

تأثیر تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف ژل رویال بر میزان بیان ژن‌های BDNF و

G-CSF در هیپوکمپ موش‌های نر دیابتی نوع ۲

لیلا معرفت^۱، حسین عابدنطنزی^۲، ماندانا غلامی^۳، فرشاد غزالیان^۴

۱- دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. نویسنده مسئول:

abednazari@gmail.com

۳- استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴- دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: دیابت نوع دو شایع‌ترین بیماری غدد درون‌ریز است که به دلیل عدم تحمل گلوکز در اثر برهم خوردن تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین رخ می‌دهد. هدف پژوهش حاضر، تبیین تأثیر تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف ژل رویال بر بیان ژن‌های BDNF، G-CSF در هیپوکمپ موش‌های نر دیابتی نوع دوم بود.

مواد و روش‌ها: برای انجام تحقیق آزمایشی و کاربردی حاضر، ۳۶ سر موش نر ویستار چهار الی ۶ هفته‌ای با وزن (گرم) 110 ± 20 به عنوان نمونه انتخاب و به مدت ۵ ماه با رژیم پر چرب (۴۵ تا ۶۰ درصد چربی) تغذیه شده و پس از رسیدن به میانگین وزنی حدود 409 ± 50 گرم، با استفاده از STZ با دوز پایین ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به شیوه تزریق درون صفاقی دیابتی شدند. سپس به ۴ گروه (کنترل دیابتی، تمرین تناوبی شدید، ژل رویال و تمرین-ژل رویال) تقسیم شدند. پس از تیمار موش‌ها تشریح شده و میزان بیان ژن‌ها با Real – Time PCR کمی مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: نتایج نشان داد بیان ژن BDNF و G-CSF بافت هیپوکمپ در گروه‌های تمرین، ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش معناداری داشتند ($P=0.0001$).

نتیجه‌گیری: افزایش بیان BDNF و G-CSF در سلول‌های هیپوکمپ می‌توانند پلاستیسیته بافت را افزایش داده و در روند بهبود عملکرد حافظه نقش مهمی ایفا نمایند. و با توجه به تأثیر ژل رویال و تمرین در افزایش این دو فاکتور شاخص، می‌توانیم انتظار داشته باشیم با انجام تمرین مداوم و مصرف ژل رویال عملکرد حافظه را بهبود بخشیده و از دمانس جلوگیری کنیم.

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی شدید، ژل رویال، دیابت نوع دوم، BDNF، G-CSF

مقدمه

دیابت یک مشکل جدی پزشکی است که شیوع آن در سراسر جهان به طور چشمگیری در حال افزایش است. بطوریکه حدود ۳۷۰ میلیون انسان در سراسر دنیا از این بیماری رنج می‌برند و پیش‌بینی شده است تا سال ۲۰۳۰، تعداد مبتلایان به این بیماری به ۵۵۲ میلیون نفر برسد. افزایش قند خون مشخصه اصلی این بیماری بوده و در طولانی مدت سبب آسیب به بافت‌های مختلف بدن می‌شود؛ هرچند سازو کار آن در بافت‌های مختلف متفاوت است (۱).

یکی از مشکلات بیماری دیابت که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است ارتباط این بیماری با دستگاه عصبی و مغز است. زیرا در دراز مدت با عوارض عصبی همراه می‌باشد (۲). دیابت به طور ناخوشایندی هر دو سیستم عصبی مرکزی و محیطی را از طریق آپوپتوز نورون‌های پایه‌ای گرفتار می‌کند. در همین راستا یکی از شایع‌ترین عوارض دیابت، نوروپاتی دیابتی است که اختلالات سیستم عصبی اتونوم و سیستم عصبی ارادی را به همراه دارد. اختلالات شناختی ناشی از آسیب نورون‌های هیپوکامپ نیز از عوارض دیابت است و نقص در حافظه و شناخت در افراد دیابتی شایع‌تر از افراد غیر دیابتی گزارش شده است. بنابراین به نظر می‌رسد هیپوکامپ به عنوان یک مرکز مهم در یادگیری و حافظه نسبت به افزایش قند خون حساس بوده و نورون‌های آن در دیابت نوع ۱ فوق‌العاده آسیب‌پذیر است (۳).

در بین فاکتورهای مختلف *BDNF* یک عامل رشد عصبی است که نقش مهمی در دستگاه عصبی مرکزی و شرایط التهابی سیستمیک و محیطی مانند سندرم کرونری حاد و دیابت نوع ۲ ایفا می‌کند. *BDNF* در بلوغ، اتصالات سیناپسی، بازسازی عصبی و پلاستیسیته دستگاه عصبی مرکزی نقش مهمی ایفا می‌کند و همچنین بر پاتولوژی و درمان بیماری‌های عصبی اثر دارد. این فاکتور برای نقش احتمالی محافظت در مقابل پیشرفت دیابت نوع ۲، مورد توجه

