	شدت تقریبی (% VO_2 max)	سرعت پایان (متر/دقیقه)	سرعت شروع (متر/دقیقه)	هفته
5	45	~40–50%	13	10	1
5	45	~50–55%	16	13	2
5	45	~55–60%	19	16	3
5	45	~60–65%	22	19	4
5	45	~65–70%	25	22	5–8

عصاره آنتوسیانیدین

عصاره ماده موثر آنتوسیانیدین از انگور سیاه به دست آمده برای تهیه عصاره، از روش maceration یا ماندگاری در آب به مدت طولانی استفاده شد. سپس عصاره بدست آمده خشک شد و پودر با استفاده از ۷۰٪ اتانول و ۳۰٪ آب به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق باقی ماند. پس از آن از کاغذ صافی Whatman (شماره ۱) برای فیلتر کردن مخلوط استفاده شد. پس از سانتریفیوژ فیلتر (۳۰۰۰ دور در دقیقه، ۲۰ دقیقه)، ماده رویی در دمای محیط تبخیر شد. سپس عصاره در دمای اتاق خشک شده و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. توده نیمه جامد به دست آمده برای درمان روزانه موش ها بصورت تازه استفاده شد. گروه آنتوسیانیدین به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به روش تزریق داخل صفاقی به مدت ۸ هفته دریافت کردند (۲۳).

⁴ Training protocol

نمونه‌گیری و اندازه‌گیری بیان ژن

پس از اتمام دوره قرارداد تمرینی، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۶۰ میلی گرم بازای هر کیلوگرم) و زایلوزین (۵ میلی گرم بازای هر کیلوگرم وزن) با نسبت ۵ به ۲ بی‌هوش شدند. نمونه‌ها در دمای ۸۰- سانتیگراد ذخیره شد تا برای بررسی‌های بعدی جهت اندازه‌گیری بیان ژن‌های بیومارکرها مورد مطالعه قرار گرفت. تمامی بافت فریز شده پس از پودر شدن (ساییده شدن) در نیتروژن مایع، در بافر پروتئاز (PBS، pH 4.7) هموژنیزه شد؛ سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲ هزار دور در دقیقه در دمای ۴°C سانتریفوژ شد. در فرآیند اندازه‌گیری mRNA، مقدار ثابتی از محلول هموژنیزه شده بافتی در داخل میکروتیوب RNase free منتقل شده و روی آن یک سی سی ترايزول (شرکت THERMO) اضافه شد. برای جداسازی RNA از فاز پروتئین و DNA حدود ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به داخل هر میکروتیوب اضافه و برای رسوب RNA از ایزوپروپانول استفاده شد. برای تعیین غلظت RNA استخراج شده و اطمینان از عدم آلودگی به DNA و پروتئین از دستگاه نانودراپ (شرکت THERMO FISHER) استفاده شد. غلظت RNA بدست آمده بین ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر بوده که برای اطمینان از خلوص آن، محصول بدست آمده روی آگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز شد. همچنین جهت اطمینان از عدم آلودگی RNA تام، نمونه‌ها با آنزیم DNase تیمار شدند. در روش RT-PCR، با استفاده از دستورالعمل کیت ساخت کشور امریکا، ابتدا cDNA از mRNA استخراج شد و فرایند محصول تکمیل شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ ارائه شده است. سطوح mRNA متناسب با ژن مرجع و GAPDH، و برآورد سطوح بیان ژن با فرمول $2^{-\Delta Ct}$ در نظر گرفته شد. برای بررسی بیان ژن BDNF و IL-10 در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک PCR Time Real استفاده شد.

