

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

Leila Mokhtari, Tahereh Bagherpour\*, Nematollah Nemati

Ph.D Student, Department of Sports Physiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Department of Sports Physiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran\*

Department of Sports Physiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Received: 08 January 2024; Accepted: 26 April 2024, Published: 18 June 2024

---

## Abstract

**Introduction:** Oxidative stress plays an important role in the progression of Alzheimer's disease (AD). Although the favorable effects of exercise and antioxidants on neuronal health has been reported. But their simultaneous effect is not well known. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of eight weeks of resistance training (RT) along with royal jelly (RJ) on Malondialdehyde (MDA), Protein Carbonylate (PC) and the pathological changes in the hippocampal tissue of Alzheimer's rats treated with trimethyltin (TMT).

**Methods:** In this experimental study, 49 male Sprague-Dawley rats treated with 8 mg/kg TMT were divided into TMT, Sham, RJ100, RJ200, RT, RT+RJ100 and RT+RJ200 groups. Also, to investigate the effect of disease induction on the variables, 7 rats were included in the healthy control group (HC). Supplemental groups received RJ with doses of 100 and 200 mg/kg/day as peritoneal injection, and the increasing RT protocol was performed for 8 weeks, 3 sessions a week with an intensity of 30 to 100% of the weight. In the present study, MDA and PC were measured by ELISA method and pathology examination was done using hematoxylin-eosin method. Also, one-way analysis of variance with *Tukey's post hoc* test was used for data analysis in SPSS26 software ( $P \leq 0.05$ ).

**Results:** MDA, PC in TMT group were significantly higher than HC group. But MDA and PC in RT+RJ200 group were lower than TMT group ( $P \leq 0.05$ ). Also, PC in RT group was significantly lower than TMT. MDA in RJ200 group were lower than TMT; PC values in RJ100 group was significantly lower than TMT ( $P \leq 0.05$ ). The reducing effect of PC in RJ100 group was more favorable than RJ200 ( $P \leq 0.05$ ). Also, the effect of reducing MDA in the RT+RJ200 group was more favorable than the RT+RJ100 group ( $P \leq 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that resistance training and royal jelly have favorable effects on reducing oxidative stress. But the simultaneous effect of these two interventions, especially with a higher dose, has a more favorable effect on reducing oxidative stress in the hippocampus tissue in AD modeling conditions.

**Keywords:** Resistance Training, Royal Jelly, Oxidative Stress, Hippocampus, Alzheimer's disease

---

<sup>1</sup>. Corresponding author:

Tahereh Bagherpour:

Address: Department of Sports Physiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan

Tel: 0912643971

Email: Bagherpour\_ta@yahoo.com

## اثر هشت هفته تمرین مقاومتی همراه با ژل رویال بر تغییرات پاتوفیزیولوژی بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی آلزایمری شده با تری‌متیل‌تین

لیلا مختاری<sup>۱</sup>، طاهره باقرپور<sup>۲\*</sup>؛ نعمت اله نعمتی<sup>۲</sup>

دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران  
استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۶، تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۳/۲۹

### چکیده

**مقدمه:** استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پیشبرد بیماری آلزایمر (AD) دارد. اگرچه نقش مطلوب ورزش و آنتی‌اکسیدان‌ها بر سلامت نورونی گزارش شده است. اما اثر همزمان آنها به خوبی شناخته نشده است. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین مقاومتی (RT) همراه با ژل رویال (RJ) بر مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، پروتئین کربونیل (PC) و بر تغییرات پاتولوژی بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی آلزایمری شده با تری‌متیل‌تین (TMT) بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۴۹ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ - داوولی آلزایمری شده با ۸ TMT mg/kg گروه‌های TMT، Sham، RJ100، RJ200، RT، RJ100 و RT+RJ200 تقسیم شدند. همچنین جهت بررسی اثر القا بیماری بر متغیرها تعداد ۷ سر موش صحرایی در گروه کنترل سالم (HC) قرار گرفتند. گروه‌های مکمل RJ را با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg/day به صورت تزریق صفاقی دریافت کردند و پروتکل RT فزاینده برای ۸ هفته، ۳ جلسه در هفته با شدت ۳۰ تا ۱۰۰ درصد وزن انجام شد. در تحقیق حاضر MDA و PC با روش الایزا اندازه‌گیری شد و بررسی پاتولوژی با استفاده از روش هماتوکسیلین-ئوزین انجام شد. همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه همراه با آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار SPSS26 استفاده شد ( $P \leq 0.05$ ).