قرار گرفته است (۴). با توجه به مطالب فوق محققین بطور پیوسته در پی کشف روش یا روش‌هایی جهت به حداقل رساندن عوارض منفی دیابت هستند در همین زمینه از روش‌های مختلفی استفاده شده و نتایج مختلفی نیز به دست آمده است یکی از این روش‌ها تمرین و فعالیت بدنی است. تمرین ورزشی منظم به عنوان نوعی درمان غیردارویی در چاقی و دیابت نوع دو معرفی شده و در عین حال مکانیسم‌های مولکولی عهده دار سازگاری‌های ژنتیکی به آن کمتر شناخته شده‌اند (۵). بطور کلی ورزش اثرات سودمندی روی نیمرخ گلیسمیک و کاهش ریسک فاکتورهای بیماری‌های متعدد از جمله مقاومت انسولینی دارد (۶). علاوه بر تاثیرات مثبت در تغییرات سیستماتیک مرتبط با دیابت و چاقی، ورزش می‌تواند بسیاری از اختلالات متابولیک شناخته شده در قلب، کلیه و مغز دیابتی را بهبود بخشد (۷). همچنین نشان داده شده است که تنظیم افزایشی *BDNF* پس از تمرین با کاهش آسیب‌ها و اختلالات نورولوژیکی همراه خواهد شد. علاوه بر آثار نورونی نوروتروفین‌ها، نشانه‌هایی وجود دارد که *BDNF* فعالیت ضد اکسایشی نیز دارد. تنظیم افزایشی *BDNF* در اثر تمرین با افزایش فعالیت ضد اکسایشی، موجب حفاظت از نورون‌ها در برابر نوروپاتی دیابتی خواهد شد. ساز و کار آن به شکل هدایت سیگنالی *BDNF* و از طریق گیرنده *TrkB* است که بیان آن با فعالیت ورزشی تنظیم می‌شود، که سیگنال *TrkB* در پایانه‌های پیش سیناپسی و پس سیناپسی منجر به تنظیم گذرگاه‌های انتقال سیگنالی همچون مپ-کیناز ۱ و مپ-کیناز ۲ می‌شود (۴). مدیریت دیابت و کنترل خطرهای دیابت به روش‌های مختلف امکان پذیر می‌باشد. فعالیت ورزشی منظم می‌تواند سهم عمده‌ای در کاهش عوارض دیابت از جمله چاقی، پرفشار خونی، هیپرلیپیدمی و افزایش حساسیت به انسولین در بافت هدف داشته باشد. فعالیت ورزشی باعث افزایش حافظه و یادگیری هیپوکامپی و افزایش مقادیر نورونز هیپوکامپ می‌شود. همچنین فعالیت ورزشی

تحریک کننده کلونی گرانولوسیت (*GCSF*)، یک پروتئین فاکتور خونساز عصبی درون ز، حافظه و عملکردهای عصبی رفتاری را بهبود می بخشد. *GCSF* فعالیت محافظت عصبی را با بهبود قابل توجه حافظه، افزایش سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی و افزایش بیان *RNA* کلی در مغز و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش سطوح استیل کولین استراز اعمال می کند. علاوه بر این *GCSF* باعث ایجاد نورونز میشود که با افزایش تعداد سلول های پیش ساز *CD34+* در مغز مشهود است (۹).

از طرف دیگر در طب سنتی برای پیشگیری و درمان بیماری های متابولیک از جمله دیابت از داروهای گیاهی و سنتی استفاده می شود (۱۰). یکی از راه کارهای کاهش عواقب منفی ناشی از دیابت و تولید رادیکال های آزاد استفاده از عصاره های طبیعی آنتی اکسیدانی مانند ژل رویال همراه با تمرین ورزشی می باشد. ژل رویال ماده سفید مایل به زرد است که توسط غدد تحت فکی زنبورهای کارگر ترشح و توسط زنبور ملکه در تمام عمر و لاروها در طول دوره رشد مصرف می شود (۱۱). ژل رویال و ترکیبات فعال زیستی آن به دلیل داشتن اثرات آنتی اکسیدانی و خاصیت ضد باکتریایی، ضد دیابتی، ضد سرطان، ضد التهابی، ضد فشار خون، و داروهای سیستم ایمنی بدن، داروهای گسترده ای را به نمایش می گذارند. همچنین نقش مهمی در محافظت از کبد و کلیه، بهبود زخم و سیستم تناسلی دارد و در بیماران دیابتی، اثرات کاهشی روی قند خون و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند *CAT*، *GSH-PX* و *SOD* را نشان داد (۱۰). ژل رویال به طور عمده از ترکیبات مهم با فعالیت های بیولوژیکی و تقویت کننده سلامتی مانند پروتئین ها، لیپیدها، قندها، ویتامین ها، مواد معدنی و اسیدهای آمینه آزاد تشکیل شده است و حاوی ویتامین هایی مانند ریوفلاوین، تیامین، نیاسین، اسید فولیک، بیوتین، و پیریدوکسین و مقادیر کمتری از ویتامین های C،

مسیرهای گوناگون پیام رسانی نورونز را فعال می کند که به افزایش پلاستیسیته عصبی منجر می شود و با تقویت یادگیری و حافظه همراه است. *GCSF* یک پروتئین فاکتور خونساز عصبی درون زاست، حافظه و عملکردهای عصبی رفتاری را بهبود می بخشد. مطالعات حیوانی نشان داد که فعالیت بدنی منجر به افزایش سطح نوروتروفین مغزی می شود و متعاقباً اثرات مفیدی بر نورونز، شکل پذیری سیناپسی و توانایی یادگیری دارد. علاوه بر این، مطالعات تجربی انسانی نشان داده است که فعالیت بدنی سطوح محیطی نوروتروفین ها را افزایش می دهد. هر دو *BDNF* و *GCSF* از سد خونی مغزی دست نخورده عبور می کنند و منطقی را برای استنباط سطوح مغزی از سطوح محیطی فراهم می کنند. سطح *G-CSF* محیطی در افرادی با سطوح بالاتر فعالیت بدنی بالاتر است. *G-CSF* ممکن است نورونز را در شکنج دنداندار افزایش دهد و جوانه زدن آکسون و شکل پذیری سیناپسی را در کل مغز از جمله قشر جلوی مغز افزایش دهد. بنابراین، *G-CSF* این پتانسیل را دارد که اثرات مفید فعالیت بدنی را بر عملکرد حافظه و همچنین حجم ماده خاکستری واسطه کند. ارتباط بین سطوح بالاتر فعالیت بدنی و سطوح بالاتر *G-CSF* محیطی از یک سو، و رمزگذاری بهتر حافظه از سوی دیگر، نشان می دهد که *G-CSF* ممکن است حداقل تا حدی تأثیر مفید فعالیت بدنی را بر روی عملکردهای شناختی، احتمالاً با افزایش حجم ماده خاکستری *prefrontal*، که به طور قابل توجهی با سطح فعالیت بدنی مرتبط است، نشان دهد (ویلیامز و همکاران، ۲۰۱۵). *GCSF* نورونز را القا می کند، بار $A\beta$ هیپوکامپ را کاهش می دهد و در نتیجه حافظه و مشخصات عصبی رفتاری را بهبود می بخشد. یک همبستگی معکوس بین *G-CSF* و آمیلوئید بتا ($A\beta$) در *AD* وجود دارد (۸).