جدول ۱. مشخصات توالی پرایمرهای مربوط به هر یک از ژنها

GENES	FORWARD (5'-3')	REVERSE (5'-3')	TEMPERATURE
IL10	GCCCTGCTGCTGCTGCTG	GCTGCTGCTGCTGCTGCTG	58
BDNF	TGGCTGACACTTTTGAGCAC	GTTTGCGGCATCCAGGTAAT	58
GAPDH	TGCACCACCAACTGCTTAG	GGCATGGACTGTGGTCATGAG	60

تجزیه و تحلیل آماری

توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد ارائه شد. جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. هم چنین برای بررسی تغییرات معنی داری هریک از متغیرهای پژوهش، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک طرفه و در صورت مشاهده تفاوت معنی دار آماری از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معنی داری برای تمام محاسبات $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

یافته‌های تحقیق

نتایج پژوهش نشان داد بیان BDNF بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($F=635/669$ و $P<0/001$). بیان ژن BDNF در گروه کنترل PM2.5 نسبت به گروه سالم کاهش معناداری داشت، به‌طوری که مقدار آن حدوداً ۶۱.۴٪ کاهش بود. با این حال، مداخلات تجربی در گروه PM2.5 تأثیر قابل توجهی در افزایش بیان ژن داشت؛ مقدار آن در گروه مکمل، تمرین و ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل PM2.5 افزایش یافت (به ترتیب ۷۵/۹٪، ۱۴۹/۱٪ و ۲۲۷/۸٪). همچنین اثر تعاملی مکمل و تمرین افزایش بیشتری در مقایسه با گروه مکمل و تمرین به تنهایی داشت (به ترتیب ۳۱/۲٪ و ۸۶/۵٪). همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بیان ژن IL10 در گروه‌های پژوهش تفاوت معناداری داشت ($F=1057/082$ و $P<0/001$). بیان ژن IL10 در گروه کنترل PM2.5 نسبت به گروه سالم کاهش معناداری داشت، به‌طوری که مقدار آن حدوداً ۴۰.۱٪ کاهش بود. با این حال، مداخلات تجربی در گروه PM2.5 تأثیر قابل توجهی در افزایش بیان ژن داشت؛ مقدار آن در گروه مکمل، تمرین و ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل PM2.5 افزایش یافت (به ترتیب ۵۰/۴٪، ۵۸/۱٪ و ۱۰۰/۴٪). همچنین اثر تعاملی مکمل و تمرین افزایش بیشتری در مقایسه با گروه مکمل و تمرین به تنهایی داشت (به ترتیب ۸۶/۳٪ و ۴۴/۷٪).

جدول ۲. نتایج توصیفی متغیرهای پژوهش به‌صورت میانگین و انحراف معیار

گروه/متغیر	کنترل سالم	کنترل PM2.5	PM2.5 آنتوسیانیدین	PM2.5 تمرین	PM2.5 آنتوسیانیدین+تمرین
BDNF	۱/۰۲۳ ± ۰/۰۳۸۸	۰/۳۹۵ ± ۰/۰۲۱۶	۰/۶۹۵ ± ۰/۰۲۲۵	۰/۸۹۵ ± ۰/۰۱۷۶	۱/۲۹۵ ± ۰/۰۲۱۶
IL10	۰/۹۹۵ ± ۰/۰۲۲	۰/۵۹۵ ± ۰/۰۲۳	۰/۸۹۵ ± ۰/۰۲۳	۰/۹۴۱ ± ۰/۰۱۶	۱/۱۹۵ ± ۰/۰۱۸

جدول ۳. تغییرات بیان ژن BDNF در گروه‌های مختلف

متغیر	مجموع مجذورات	درجات آزادی	میانگین مجذورات	نسبت F	سطح معناداری
BDNF	بین گروه‌ها	۱/۱۲۷	۴	۰/۲۸۲	* ۰/۰۰۰
	درون گروه	۰/۰۱۱	۲۵	۰/۰۰۰	
	مجموع	۱/۱۳۸	۲۹	۶۳۵/۶۶۹	

جدول ۴. تغییرات بیان ژن IL10 در گروه‌های مختلف

متغیر	مجموع مجذورات	درجات آزادی	میانگین مجذورات	نسبت F	سطح معناداری
IL10	بین گروه‌ها	۲/۷۶۳	۴	۲/۷۶۳	* ۰/۰۰۰
	درون گروه	۰/۰۱۶	۲۵	۰/۰۱۶	
	مجموع	۲/۷۸	۲۹	۱۰۵۷/۰۸۲	