**نتایج:** مقادیر PC، MDA در گروه TMT به طور معنی‌داری بیشتر از گروه HC بود. ولی MDA و PC در گروه RT+RJ200 کمتر از گروه TMT بود ( $P \leq 0.05$ ). همچنین PC در گروه RT به طور معنی‌داری کمتر از TMT بود. همچنین مقادیر MDA در گروه RJ200 کمتر از TMT بود و مقادیر PC در گروه RJ100 به طور معنی‌داری کمتر از TMT بود ( $P \leq 0.05$ ). اثر کاهنده PC در گروه RJ100 به مراتب مطلوب‌تر از RJ200 بود ( $P \leq 0.05$ ). همچنین اثر کاهنده MDA در گروه RT+RJ200 به مراتب مطلوب‌تر از گروه‌های RT+RJ100 بود ( $P \leq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی و ژل رویال اثرات مطلوبی بر کاهش استرس اکسیداتیو دارند. اما اثر همزمان این دو مداخله به ویژه همراه با دوز بالاتر اثر مطلوب‌تری بر کاهش استرس اکسیداتیو در بافت هیپوکامپ در شرایط مدل‌سازی AD دارد.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین مقاومتی، ژل رویال، استرس اکسیداتیو، هیپوکامپ، بیماری آلزایمر

<sup>۱</sup> نویسنده مسوول:

طاهره باقرپور

آدرس: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان

تلفن: ۰۹۱۲۶۴۳۹۷۱

ایمیل: Bagherpoor\_ta@yahoo.com

## مقدمه

بیماری آلزایمر<sup>۱</sup> (AD) از شایع‌ترین بیماری‌های عصب شناختی یا زوال عقل است که با تغییرات اساسی در مغز، اختلال در آمیلوئید بتا<sup>۲</sup> (A $\beta$ ) و پلاک‌های آمیلوئیدی خارج سلولی نشان داده می‌شود. اطلاعات نشان می‌دهد که بیش از ۵۷ میلیون نفر در سراسر جهان از این بیماری رنج می‌برند که قشر قابل توجهی از این افراد سالمند هستند (۱). از بین عوامل آسیب‌های پاتولوژی موثر بر بروز این بیماری، استرس اکسیداتیو سهم بسیاری در پیشبرد این بیماری دارد. به گونه‌ای که مطالعات نشان می‌دهند با افزایش سن، کاهش کارایی متابولیکی، کاهش کارایی میتوکندریایی گونه‌های فعال اکسیژن / نیتروژن<sup>۳</sup> (RO/NS) منجر به ایجاد رادیکال‌های آزاد مانند هیدروژن اتمیک (H\*)، سدیم اتمیک (Na\*)، افزایش سوپراکسید آنیون (-O<sub>2</sub>\*)، رادیکال هیدروکسیل (OH\*) و نیتریک اکساید (NO\*) می‌گردند (۲). در ادامه افزایش رادیکال‌های آزاد موجب برهم خوردن تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها شده و با همکاری A $\beta$  در شکنج‌های نورونی منجر به تخریب پروتئین‌ها، تولید پروتئین کربونیل<sup>۴</sup> (PC) و تخریب چربی‌های ساختاری مانند مالون دی آلدئید<sup>۵</sup> (MDA) در نورون‌ها می‌شوند (۳). در ادامه این روند به اختلال در میتوکندری، افزایش بیان ژن‌های پیش آپوپتوزی و آپوپتوزی در قسمت‌های مختلف بافت مغز از جمله هیپوکامپ می‌گردند و در نهایت کاهش تعداد سلول‌های سالم در بافت مغز می‌شوند (۴).