در یک مطالعه مدل موش مبتلا به *AD* با از دست دادن حافظه ناشی از آمیلوئید بتا نشان داده شده است که فاکتور

D, A و E و علاوه بر این، کلسیم، سدیم، پتاسیم، مس، آهن، روی و منگنز مواد معدنی اصلی RJ هستند. علاوه بر این، RJ فعالیت‌های بیولوژیکی متنوعی از قبیل اثر فشار خون، عملکرد شبیه انسولین دارد. بنابراین، ممکن است که RJ تأثیراتی در مقاومت به انسولین داشته باشد که به عنوان علت اصلی DM در نظر گرفته می‌شود (۱۲).

با توجه به مطالب فوق و تاثیر منفی دیابت بر زندگی فردی و اجتماعی از یک طرف، تحمیل هزینه‌های درمانی زیاد بر فرد و جامعه از طرف دیگر و با توجه به اثبات تاثیر تمرین ورزشی بر دیابت و اثرات ضد اکسایشی ژل رویال، عدم وجود تحقیقی در رابطه با تاثیر تمرین و ژل رویال در رابطه با موضوع مورد نظر همچنین از آنجا که درک ارتباط بین تمرین ورزشی، ژل رویال و کاهش عوارض ناشی از دیابت مانند آلزایمر برای سلامت عمومی مفید خواهد بود. بنابراین هدف از پژوهش حاضر تعیین میزان تاثیر تمرین تناوبی و ژل رویال و همچنین تاثیر تعاملی این دو بر ژن‌های *BDNF*, *GCSF* در موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو بود.

روش کار

این تحقیق بر مبنای هدف از نوع توسعه‌ای، از نظر مدت اجرا مقطعی، از نظر محل اجرا آزمایشگاهی، از نظر زمان بررسی آینده نگر و از منظر روش، یک پژوهش نیمه تجربی محسوب می‌گردد. این پژوهش بنیادی آزمایشگاهی روی بدین منظور ۳۶ سر موش‌های صحرایی نر ویستار ۴ تا ۶ هفته‌ای با وزن 110 ± 20 گرم از موسسه رویان خریداری شده بود انجام شد. حیوانات در حیوان خانه آزمایشگاه رازی دانشگاه آزاد علوم تحقیقات در دمای 22 ± 2 درجه و رطوبت ۳۰ تا ۶۰ درصد در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دمای (22 ± 3) سانتی‌گراد، مستقر و نگهداری شدند. موش‌ها پس از دو هفته سازگاری با محیط و رسیدن به وزن 193 ± 20 گرم تحت رژیم پر چرب قرار گرفتند. لازم به ذکر است که تمام موش‌های مورد مطالعه در

شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دمای (22 ± 3) سانتی‌گراد، و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ۶۰ در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران نگهداری می‌شدند و بعد از آن به مدت ۵ ماه با رژیم پر چرب (45 تا 60 درصد چربی) خریداری شده از پژوهشکده زیست فناوری رویان تغذیه شدند. غذای پرچرب شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از روغن حیوانی (حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم) بود. رژیم پرچرب ۴۵ درصد به مدت سه ماه و رژیم پرچرب ۶۰ درصد به مدت دو ماه داده شد. در ضمن تمهیدات لازم برای حداقل آزار دیدن حیوان شامل استفاده کمتر از شوکر و تحریک حیوان، تعویض به موقع پوشال و قفس و همچنین تغذیه و آب به موقع، بودن تعداد مناسب سه یا چهار سر رت در هر قفس و فراهم کردن محیط آرام و مناسب در نظر گرفته شد. پس از آنکه موش‌ها چاق شده و به میانگین وزنی حدود 409 ± 50 گرم رسیدند. با استفاده از تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ در سرم فیزیولوژیک تزریق شدنی و به صورت داخل صفاقی (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دیابتی شدند. یک هفته پس از تزریق، گلوکز خون ناشتایی با ایجاد جراحت کوچک در دم رت‌ها و قرار دادن یک قطره خون روی نوار گلوکومتری توسط دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری شد. قندخون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بردسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت در نظر گرفته شد (۱۳).

در ادامه موش‌های دیابتی نوع دو به ۴ گروه کنترل دیابتی (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید (۱۰ سر)، ژل رویال (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۱۰ سر) طوری که میانگین وزنی آنها نزدیک به هم باشد تقسیم و در پژوهش شرکت داده شدند. که در پایان پروتکل ۲۹ سر در ۴ گروه کنترل دیابتی (۶ سر)، تمرین تناوبی شدید (۸)، ژل رویال (۷)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۸ سر)

با شیب صفر درصد با زمان ۱۰، ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند. برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل (۱۶) استفاده شد. برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی ($\dot{V}O_{2max}$) هر دو هفته یکبار موش‌ها در یک وهله تمرینی پس از پنج دقیقه گرم‌کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت دو دقیقه شروع به دویدن کردند و هر سه دقیقه سه متر در دقیقه به سرعت افزوده شد تا اینکه هرکدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد و سرعت حداکثر برای شدت تمرین بین ۸۰ تا ۹۵ درصد MERT لحاظ شد. خلاصه پروتکل در جدول ۱ آمده است (۱۷-۱۸).