بحث و نتیجه گیری

هدف از پژوهش حاضر تعیین تاثیر تمرینات با شدت متوسط و مصرف آنتوسیانیدین چه تاثیری بر بیان ژن و IL-10 در موش‌های در معرض PM2.5 بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن BDNF و IL10 در موش‌های در معرض آلودگی در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری داشت. این یافته‌ها حاکی از آن است که آلودگی محیطی می‌تواند اثرات منفی قابل توجهی بر دستگاه عصبی و دفاعی بدن داشته باشد. آلودگی‌های زیست‌محیطی به‌طور مستمر با کاهش قابل توجه در بیان ژنی عوامل نوروتروفیک حیاتی مانند فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز (BDNF) و سایتوکاین‌های ضدالتهابی نظیر اینترلوکین-۱۰ (IL-10) مرتبط دانسته شده‌اند؛ امری که منجر به اختلال در عملکرد سیستم عصبی و ایمنی می‌شود. برای نمونه، آلایندگی‌های هوا مانند ذرات معلق با قطر کمتر از ۲.۵ میکرون (PM2.5) و اُزن، موجب آسیب نیترو-اکسیداتیو و التهاب مزمن شده و تنظیم عوامل رونویسی نظیر NF-κB و NRF2 را مختل می‌کنند؛ عواملی که در بروز بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر و پارکینسون نقش دارند. التهاب عصبی، که با افزایش سطح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همچون IL-1β، IL-6 و TNF-α و همچنین گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مشخص می‌شود، یکی از پیامدهای رایج تنش‌های محیطی است. این وضعیت التهابی می‌تواند یکپارچگی سد خونی-مغزی (BBB) را مختل کرده و فرآیند نورزایی و انعطاف‌پذیری عصبی را تحت تأثیر قرار دهد (۱۲). آلودگی هوا موجب تولید بنیان‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که به آسیب سلولی و کاهش تولید فاکتورهای نوروتروفیک منجر می‌شود. همچنین، فعال‌سازی مسیرهای التهابی مانند NF-κB در اثر آلودگی می‌تواند بیان BDNF را مهار کند. از سوی دیگر، افزایش سطح هورمون‌های استرس مانند کورتیزول در پاسخ به آلودگی نیز می‌تواند تولید BDNF را سرکوب نماید (۱۳). از طرف دیگر، IL-10 یک سایتوکاین ضدالتهابی کلیدی است که نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و جلوگیری از التهاب بیش از حد دارد. کاهش بیان IL-10 می‌تواند موجب تشدید التهاب و آسیب بافتی شود. آلودگی هوا با تحریک سلول‌های ایمنی مانند ماکروفاژها، تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند TNF-α و IL-6 را افزایش داده و در نتیجه تولید IL-10 را مهار می‌کند (۱۴). همچنین، آلودگی می‌تواند از طریق تغییرات اپی‌ژنتیکی مانند افزایش متیلاسیون پروموتور ژن IL-10، بیان آن را کاهش دهد. کاهش جمعیت سلول‌های T تنظیمی (Treg) نیز که از منابع اصلی ترشح IL-10 هستند، یکی دیگر از ساز و کارهای احتمالی در این زمینه است. کاهش بیان ژن‌های BDNF و IL-10 در مواجهه با آلودگی نشان‌دهنده تأثیرات منفی محیطی بر عملکرد عصبی و دفاعی بدن است. این تغییرات می‌توانند زمینه‌ساز بروز بیماری‌های عصبی، التهابی و خودایمنی باشند (۱۵).

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن BDNF و IL10 در گروه‌های تمرین، مکمل و ترکیبی در مقایسه با گروه کنترل بیمار افزایش معناداری داشت. البته قابل ذکر است که بیان ژن BDNF و IL10 در گروه ترکیبی در مقایسه با گروه های تمرین و مکمل به تنهایی نیز افزایش معناداری را نشان داد. BDNF یک نوروتروفین حیاتی است که در بقای نورون‌ها، رشد، تمایز و انعطاف‌پذیری سیناپسی نقش دارد. بیان این فاکتور می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله فعالیت بدنی و مداخلات دارویی قرار گیرد. به‌عنوان مثال، تمرین ورزشی به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان عامل افزایش‌دهنده BDNF در مغز شناخته شده و در بهبود عملکردهای شناختی و حسی-حرکتی مؤثر است (۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که تمرین‌های ورزشی چه به‌صورت حاد و چه مزمن، می‌توانند سطح BDNF را در نواحی مختلف مغز و در گردش خون افزایش دهند. برای نمونه، تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) موجب افزایش قابل توجه BDNF در زنان پیش از یائسگی شده‌اند. در مدل‌های حیوانی