با توجه به شیوع روز افزون این بیماری و آسیب‌های ناشی از آن روش‌های درمانی به عنوان چالشی برای محققین این حوزه تبدیل شده است. یکی از مداخله‌هایی که از سوی محققین توصیه شده است انجام تمرینات ورزشی منظم است. فعالیت‌های بدنی منظم می‌توانند اثرات مطلوبی بر عملکرد شناختی و جسمی در شرایط بیماری AD داشته باشند (۵). به گونه‌ای که فعالیت‌های ورزشی می‌توانند با بهبود عملکرد جسمی و روانشناختی (۵)، بهبود بیان برخی نوروتروفین‌ها، بهبود اضطراب، افسردگی موثر باشند (۶). همچنین در مطالعه‌ای نتایج نشان داد ورزش منظم موجب افزایش نوروتروفین‌ها، افزایش فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز<sup>۶</sup> (PI3K) و فعال‌سازی عامل رونویسی هسته‌ای متصل به اریترئوئید<sup>۷</sup> (NRF2) می‌شود و در نهایت به افزایش رونویسی از سوپراکسید دیسموتاز<sup>۸</sup> (SOD)، گلوکوتاتیون پراکسیداز<sup>۹</sup> (GPx) و کاتالاز می‌گردد (۷). همچنین یک مطالعه متا آنالیز نشان داد که تمرینات ورزشی هشت هفته‌ای منجر به افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن در بافت مغز جوندگان می‌شود (۸). در مطالعه‌ای دیگر هشت هفته تمرین هوازی موجب افزایش SOD، NRF2، Cat و PI3K در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی آلزایمری شده با تری‌متیل‌تین کلراید<sup>۹</sup> (TMT) شد (۹). اما در یک مطالعه متا آنالیز که بر روی نمونه‌های انسانی انجام شد؛ محققین نشان دادند که تمرین هوازی و تمرین مقاومتی با شدت پایین در بهبود عملکرد شناختی اثر مطلوب دارند. اما تفاوت معنی‌داری در پراکسیداسیون لیپیدی در بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد (۱۰). علاوه بر فعالیت بدنی، رژیم غذایی مناسب و سرشار از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در بهبود سلامت جسمی و روانشناختی موثر باشند.

<sup>1</sup> Alzheimers disease

<sup>2</sup> Amyloid beta

<sup>3</sup> Reactive oxygen and nitrogen species

<sup>4</sup> Protein carbonyl

<sup>5</sup> Malondialdehyde

<sup>6</sup> Phosphoinositide 3-kinases

<sup>7</sup> Nuclear factor erythroid 2-related factor 2

<sup>8</sup> Superoxide dismutase

<sup>9</sup> Glutathione peroxidase

<sup>1</sup> Trimethyltin chloride

یکی از این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ژل رویال<sup>۱</sup> (RJ) است. RJ ماده زرد رنگ و غنی از آنتی‌اکسیدان‌هایی است که از غدد تحت فکی زنبور عسل کارگر ترشح می‌شود (۱۱). اطلاعات نشان می‌دهد که RJ با مکانیسم بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و بهبود PI3K/NRF2 می‌تواند در بهبود عملکرد آنتی‌اکسیدانی موثر باشد (۱۲). در این زمینه رئوفی و همکاران نشان دادند که ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg RJ می‌تواند موجب کاهش مقادیر MDA،  $A\beta$ ، افزایش (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام)<sup>۲</sup> (TAC)، بهبود حافظه احترازی در رت‌های آلزایمری شده با  $A\beta$  می‌گردد و تفاوت معنی‌داری بین دو دوز مصرفی مشاهده نشد (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر محققین نشان دادند که RJ ۳۰۰ mg/kg/bw موجب افزایش GSH، عامل نروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، SOD، کاهش MDA و کاسپاز ۳ در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در معرض اکریل‌آمید گردید (۱۴). علیرغم بررسی‌ها اطلاعات در ارتباط با تاثیر همزمان تمرین مقاومتی (RT) و RJ بر تغییرات پاتوفیزیولوژی بافت مغز متعاقب القا بیماری با TMT محدود است. اما در این زمینه مطالعه قبلی ما نشان داد که در گروه RT+RJ مقادیر Cat و GPx بیشتر از گروه TMT بود (۱۵). همچنین ترکیب RT و RJ با دوزهای متفاوت ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg توانست موجب افزایش پیش‌ساز عامل رشد عصبی<sup>۳</sup> (NGF) و P75 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به AD گردد. هر چند تاثیر تمرین با دوز بالاتر مطلوب‌تر از سایر گروه‌ها بود (۱۶). بنابراین به نظر می‌رسد برای کسب اطلاعات بیشتر در زمینه تاثیر تمرین مقاومتی بر نشانگرهای اکسیدانی و تغییرات پاتولوژی که از محدودیت‌های مطالعه پیشین ما بود انجام این مطالعه را ضروری نمود. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی اثر همزمان RT و RJ با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg بر MDA، PC و تغییرات پاتولوژی بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی آلزایمری شده با TMT بود.