باقی ماندند. در طی دوره آزمایش به موش‌های گروه ژل رویال، وگروه ژل رویال و تمرین تناوبی شدید، ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (100 mg/kg) رقیق شده در آب مقطر و به روش گاواژ ۵ روز در هفته قبل شروع تمرین خورانده شد (۱۴-۱۵).

برنامه تمرین تناوبی به صورت هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۳۰ تا ۳۶ متر در دقیقه (۸۰ تا ۹۵ درصد $\dot{V}O_{2max}$) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد $\dot{V}O_{2max}$) و زمان ۱۵ تا ۳۳ دقیقه به صورت دویدن روی تردمیل انجام شد؛ به طوری که زمان دویدن از ۱۵ دقیقه در هفته اول به ۳۳ دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت (جدول شماره ۱). رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت پنج متر در دقیقه

جدول ۱ - پروتکل تمرین تناوبی

زمان-کل (دقیقه)	15	21	27	33
شدت سردکردن-۵ دقیقه	10m/min	10m/min	10m/min	10m/min
شدت-تناوب استراحت	16 m/min (50%)	18 m/min (52%)	20 m/min (54%)	22 m/min (56%)
زمان-تناوب استراحت	1 min	1 min	1 min	1 min
سرعت تناوب شدید	30 m/min (80%)	32 m/min (85%)	34 m/min (90%)	36 m/min (95%)
زمان-تناوب شدید	2min	2min	2min	2min
تعداد تناوب شدید	2 interval	4 interval	6 interval	8 interval
شدت گرم‌کردن-۵ دقیقه	10m/min	10m/min	10m/min	10m/min
هفته	1&2.th	3&4.th	5&6.th	7&8.th

دقیقه در هفته اول به ۳۳ دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت (جدول شماره یک). رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت پنج متر در دقیقه با شیب صفر درصد با زمان ۱۰، ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند. برای تعیین

همچنین پروتکل تمرین تناوبی به صورت هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۳۰ تا ۳۶ متر در دقیقه (۸۰ تا ۹۵ درصد $\dot{V}O_{2max}$) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد $\dot{V}O_{2max}$) و زمان ۱۵ تا ۳۳ دقیقه به صورت دویدن روی تردمیل انجام شد؛ به طوری که زمان دویدن از ۱۵

سرعت حداکثر از پروتکل رودریگز و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. برای اندازه گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) به دلیل نبود دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش های انجام شده، پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد استفاده شد؛ به این ترتیب که هر دو هفته یکبار موش ها در یک تمرینی پس از پنج دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت دو دقیقه شروع به دویدن کردند و هر سه دقیقه سه متر در دقیقه به سرعت افزوده شد

تا اینکه هرکدام از موش ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می شد و سرعت حداکثر برای شدت تمرین بین ۸۰ تا ۹۵ درصد MERT لحاظ شد. خلاصه پروتکل در جدول شماره آمده است. با توجه به پژوهش های انجام شده، ارتباط زیادی بین سرعت نوارگردان و VO_{2max} رت ها وجود دارد ($r = 0.94-0.98, p < 0.05$)؛ از این رو می توان با توجه به سرعت دویدن، میزان VO_{2max} رت ها را برآورد کرد (۱۶-۱۸).

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی

هفته	شدت گرم کردن ۵ دقیقه	تعداد تناوب شدید	زمان تناوب شدید	سرعت تناوب شدید	زمان تناوب استراحت	شدت تناوب استراحت	شدت سرد کردن ۵ دقیقه	زمان کل (دقیقه)
1&2.th	10m/min	2 interval	2min	30 m/min (80%)	1 min	16 m/min (50%)	10m/min	15
3&4.th	10m/min	4 interval	2min	32 m/min (85%)	1 min	18 m/min (52%)	10m/min	21
5&6.th	10m/min	6 interval	2min	34 m/min (90%)	1 min	20 m/min (54%)	10m/min	27
7&8.th	10m/min	8 interval	2min	36 m/min (95%)	1 min	22 m/min (56%)	10m/min	33

در نهایت و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه های تجربی تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی موش ها توسط ماده بی هوشی اتر بی هوش و قربانی شدند. نمونه های خون از طریق خون گیری از قلب جمع آوری شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. (این گزارش بخشی از یک مطالعه مگا پروژه بوده و در نمونه های خون نیز شاخص های مختلفی مانند عوامل التهابی و آنتی اکسیدانی و آنزیم های کبدی و .. سنجیده شده آنچه در این مطالعه از اطلاعات نمونه خون گزارش شده گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت

به انسولین می باشد) بافت هیپوکامپ جهت مطالعه ی بیان ژن ها برداشته و پس از خروج از بدن موش، در داخل تانک ازت قرار گرفته و پس از جداسازی از نیتروژن مایع و در دمای ۸۰- °C در فریزر نگهداری شد. جهت اندازه گیری بیان ژن ها نیز از روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) با دستگاه Thermocycler شرکت Corbett مدل Rotor gene 6000 استفاده گردید. برای بررسی کمی و نسبی بیان ژن (داده های PCR) از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. طراحی پرایمر توسط ورژن ۳ نرم افزار

مرجع در نظر گرفته شد و در پایان محصول نهایی توسط الکتروفورز ژل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. (جدول ۲)

Primer express انجام گردید. در این پژوهش ژن آنزیم هیپوگزانتین فسفریبوزیل ترانسفراز (HPRT1) به عنوان