نیز، تمرین روی تردمیل باعث بهبود رفتارهای شبه افسردگی از طریق افزایش بیان BDNF در قشر پیش پیشانی شده است (۱۷). فریتاس و همکاران در پژوهشی به بررسی تمرینات با شدت بالا بر وضعیت اکسیداتیو هیپوکامپ (شامل آسیب اکسیداتیو و دفاع‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی)، میانجی‌های نوروایمنی ($IL-1\beta$, $IL-10$, $TNF\alpha$) و سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) پرداختند. نتایج نشان داد که سطوح IL10 و BDNF در گروه تمرین افزایش معناداری یافت که با نتایج تحقیق حاضر همسو می باشد (۱۸). مکانیسم‌های زیربنایی افزایش BDNF ناشی از تمرین، اغلب شامل مسیرهای سیگنال‌دهی مانند PERK/ATF4 و اثر اجسام کتونمانند β هیدروکسی بوتیرات هستند. تمرین مزمن همچنین با افزایش بیان PGC1 α و MEF2 مرتبط است که در عملکرد میتوکندری نقش دارند و می‌توانند به‌طور غیرمستقیم بر بیان فاکتورهای نوروتروفیک تأثیر بگذارند. مکانیسم‌های مولکولی که از طریق آن‌ها ورزش موجب افزایش محافظت عصبی و بهبود عملکرد شناختی می‌شود، اغلب شامل فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی کلیدی هستند. ورزش موجب تحریک هیپوکامپ برای آزادسازی BDNF می‌شود که سپس به گیرنده TrkB در نورون‌ها متصل شده و مسیرهای پایین‌دستی نظیر PI3K/Akt و MAPK/ERK را فعال می‌کند. این فرآیند در نهایت منجر به فعال‌سازی پروتئین متصل‌شونده به عنصر پاسخ cAMP (CREB) می‌شود. فعال‌سازی CREB برای رونویسی ژن‌های مرتبط با انعطاف‌پذیری عصبی، یادگیری و حافظه ضروری است (۱۹). اثر هم‌افزایی مشاهده‌شده در ترکیب مکمل و تمرین ممکن است ناشی از هدف‌گیری مسیرهای متفاوت یا هم‌پوشان توسط این دو مداخله باشد که منجر به پاسخ نوروتروفیک تقویت‌شده می‌شود. برای مثال، مکمل‌ها ممکن است پیش‌سازها یا کوفاکتورهای لازم برای سنتز یا سیگنال‌دهی BDNF را فراهم کنند، در حالی که تمرین، محرک فیزیولوژیکی برای آزادسازی و افزایش رونویسی آن را فراهم می‌سازد (۱۹). IL-10 نقش حیاتی در تنظیم دستگاه دفاعی بدن و مهار پاسخ‌های التهابی دارد. کاهش بیان IL-10 می‌تواند منجر به التهاب کنترل‌نشده شده و در نهایت به پیشرفت بیماری منجر شود. برای نمونه، مطالعاتی در مدل وابستگی به مورفین نشان داده‌اند که سطح IL-10 در گروه وابسته بالاتر از گروه کنترل بوده و در گروه ترک وابستگی، کاهش نسبت به گروه وابسته مشاهده شده است؛ که نشان‌دهنده تغییرات دینامیک این سایتوکاین در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک است (۷). کالگری و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی به بررسی تأثیر تمرینات ورزشی بر تعادل سایتوکین-IL-10/TNF- α در عضله گاستروکنمیوس موش‌های مبتلا به نارسای قلبی پرداختند. نتایج نشان می‌دهد که تمرین ورزشی نه تنها سطح TNF- α را کاهش می‌دهد، بلکه سطح سایتوکین IL-10 را در عضله اسکلتی موش‌های مبتلا به HF بهبود می‌بخشد که با نتایج تحقیق حاضر همسو می باشد (۲۰). تعامل بین BDNF و IL-10 از اهمیت بالایی برخوردار است؛ چرا که BDNF علاوه بر نقش نوروتروفیک خود، دارای اثرات ضدالتهابی و ترمیمی بافتی نیز می‌باشد، در حالی که IL-10 به‌طور مستقیم پاسخ‌های ایمنی را تنظیم می‌کند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن‌های BDNF و IL-10 در گروه‌های دریافت‌کننده مکمل آنتوسیانیدین، تمرین ورزشی، و ترکیب این دو، افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل بیمار داشت. این یافته‌ها نشان‌دهنده اثرات تعدیل‌کننده و محافظتی این مداخلات بر عملکرد سیستم عصبی و ایمنی در شرایط بیماری یا استرس محیطی هستند. آنتوسیانیدین‌ها، نوعی پلی‌فنول غذایی، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی هستند. این ترکیبات می‌توانند مسیرهای سیگنال‌دهی مختلفی را در مغز تعدیل کرده و از افت شناختی جلوگیری کنند. پلی‌فنول‌های غذایی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، GSH و CAT تأثیر گذاشته و با مسیرهای MAPK (شامل ERK، JNK، p38)، مسیر Akt و فاکتورهای رونویسی نظیر CREB و Nrf2 تعامل دارند. به‌طور خاص، آنتوسیانیدین‌ها می‌توانند فعال‌سازی NF- κ B را مهار کرده و التهاب مغزی را کاهش دهند، همچنین موجب افزایش بیان BDNF و فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی پایین‌دستی آن از طریق گیرنده TrkB شوند. محور روده-مغز نیز تحت تأثیر پلی‌فنول‌ها قرار دارد؛ به‌طوری‌که این ترکیبات می‌توانند ایمنی مخاطی را بهبود بخشند، پروتئین‌های اتصال‌دهنده محکم را افزایش دهند، تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه

توسط میکروبیوتای روده را تقویت کنند و تنوع باکتری‌های مفید را ارتقاء دهند؛ که همگی در سلامت کلی مغز نقش دارند (۲۱). این اثر هم‌افزایی حاکی از آن است که هدف‌گیری هم‌زمان مسیرهای نوروتروفیک و ضدالتهابی می‌تواند مزایای درمانی برتری نسبت به مداخلات منفرد داشته باشد. افزایش مشاهده‌شده در بیان ژن‌ها احتمالاً از طریق مسیرهای سیگنال‌دهی نوروتروفیک و ضدالتهابی میانجی‌گری می‌شود. افزایش BDNF ممکن است با تحریک نورونز و انعطاف‌پذیری سیناپسی مرتبط باشد که از طریق فعال‌سازی پروتئین‌های متصل‌شونده به عناصر پاسخ cAMP (CREB) در اثر تمرین ورزشی صورت می‌گیرد. در مورد IL-10، اثرات ضدالتهابی ممکن است با فعال‌سازی مسیرهای تنظیم‌کننده ایمنی مانند مسیر JAK/STAT مرتبط باشد، هرچند مطالعات اختصاصی در زمینه اثر ترکیبی تمرین و مکمل بر این مسیرها هنوز مورد نیاز است (۲۲).