## روش‌ها

### تهیه و نگهداری حیوانات

در این مطالعه تجربی با طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ-داولی با سن تقریبی ۸-۱۰ هفته و وزن  $20 \pm 220$  گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه و به مدت یک هفته در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانی این واحد دانشگاهی جهت سازگاری با محیط نگهداری شدند. این نکته قابل ذکر است که در تمام دوره تحقیق نکات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مانند نور (چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعت به ۱۲ ساعت)، دما (۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد)، رطوبت (۵۵ تا ۶۰ درصد)، دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش‌های صحرایی، تعویض به موقع بستر حیوانات، حمل مناسب بر اساس معاهده هلسینکی و تحت نظر کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت با کد مصوب IR.IAU.REC.1400.009 رعایت شد.

### القا بیماری و گروه‌بندی

در ادامه ۴۹ سر موش صحرایی پس از بی‌هوشی با کتامین و زایلازین تحت تزریق صفاقی ۸ mg/kg نورتوکسین TMT کلراید تهیه شده از شرکت سیگما آلدردیج با کد اقتصادی (Cat No:146498) قرار گرفتند. پس از گذشت ۱۴ روز و پیگیری علائم بالینی بیماری مانند خونریزی اطراف چشم، پرخاشگری و نا آرامی، پیچ و تاب‌های دمی، عدم تعادل در راه رفتن ۴۸ سر موش صحرایی با

<sup>1</sup> Royal jelly

<sup>2</sup> Total Antioxidant Capacity

<sup>3</sup> Nerve growth factor

علائم ذکر شده وارد گروه‌های تحقیق شدند (Hosseini, 2020). در ادامه موش‌های صحرايي مبتلا به AD به گروه‌های (۱) کنترل (TMT)، (۲) تمرین مقاومتی (RT) (۳) تمرین مقاومتی + مصرف ژل رویال ۱۰۰ mg/kg (RT+RJ100)، (۴) تمرین مقاومتی + مصرف ژل رویال ۲۰۰ mg/kg (RT+RJ200)، (۵) مصرف ژل رویال ۱۰۰ mg/kg (RJ100)، (۶) مصرف ژل رویال ۲۰۰ mg/kg (RJ200) و (۷) گروه شم (Sh) (مبتلا به بیماری آلزایمر و تزریق درون صفاقي حلال ژل رویال یا نرمال سالین جهت بررسی اثر القا استرس تزریق و حلال ژل رویال بر متغیرهای تحقیق) تقسیم شدند. همچنین برای بررسی اثر القا بیماری بر متغیرهای تحقیق تعداد ۷ سر موش صحرايي در گروه کنترل سالم (HC) قرار گرفتند.

### پروتکل تمرین مقاومتی

ابتدا برای آموزش به مدت یک هفته موش‌های صحرايي روزانه بر روی پله مقاومتی به ارتفاع ۱ متر، ۲۵ پله، فاصله بین هر پله ۴ سانتی‌متر و شیب قائم قرار داده شدند تا بدون اتصال وزنه ۵ تکرار را انجام دهند. در زمان آموزش برای یادگیری تمرین در صورت بالا نرفتن از پله از فشار همزمان دم و ضربه با یک میله فلزی به بدنه پله استفاده شد. و در روزهای تمرین عمل فشردن حذف و فقط ضربه به میله انجام می‌شد. سپس برنامه تمرین اصلی که شامل هشت هفته تمرین مقاومتی بود انجام شد. تمرین اصلی بدین صورت بود که موش‌های صحرايي هر هفته وزن کشی می‌شدند، سپس در هفته اول موش‌های صحرايي تمرین را با ۳۰ درصد از وزن بدن انجام دادند و به ازای هر هفته ۱۰ درصد به وزنه‌ها اضافه می‌شد تا در هفته هشتم شدت تمرین به ۱۰۰ درصد وزن موش‌های صحرايي برسد. به عبارتی در هفته اول موش‌های صحرايي وزنه معادل ۳۰ درصد وزن بدنشان، در هفته دوم ۴۰ درصد، در هفته سوم ۵۰ درصد، در هفته چهارم ۶۰ درصد، در هفته پنجم ۷۰ درصد، در هفته ششم ۸۰ درصد، در هفته هفتم ۹۰ درصد و در هفته هشتم ۱۰۰ درصد از وزن بدنشان را حمل می‌کردند. همچنین موش‌های صحرايي وزنه‌ها را در ۴ ست (ست اول ۵۰ درصد وزنه مورد نظر در همان هفته، ست دوم ۷۵ درصد، ست سوم ۹۰ درصد و ست چهارم ۱۰۰ درصد وزنه مورد نظر را بالا می‌بردند) هر ست در دو تکرار انجام می‌شد. فاصله بین هر تکرار ۳۰ تا ۶۰ ثانیه و فاصله بین هر ست ۱ الی ۲ دقیقه در نظر گرفته شد (Dehghan, ۲۰۱۶).