جدول ۲- مشخصات پرایمر ژن BDNF

Primer type	Sequence	Primer length bp	Product length	Melting Temperature (Tm)	GC Content (%)	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GGCCCAACGAAGAAAACCAT (5'→3')	20	104	59.03	50	4	2
Reverse primer	TTCCTCCAGCAGAAAGAGCA (3'→5')	20	104	58.94	50	5	1

جدول ۳- ژن مرجع

Gene type	Primer type	Sequence
HPRT1	Forward (5'→3')	GGACTGATTATGGACAGGACTG
	Reverse (3'→5')	GTAGATTTTATCAGACTGAAGAGC

معناداری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. از طریق نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

نتایج

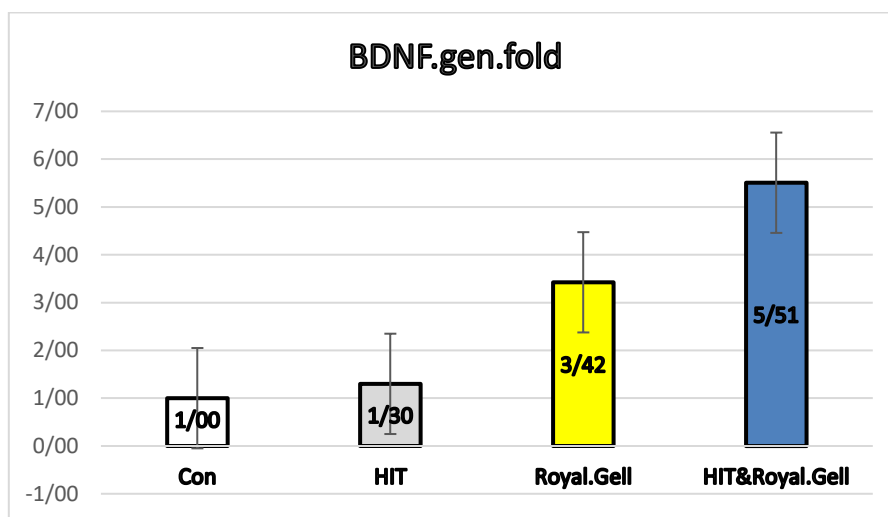
نتایج نشان داد که بیان ژن *BDNF* بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین و ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش و در گروه ژل رویال افزایش داشته است که تغییرات آن معنی‌دار است ($F=27.60, Sig=0.0001$). همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس دوعاملی نشان داد تاثیر انجام تمرین تناوبی ($p=0.006$) تاثیر ژل رویال ($p=0.0001$) و تعامل تمرین - ژل رویال ($p=0.035$) بر بیان ژن *BDNF* بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه

پس از اتمام پروتکل تمرین و تغذیه موش‌ها، پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌ها با اتر در شرایط بی‌دردی و بدون اختلالات دردناک و مزمن در حیوان، بی‌هوش و قربانی شدند و از قلب آن‌ها خون‌گیری شد و سپس بافت‌برداری انجام شد.

این پژوهش با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1402.292 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تأیید شد. نهایتاً بافت‌برداری و اندازه‌گیری بیان ژن بر اساس دستور العمل کیت استخراج استرا تک آلمان عمل انجام شد. در انتها از آمار توصیفی، آزمون شپرو ویلک، تحلیل واریانس یکطرفه و تعقیبی بنفرونی و تحلیل دو عاملی استفاده شد. در سطح

معنادار است. در ادامه نتایج آزمون تعقیبی نشان داد تغییرات بیان ژن *BDNF* بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین - ژل رویال و گروه ژل رویال نسبت به گروه کنترل و همچنین گروه

تمرین - ژل رویال و گروه ژل رویال نسبت به گروه تمرین معنی دار است. همچنین گروه تمرین - ژل رویال نسبت به گروه ژل معنی دار است (جدول ۴).



نمودار ۱- تغییرات بیان ژن *BDNF* بافت هیپوکمپ مغز در گروه های مختلف.

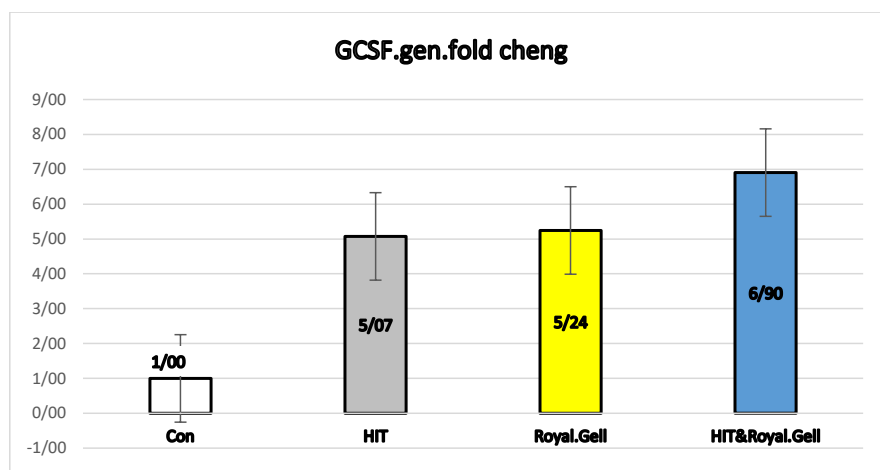
جدول ۴- نتیجه آزمون تعقیبی جهت مقایسه اثر تمرین HIIT و ژل رویال بر ژن *BDNF*

گروه	کنترل دیابتی	تمرین تناوبی	ژل رویال	تمرین و ژل رویال
کنترل دیابتی	M=۱		P=۰.۰۰۲	P=۰.۰۰۱
تمرین تناوبی		M=۱.۳	P=۰.۰۰۴	P=۰.۰۰۱
ژل رویال			M=۳.۴۲	P=۰.۰۰۷
تمرین و ژل رویال				M=۵.۵۱