نتیجه گیری

یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که آلودگی محیطی موجب کاهش معنادار بیان ژن‌های BDNF و IL-10 شده و در نتیجه عملکرد سیستم عصبی و ایمنی را مختل می‌سازد. در مقابل، مداخلات مبتنی بر تمرین ورزشی، مصرف مکمل آنتوسیانیدین و ترکیب این دو، توانستند به‌طور معناداری بیان این ژن‌ها را افزایش دهند. این افزایش در گروه ترکیبی نسبت به گروه‌های منفرد نیز محسوس‌تر بود، که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این دو مداخله است. مکانیسم احتمالی این اثر شامل فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی نوروتروفیک مانند CREB و ERK در مورد BDNF، و مسیرهای تنظیم‌کننده ایمنی مانند JAK/STAT در مورد IL-10 است. تمرین ورزشی با تحریک فیزیولوژیکی و آنتوسیانیدین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، به‌طور هم‌زمان محیط سلولی را برای افزایش بیان این فاکتورها آماده می‌سازند. بررسی مستقیم و آزمایشگاهی این مسیرها انجام نشده و تنها به‌صورت فرضی مطرح شده‌اند، این موضوع محدودیت مهمی در تبیین دقیق سازوکارهای زیربنایی اثرات مداخله‌ها محسوب می‌شود. همچنین نتایج این پژوهش بر اساس مدل حیوانی به‌دست آمده‌اند و ممکن است به‌طور کامل قابل تعمیم به انسان نباشند. تفاوت‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی بین انسان و موش‌ها می‌تواند بر پاسخ به مداخلات تأثیر بگذارد. بررسی اثرات پایدار و بلندمدت تمرینات هوازی و مکمل‌های آنتوسیانیدین بر عملکرد شناختی و بیان ژن‌های مرتبط در شرایط آلودگی مزمن و همچنین انجام مطالعات بالینی بر روی افراد ساکن در مناطق آلوده و بررسی تأثیر تمرینات هوازی و مکمل‌های گیاهی بر شاخص‌های شناختی و التهابی شاید بتواند به عنوان پیشنهادات پژوهشی در آینده مورد بررسی قرار بگیرد. این رویکرد چندوجهی شاید بتواند به‌عنوان راهکاری مؤثر در کاهش اثرات منفی آلودگی و بهبود سلامت عصبی و ایمنی مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1. Wang, Z., Qin, F., Wu, D., Xu, M., Cui, S., & Zhao, J. (2024). Effect of aerobic intermittent exercise on the decreased cognitive ability induced by PM2. 5 exposure in rats. *Translational Exercise Biomedicine*, 1(2), 170-181.

2. Jaiswal, C., & Singh, A. K. (2024). Particulate matter exposure and its consequences on hippocampal neurogenesis and cognitive function in experimental models. *Environmental Pollution*, 125275.
3. Jin, X., Chen, Y., Xu, B., & Tian, H. (2024). Exercise-Mediated Protection against Air Pollution-Induced Immune Damage: Mechanisms, Challenges, and Future Directions. *Biology*, 13(4), 247. <https://doi.org/10.3390/biology13040247>
4. Weber-Adrian, D., Kofoed, R. H., Chan, J. W. Y., Silburt, J., Noroozian, Z., Kügler, S., ... & Aubert, I. (2019). Strategy to enhance transgene expression in proximity of amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Theranostics*, 9(26), 8127.
5. Zhang, N., Li, P., Lin, H., Shuo, T., Ping, F., Su, L., & Chen, G. (2021). IL-10 ameliorates PM_{2.5}-induced lung injury by activating the AMPK/SIRT1/PGC-1 α pathway. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 86, 103659.
6. Ezzat, W., & Abd-El Hamid, M. S. (2021). Aerobic Exercise Mediated Increase in BDNF Expression Ameliorates Depression in Propylthiouracil-Induced Hypothyroidism in Adult Rats. *Journal of Affective Disorders Reports*, 6, 100268.
7. Zhang, R., Liu, S., & Mousavi, S. M. (2024). Cognitive dysfunction and exercise: from epigenetic to genetic molecular mechanisms. *Molecular Neurobiology*, 61(9), 6279-6299.
8. Li, Q., Li, C., & Zhang, X. (2024). Research Progress on the Effects of Different Exercise Modes on the Secretion of Exerkines After Spinal Cord Injury. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 44(1), 62.
9. Ribeiro, D., Petrigna, L., Pereira, F. C., Muscella, A., Bianco, A., & Tavares, P. (2021). The impact of physical exercise on the circulating levels of BDNF and NT 4/5: a review. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 8814.
10. Bayazid, A. B., & Lim, B. O. (2024). Therapeutic Effects of Plant Anthocyanin against Alzheimer's Disease and Modulate Gut Health, Short-Chain Fatty Acids. *Nutrients*, 16(11), 1554. <https://doi.org/10.3390/nu16111554>
11. do Rosario, V. A., Fitzgerald, Z., Broyd, S., Paterson, A., Roodenrys, S., Thomas, S., ... & Charlton, K. (2021). Food anthocyanins decrease concentrations of TNF- α in older adults with mild cognitive impairment: A randomized, controlled, double blind clinical trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 31(3), 950-960.
12. Rodríguez-Carrillo, A., Verheyen, V. J., Van Nuijs, A. L., Fernández, M. F., & Remy, S. (2024). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF): an effect biomarker of neurodevelopment in human biomonitoring programs. *Frontiers in toxicology*, 5, 1319788.
13. Cassilhas, R. C., De Sousa, R. A. L., Caxa, L., Viana, V., Meeusen, R., Goncalves, F. L., ... & de Mello, M. T. (2022). Indoor aerobic exercise reduces exposure to pollution, improves cognitive function, and enhances BDNF levels in the elderly. *Air Quality, Atmosphere & Health*, 15(1), 35-45.
14. Aguilera, J., Han, X., Cao, S. et al. Increases in ambient air pollutants during pregnancy are linked to increases in methylation of IL4, IL10, and IFN γ . *Clin Epigenet* 14, 40 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13148-022-01254-2>
15. Cho, S. Y., & Roh, H. T. (2025). Combined Effects of Particulate Matter Exposure and Exercise Training on Neuroplasticity-Related Growth Factors and Blood–Brain Barrier Integrity. *Atmosphere*, 16(2), 220.
16. Takamatsu, Y., Inoue, T., Nishio, T., Soma, K., Kondo, Y., Mishima, T., ... & Maejima, H. (2024). Potential effect of physical exercise on the downregulation of BDNF mRNA expression in rat hippocampus following intracerebral hemorrhage. *Neuroscience Letters*, 824, 137670.
17. Ikegami, R., Inoue, T., Takamatsu, Y., Nishio, T., Fukuchi, M., Haga, S., ... & Maejima, H. (2024). In vivo bioluminescence imaging revealed the change of the time