### مصرف ژل رویال

در این تحقیق ابتدا ژل رویال بومی و مورد تایید مرکز جهاد کشاورزی شهرستان مرودشت تهیه گردید. در ادامه با توجه به تعداد رت‌ها روزانه ۹۲۴ میلی‌گرم ژل رویال تازه از دمای ۲ تا ۶ درجه سانتی‌گراد خارج می‌شد. این مقدار ژل رویال با ۶/۳ سی سی نرمال سالین به طور دقیق حل می‌شد و در ادامه به هر موش‌های در گروه‌های RJ100 و RT+RJ100 روزانه ۱۵ واحد بین المللی از محلول و به گروه‌های RJ200 و RT+RJ200 روزانه ۳۰ واحد بین المللی RJ تزریق می‌شد (Arzi, ۲۰۱۵).

### تشریح و بافت برداری

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و مکمل دهی به منظور رفع اثر حاد تمرین و مکمل، در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌های صحرايي تحت تزریق کتامین (۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ساخت شرکت آلفاسان هلند قرار گرفتند. پس از اطمینان از بی‌هوشی با تست‌های فشردن دم و لمس شکم موش‌های صحرايي ابتدا بی‌حرکت شدند. سپس با شکافتن جمجمه با استفاده از کاتر ویژه و استخراج مغز، بافت هیپوکامپ به دقت از مغز جدا شد. تعداد دو نمونه در هر گروه برای ارزیابی

پاتولوژی در محلول فرمالدئید ۱۵ درصد قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت محلول بافر فرمالدئید دوباره تعویض شد. تا برای بررسی روش هماتوکسیلین ائوزین مورد استفاده قرار گیرد. همچنین تعداد ۵ نمونه در هر گروه در میکروتیوپ‌های ویژه نگهداری بافت قرار داده شدند و بلافاصله در دمای ۸۰- نگهداری شدند تا در فرصت مناسب متغیرهای PC و MDA در آنها ارزیابی شود.

### روش اندازه‌گیری متغیرها

جهت اندازه‌گیری مقادیر PC و MDA از روش الیزا و با استفاده از کیت‌های ویژه آن و روش‌های موجود در بروشور ارائه شده در کیت اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری PC با استفاده از کیت الیزا شرکت کیازیست کشور ایران با کد اقتصادی KCAR-96 با حساسیت  $0.15 \text{ nmol/1mg}$  اندازه‌گیری شد. همچنین برای اندازه‌گیری MDA از کیت ZellBio ساخت کشور آلمان با کد اقتصادی CAT No. ZB-MDA-96A و حساسیت  $0.1$  میکرومولار در بافت هیپوکامپ اندازه‌گیری شد.

### روش هماتوکسیلین ائوزین

برای این منظور ابتدا بافت‌های مورد نظر ابتدا پس از شست و شو و تثبیت بافت در الکل به مدت ۱۰ دقیقه بلوک‌های پارافینی از بافت به ضخامت ۵ میکرومتر جدا شد. در ادامه بافت‌های مورد نظر بر روی لام‌های ویژه قرار گرفتند و سپس رنگ‌های هماتوکسیلین و ائوزین به بافت اضافه شد. در ادامه بافت‌های مورد نظر با استفاده از میکروسکوپ Olympus-BH2, Japan با بزرگنمایی ۴۰ برابر مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفتند و تغییرات ساختاری بافت هیپوکامپ مشاهده شد.