یافته دیگر نشان داد که بیان ژن *GCSF* بافت هیپوکمپ مغز موش ها در گروه های تجربی تمرین و گروه ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش داشته که تغییرات آن معنی دار است ($F=14.26, Sig=0.0001$). همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس دوعاملی نشان داد تاثیر انجام تمرین تناوبی ($p=0.001$) تاثیر ژل رویال ($p=0.001$) معنادار و تعامل

تمرین - ژل رویال ($p=0.07$) بر بیان ژن *GCSF* بافت هیپوکمپ مغز گروه های مورد مطالعه معنادار نیست. تاثیر انجام تمرین تناوبی بر بیان ژن *GCSF* بافت هیپوکمپ مغز گروه های مورد مطالعه معنا دار است همچنین تاثیر ژل رویال بیان ژن *GCSF* بافت هیپوکمپ مغز گروه های مورد مطالعه معنا دار است و تاثیر تعاملی تمرین - ژل

رویال بیان ژن *GCSF* بافت هیپوکمپ مغز گروه های مورد مطالعه معنا دار نیست. اثر تمرین تناوبی بر بیان ژن *GCSF* بافت هیپوکمپ مغز از دیگر گروه ها بیشتر است.



نمودار ۲- تغییرات بیان ژن *GCSF* بافت هیپوکمپ مغز در گروه های مختلف.

جدول ۵ - نتیجه آزمون تعقیبی جهت مقایسه اثر تمرین HIIT و ژل رویال بر ژن *GCSF*

گروه	کنترل دیابتی	تمرین تناوبی	ژل رویال	تمرین و ژل رویال
کنترل دیابتی	M=۱	P=۰.۰۰۰۱	P=۰.۰۰۰۱	P=۰.۰۰۰۱
تمرین تناوبی		M=۵.۰۷		
ژل رویال			M= ۵.۲۴	
تمرین و ژل رویال				M=۶.۹

همچنین گروه تمرین - ژل رویال و گروه ژل رویال نسبت به گروه تمرین معنی دار است. همچنین گروه تمرین - ژل رویال نسبت به گروه ژل معنی دار بود.

نتایج برخی مطالعات نشان می دهد که فعالیت ورزشی باعث تولید سلول های مغزی جدید در ناحیه هیپوکامپ می-شود. در همین زمینه نتایج پژوهش عباسی و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعه ای تحت عنوان بررسی اثر ۶ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن عامل نوروتروفیک مشتق از مغز

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن *BDNF* بافت هیپوکمپ مغز موش ها در گروه های تجربی تمرین و ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش و در گروه ژل رویال افزایش داشته است که تغییرات آن معنی دار است ($F=27.60$, $Sig=0.0001$). نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد تغییرات بیان ژن *BDNF* بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین - ژل رویال و گروه ژل رویال نسبت به گروه کنترل و

(BDNF) در هیپوکامپ و میزان سرمی $TNF-\alpha$ موش های صحرایی نر ویستار، مشاهده کردند که وزن هیپوکامپ در گروه دیابت تناوبی شدید نسبت به گروه دیابت افزایش داشته است. همچنین وزن هیپوکامپ موش های صحرایی گروه تناوبی شدید در مقایسه با دیابت تناوبی شدید، تفاوت اندکی داشت. این پژوهشگران این چنین نتیجه گیری کردند که احتمالاً تمرین تناوبی شدید اثر عوامل نورون زایی را افزایش داده که از تحلیل و کاهش وزن هیپوکامپ حتی در شرایط دیابت تا حدی جلوگیری کرده است (۴). در پژوهش های دیگری (۱۹) نیز نشان داده شد تمرین تناوبی شدید سبب افزایش حجم سلول های عصبی در مغز و هیپوکامپ شده است. در نتیجه همان طور که در مطالعات ثابت شده است تمرین سبب افزایش فعالیت الکتریکی ناحیه هیپوکامپ شده و بدون تغییر در میزان آپوپتوزیس و یا کاهش آن (۹)، سبب افزایش چگالی نورونی هیپوکامپ می شود. بنابراین می توان گفت تمرین تناوبی شدید باعث افزایش عوامل رشد عصبی می شود و از کاهش وزن هیپوکامپ حتی در شرایط دیابت تا حدی جلوگیری می کند. BDNF یکی از عوامل اصلی است که فعالیت ورزشی مداومی طولانی مدت از طریق افزایش آن باعث اثرات مثبت بر مغز می شود. شواهد زیادی وجود دارند که اثرات مثبت فعالیت بدنی و ورزشی را بر روی مغز نشان داده اند. این تغییرات با عملکرد شناختی و رفتاری نیز مرتبط است. در ضمن بسیاری از بیماری ها مانند آلزایمر، اسکیزوفرنی و دیابت با سطوح BDNF مرتبط می باشند. یکی از سازوکارهای احتمالی برای افزایش BDNF، فعالیت ورزشی با شدت بالا می باشد. احتمال داده می شود فعالیت ورزشی طولانی مدت بیان BDNF در مغز را افزایش می دهد. تمرین HIIT از چند طریق بر تولید BDNF در مغز اثر می گذارد: نخست اینکه HIIT باعث افزایش فعالیت میتوکندری و غلظت ROS در نورون ها می شود که ROS باعث رونویسی و سیگنالینگ CREB-BDNF می شود. دوم اینکه HIIT

باعث افزایش غلظت یون کلسیم در نورون ها می شود که این وضعیت فعالیت CaMKII را افزایش می دهد و موجب سیگنالینگ MAPK ERK MSK برای فعال کردن رونویسی CREB-BDNF و پلاستیسیته عصبی می شود. همچنین کلسیم داخل سلولی می تواند تولید ROS را در نورون ها افزایش دهد. ROS قادر به فعال کردن رونویسی CREB-BDNF می شود. و در نهایت سوم اینکه HIIT غلظت لاکتات خون سیستمیک را افزایش می دهد و در نتیجه موجب تقویت فعالیت گیرنده NMDA برای افزایش غلظت یون کلسیم داخل سلولی در نورون می شود (۲۰).