window of BDNF expression in the brain elicited by a single bout of exercise following repeated exercise. *Neuroscience Letters*, 834, 137830.

18. Freitas, D. A., Rocha-Vieira, E., Soares, B. A., Nonato, L. F., Fonseca, S. R., Martins, J. B., Mendonça, V. A., Lacerda, A. C., Massensini, A. R., Poortmans, J. R., Meeusen, R., & Leite, H. R. (2018). High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiology & behavior*, 184, 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.10.027>
19. Benite-Ribeiro, S. A., Barbosa, H. C., Ramadan, W., & dos Santos, J. M. (2023). Exercise-mediated increase in PGC1 α and MEF2 expression in type 2 diabetes mellitus. *Gene Reports*, 31, 101758.
20. Calegari, L., Nunes, R. B., Mozzaquattro, B. B., Rossato, D. D., & Dal Lago, P. (2018). Exercise training improves the IL-10/TNF- α cytokine balance in the gastrocnemius of rats with heart failure. *Brazilian journal of physical therapy*, 22(2), 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.bjpt.2017.09.004>
21. Morton, L., Paton, C., & Braakhuis, A. (2024). The effects of polyphenol supplementation on BDNF, cytokines and cognition in trained male cyclists following acute ozone exposure during high-intensity cycling. *Nutrients*, 16(2), 233.
22. Ahmadi, S., Majidi, M., Koraei, M., & Vasef, S. (2024). The inflammation/NF- κ B and BDNF/TrkB/CREB pathways in the cerebellum are implicated in the changes in spatial working memory after both morphine dependence and withdrawal in rat. *Molecular Neurobiology*, 61(9), 6721-6733.
23. Ahmadi N, Zakerbostanabadi S, Khaki A A, Khodarahmi P, Baharara J. Effects of anthocyanins on blood biochemical factors related to diabetes in diabetic adult rats treated with streptococci. *NCMBJ* 2024; 14 (55) :9-18
URL: <http://ncmbjpiau.ir/article-1-1672-fa.html>
24. Dashti- Khoidaki, M. H. , Rasekh, F. , & Minaeifar, A. A. (2021). The effect of endurance training and Anvillea garcinii extract consumption on liver and kidney functional indices in rats fed with high cholesterol diet. *Journal of Applied Exercise Physiology*, 17(34), 201-212. doi: 10.22080/jaep.2022.23288.2096.