### روش آماری

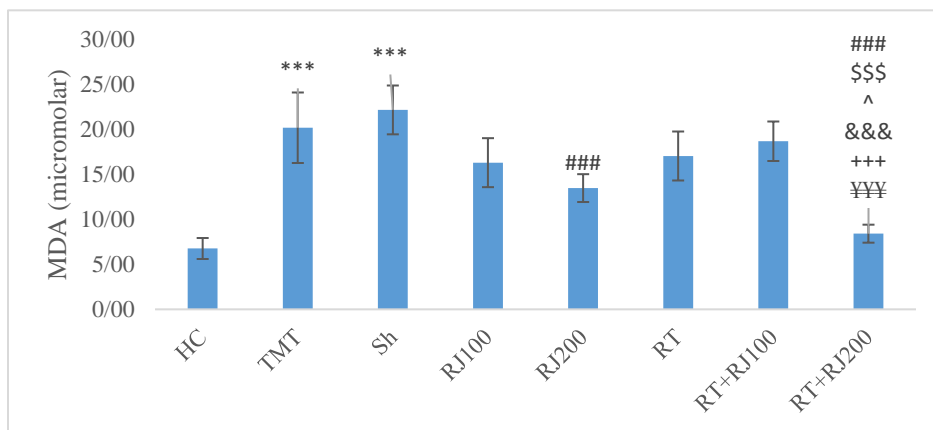
در این تحقیق در بخش آمار توصیفی از میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. همچنین با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه استفاده شد. و برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تحلیل داده‌های این تحقیق در نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ و در سطح معنی‌داری  $0.05$  انجام شده است.

### نتایج

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقادیر MDA ( $P=0.001$  و  $F=30.61$ ) و PC ( $P=0.001$ ) و  $F=99.74$  در گروه‌های تحقیق وجود دارد.

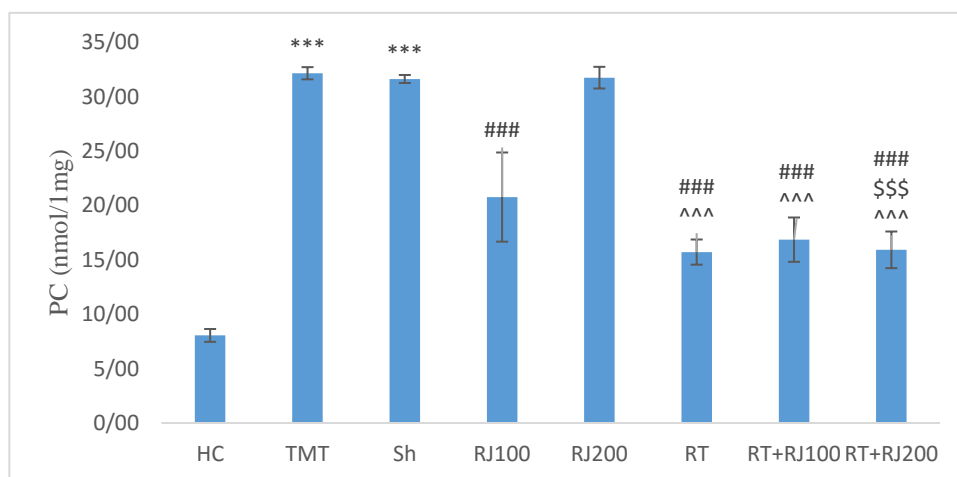
نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد مقادیر MDA در گروه TMT به طور معنی‌داری بیشتر از گروه HC بود ( $P=0.001$ ). همچنین تفاوت معنی‌داری در گروه‌های TMT و Sh مشاهده نشد ( $P=0.14$ ). اما در گروه‌های RJ200 ( $P=0.001$ ) و RT+RJ200 ( $P=0.001$ ) به طور معنی‌داری کمتر از گروه TMT بود. همچنین در گروه RT+RJ200 به طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های RJ100 ( $P=0.001$ )، RJ200 ( $P=0.017$ )، RT ( $P=0.001$ )، RT+RJ100 ( $P=0.001$ ) و RT+RJ100 ( $P=0.013$ ) بود (نمودار ۱).