در بررسی اثرات فعالیت های ورزشی بر سطوح سرمی و هیپوکامپی BDNF برخی مطالعات نشان می دهند فعالیت های ورزشی منجر به افزایش قابل توجه BDNF می شود. در یک مطالعه طی سی جلسه تمرین HIIT در مقایسه با پروتکل تمرین مداوم و گروه شاهد، سطح پروتئین BDNF در مغز به طور معنی داری افزایش یافت (۲۱). به طوری که محققین عنوان کردند که تعداد ۳۶ جلسه تمرین HIIT، سطح BDNF را افزایش و آسیب اکسایشی هیپوکامپ را کاهش می دهد (۲۲). در پژوهشی دیگر به بررسی شدت های مختلف تمرینات مقاومتی و هوازی بر بیان ژن BDNF در موش های آوارکتومی شده پرداختند که در تمرین شنا شدید افزایش یافت (۲۳). در پژوهش دیگری تمرین تناوبی شدید برای ۶ هفته و با شدت ۹۵ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی روی نوار گردان موجب افزایش محتوای BDNF و GDNF بافت مغز موش های صحرایی شد (۲۴). مطالعات مطرح شده همسو با نتایج پژوهش ما می باشد. و می توان دلیل این همسویی را شدت بالای تمرین و مدت زمان کوتاه تمرین عنوان کرد.

در پژوهشی دیگری که به بررسی سه جلسه تمرین شدید (۱۰×۶۰ درصد W_{max} ۵۰ وات ۶۰ ثانیه) و همچنین تمرین تداومی (۲۲ دقیقه ۷۰ درصد VO_{2max}) پرداخته

افزایش نوروزنزیس و کاهش آسیب اکسایشی در بافت مغزی شود. با کاهش عواملی همچون، استرس اکسیداتیو، التهاب و همچنین افزایش ترشح نوروتروفینها و نورونزایی، میتوان به آثار سودمند فعالیت ورزشی و ژل رویال در ساختار و عملکرد مغز، به خصوص هیپوکامپ دیابتی که در معرض آسیب است، دست یافت. با این حال پژوهشهای بسیاری لازم است تا نتایج فوق را در افراد دیابتی به اثبات برساند از این نوع تمرین در افراد مبتلا به دیابت برای بهبود عملکرد می توان استفاده کرد، اما قبل از شروع، باید افراد از تمرینات سبک شروع کنند تا به سطحی از آمادگی برسند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله حاضر اعلام می نمایند که هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

فهرست منابع

1. Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. Clinical science. 2013 Feb 1;124(3):139-52.
2. Dostar, Yousef; Mohajeri, Dariush; Rezaei, Ali. Effects of grape seed extract on cardiac cell apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Medical Sciences of Islamic Azad University. 2016, 21(3): 168-174.
3. Varseth, Abdolreza; Jafari, Anarkoli; Sankian, Mojtaba; Ahmadpour, Shahrar; Haghir, Hossein; Benekdaran, Shokofeh. Study of the effects of insulin and ascorbic acid on the expression of Bcl-2 family genes in the hippocampus of streptozocin-induced diabetic rats. Scientific Research Journal of Zanjan University of Medicine. 2007, 15(6): 1-16.
4. Abbasi, Shaghayegh; Khalidi, Neda; Askari, Hossein. Intense interval training increases hippocampal BDNF gene expression and reduces serum TNF-a levels in diabetic rats. Medical Journal of Tabriz

شد که نشان داده شد در هر دو شدت تمرین میزان BDNF به طور قابل توجهی کاهش می یابد یا بدون تغییر بوده است (۲۵)، که ناهمسو با نتایج ما می باشد و علت آن زمان طولانی با شدت بالا و برنامه تمرینی استرسزا که شاید موجب کاهش آثار سودمند تمرین می شود عنوان شد.

نتیجه گیری

به طور کلی با توجه به نتایج تحقیق می توان نتیجه گرفت که تمرینات تناوبی شدید و ژل رویال اثر معنی داری بر بیان ژن BDNF و G-CSF در هیپوکمپ دارند. تمرین تناوبی شدید میتواند از تحلیل بافت هیپوکامپ که بر اثر دیابت اتفاق می افتد، جلوگیری کند و ژل رویال هم به دلیل ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی و نیز نقش های متعدد آنتی اکسیدانی و ضد التهابی موجب

University of Medical Sciences and Health Services. 2019, 42: 593-600.

5. Eizadi M, Soory R, Ravasi A, Baesy K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 relative expression in pancreas tissue with changes in insulin by high intensity interval training (HIIT) in type 2 diabetes rats. SSU_Journals. 2017 Mar 15;24(12):981-93.
6. Segal E, Shapira M, Regev A, Pe'er D, Botstein D, Koller D, Friedman N. Module networks: identifying regulatory modules and their condition-specific regulators from gene expression data. Nature genetics. 2003 Jun 1;34(2):166-76.
7. Huynh, K., Bernardo, C.B., McMullen, J.R., Ritchie, R.H. (2016). Diabetic cardiomyopathy: Mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. Pharmacology & Therapeutics, 142, 375-415.
8. Williams ED, Tapp RJ, Magliano DJ, Shaw JE, Zimmet PZ, Oldenburg BF. Health behaviours, socioeconomic status and diabetes incidence: the Australian Diabetes Obesity and Lifestyle Study (AusDiab). Diabetologia. 2010 Dec;53(12):2538-45.

9. Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, Kim JS, Heo S, Alves H, White SM, Wojcicki TR. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings of the national academy of sciences*. 2011 Feb 15;108(7):3017-22.
10. Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. *Razi Journal Of Medical Sciences* . 2021;27(10):135-150.
11. Khazaei M, Ansarian A, Ghanbari E. New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly: a review. *Journal of dietary supplements*. 2018 Sep 3;15(5):757-75.
12. Etemad Z, Zahli Sh. The effect of aerobic exercise and royal jelly supplementation on some inflammatory markers in overweight women. *Disability Studies* . 1400;11(1 (serial 19)):0-0.
13. Zou F, Mao XQ, Wang N, Liu J, Ou-Yang JP. Astragalus polysaccharides alleviates glucose toxicity and restores glucose homeostasis in diabetic states via activation of ampk. *Acta Pharmacol Sin*. 2009; 30:1607-15.
14. Baburao Waykar B. and Alqadhi YA, Administration of Honey and Royal Jelly Ameliorate Cisplatin Induced Changes in Liver and Kidney Function in rats. *Biomed Pharmacol J*. 2018; 11(4):2191-2199.
15. Asgari M, Asle-Rousta M, Sofiabadi M, Effect of Royal Jelly on Blood Glucose and Lipids in Streptozotocin Induced Type 1 Diabetic Rats. *Arak Med Uni J*. 2017; 20(122): 48-56.
16. Erickson, K. I., Voss, M. W., Prakash, R. S., Basak, C., Szabo, A., Chaddock, L., ... & Kramer, A. F. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings of the national academy of sciences*. 2011; 108(7), 3017-3022.
17. Akbarzadeh A, Fattahi bafghi A. The effect of high intencity interval training combined with curcumin supplementation on Plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. *JSSU*. 2018;25(12):961-9. (In Persian).
18. Rezaei R, Norshahi M, Bigdeli MR, Khodaghohi F, Haghparast A. Effect of eight weeks of continuous and interval intense aerobic exercise on VEGFR-2 and VEGF-A values in the brain tissue of wistar rats. *Journal of Exercise Physiology and Physical Activity*. 2015;8(2):1213-21.
19. Schmidt-Kassow, M., Deusser, M., Thiel, C., Otterbein, S., Montag, C., Reuter, M., ... & Kaiser, J. Physical exercise during encoding improves vocabulary learning in young female adults: a neuroendocrinological study. 2013, 8(5), e64172.
20. Jiménez-Maldonado, A., Rentería, I., García-Suárez, P. C., Moncada-Jiménez, J., & Freire-Royes, L. F. The impact of high-intensity interval training on brain derived neurotrophic factor in brain: a mini-review. *Frontiers in neuroscience*. 2018; 12, 839.
21. Afzalpour, M. E., Chadorneshin, H. T., Foadoddini, M., & Eivari, H. A. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiology & behavior*. 2015; 147, 78-83.
22. Freitas, D. A., Soares, B. A., Nonato, L. F., Fonseca, S. R., Martins, J. B., Mendonça, V. A., ... & Leite, H. R. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiology & behavior*. 2018; 184, 6-11.
23. Fanaei, H. Effect of Resistance and Aerobic Exercises with Different Intensities on BDNF & TrkB Receptor Gene Expression

in Ovariectomized Mice. *Complementary Medicine Journal*. 2018; 8(2), 2304-2316.

24. Foadoddini, M., Afzalpour, M. E., TaheriChadorneshin, H., & Abtahi-Eivary, S. H. Effect of intensive exercise training and vitamin E supplementation on the content of rat brain neurotrophic factors. *Iran Red Crescent Med J*. 2018; 20(2), e57298.

25. Skandari, M., Nazemzadegan, G. H., Daryanosh, F., Samadi, M., Honarpisheh, S., & Hasanpor, M. (2016). Comparative effect of single bout of continuous endurance and high intensity interval exercise on serum BDNF in rat. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2016; 20(2), 141-146.



The effect of high-intensity interval training combined with royal jelly on BDNF and G-CSF genes expression in the hippocampus of type 2 diabetic male rats

Leila Marefat¹, Hossein Abed natanzi², Mandana Gholami³, Farshad Ghazalian⁴

1- Ph.D. Student in Exercise Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran . Corresponding Author : abednazari@gmail.com

3- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4- Associate Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received:2025.05.17

Accepted: 2025.09.02

Abstract

Background & Objective: Type 2 diabetes is the most common endocrine disease that occurs due to glucose intolerance due to an imbalance between insulin stores and demand. The aim of the present study was to explain the effect of intense interval training combined with royal jelly consumption on the expression of BDNF and GCSF genes in the hippocampus of male type 2 diabetic rats.

Materials & Methods: To conduct the present experimental and applied research, 36 male Wistar rats aged 4 to 6 weeks with a weight of (110±20 g) were selected as samples and fed a high-fat diet (45 to 60% fat) for 5 months. After reaching an average weight of about 409±50 g, they were made diabetic using STZ at a low dose of 25 mg/kg body weight by intraperitoneal injection. Then they were divided into 4 groups (diabetic control, intense interval training, royal jelly, and training-royal jelly). After treatment, the mice were dissected and the expression levels of the genes were examined with Real-Time PCR.

Results: The results showed that the expression of BDNF and G-CSF genes in the hippocampal tissue in the exercise, royal jelly and exercise-royal jelly groups increased significantly (P=0.0001).

Conclusion: Increased expression of BDNF and G-CSF in hippocampal cells can increase tissue plasticity and play an important role in the process of improving memory performance. And considering the effect of royal jelly and exercise in increasing these two factors, we may expect that continuous exercise and consumption of royal jelly can improve memory performance and prevent dementia.

Keywords: Intense interval training, royal jelly, type 2 diabetes, BDNF, G-CSF.