مقادیر PC در گروه TMT به طور معنی‌داری بیشتر از گروه HC بود ( $P=0/001$ ). تفاوت معنی‌داری در دو گروه TMT و Sh مشاهده نشد ( $P=0/99$ ). اما در گروه‌های RJ100 ( $P=0/001$ )، RT ( $P=0/001$ )، RT+RJ100 و RT+RJ200 ( $P=0/001$ ) به طور معنی‌داری کمتر از گروه TMT بود. مقادیر PC در گروه RJ100 به طور معنی‌داری کمتر از گروه RJ200 بود ( $P=0/001$ ). در حالی که در گروه RT+RJ200 به طور معنی‌داری کمتر از گروه RJ100 بود ( $P=0/001$ ). همچنین در گروه‌های RT ( $P=0/001$ )، RT+RJ100 ( $P=0/001$ ) و RT+RJ200 ( $P=0/001$ ) به طور معنی‌داری کمتر از گروه RJ200 بود (نمودار ۲).



نمودار ۱. مقادیر MDA در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرائی در گروه‌های تحقیق

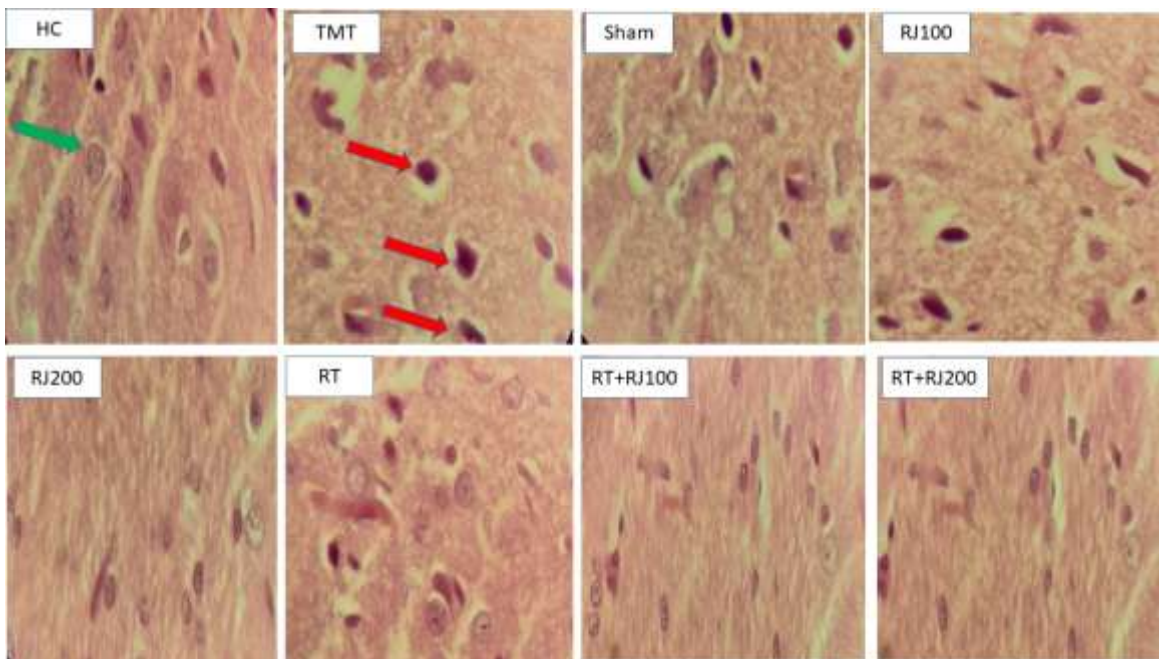
\*\*\* ( $P=0/001$ ) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه HC؛ ### ( $P=0/001$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه TMT؛ \$\$\$ ( $P=0/001$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه RJ100؛ ^ ( $P=0/05$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه RJ200؛ &&& ( $P=0/001$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه RT؛ YYY ( $P=0/001$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه RT+RJ100



نمودار ۲. مقادیر PC در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرائی در گروه‌های تحقیق

\*\*\* ( $P=0/001$ ) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه HC؛ ### ( $P=0/001$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه TMT؛ \$\$\$ ( $P=0/001$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه RJ200؛ ^^^ ( $P=0/001$ ) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه RJ100





شکل ۱. تصویر پاتولوژی به روش H&E در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق

در این تصویر پیکان قرمز رنگ نشان دهنده سلول آسیب دیده و پیکان سبز رنگ نشان دهنده سلول سالم است. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که القا بیماری آلزایمر با TMT موجب کاهش تعداد سلول‌های سالم شد. در حالی که در سایر گروه‌ها افزایش تعداد سلول‌های سالم قابل مشاهده است.

## بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد MDA، PC در گروه TMT به طور معنی‌داری بیشتر از گروه HC بود. همچنین تعداد سلول‌های سالم در گروه TMT کمتر از گروه HC بود. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که در شرایط بیماری آلزایمر به دلیل وجود پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید که پس از فسفریله شدن می‌تواند در نهایت به سنتز آمیلوئید بتا کمک کند و همزمان با این اتفاق پروتئین هایپر فسفریله تائو که نقش ویژه‌ای در پیشبرد بیماری آلزایمر دارد اتفاق می‌افتد (۲۰). علاوه بر این، این نشانگرها منجر به افزایش نیاز سلول به انرژی برای ادامه حیات دارند، در حالی که افزایش دریافت اکسیژن منجر به افزایش فسفریلاسیون اکسایشی در میتوکندری نورون‌ها شده و در نهایت علی‌رغم اختلال در تولید انرژی به وسیله عوامل خطرزای بیماری آلزایمر، مقادیر آنیون‌های اکسایشی و پذیرنده‌های الکترون در نورون افزایش می‌یابد. این امر به افزایش RONS منجر می‌شوند. در ادامه با اختلال در شبکه سارکوپلاسمی یون  $Ca^{2+}$  نیز افزایش می‌یابد و روند تولید رادیکال‌های آزاد را تسریع می‌کند. رادیکال‌های آزاد که میل پیوندی زیادی با پروتئین‌های ساختاری و متابولیکی نورون دارند با پیوند به پروتئین‌ها و لیپیدهای ساختاری منجر به تخریب آنها می‌شوند و در نهایت MDA و PC را در سلول افزایش می‌دهند (۲). اما نتایج تحقیق حاضر نشان داد RT موجب کاهش معنی‌دار PC در نسبت به گروه TMT شد. اما تفاوت معنی‌داری در مقادیر MDA در دو گروه TMT و RT مشاهده نشد. همسو با این مطالعه محققین نشان دادند که تمرینات مقاومتی به مدت هشت هفته موجب کاهش استرس اکسیداتیو (MDA)، لاکتات دهیدروژناز و آسپاراتات آمینوترانسفراز در بافت عضله اسکلتی در رت‌های مبتلا به آسیب نخاع گردید (۲۶). همچنین در مطالعه‌ای محققین نشان دادند که تمرینات ورزشی



۱۲ هفته‌ای موجب افزایش پلاستیسیته نورونی و بهبود کیفیت زندگی در بیماران عصب شناختی گردید (۲۴). حتی در مطالعه‌ای نیز اشاره شد که تمرین با شدت بالا می‌تواند موجب افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد میتوکندریایی در عضلات اسکلتی گردد (۲۵). از این رو عدم کاهش معنی‌دار در مقادیر MDA را می‌توان به متناسب نبودن شدت تمرین، طول دوره تمرین و فرکانس تمرین نسبت داد. از سویی اعتقاد بر این است که شدت و طول دوره تمرینات ورزشی عامل بسیار مهمی در سازگاری‌های نورونی، سازگاری‌های آنتی‌اکسیدانی در بیماران عصب شناختی می‌باشند؛ به گونه‌ای که در یک مطالعه متا آنالیز محققین نشان دادند که تمرینات با شدت پایین و بالا اثر معنی‌داری بر پلاستیسیته نورونی در بزرگسالان سالم دارد، با این حال تاثیر معنی‌داری در بزرگسالان دارای بیماری‌های عصب شناختی ندارد (۲۳). علاوه بر این در مطالعه ای نیز محققین نشان دادند که شش هفته تمرین تناوبی موجب کاهش MDA درموش های صحرایی مبتلا به پارکینسون می شود (۱۵). این نتایج نیز نشان داد که احتمالاً شدت مورد نیاز برای ایجاد سازگاری آنتی‌اکسیدانی عاملی مهم برای افزایش توان آنتی‌اکسیدانی است. بنابراین تفاوت در نتایج (تمرینات تناوبی) با مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل تاثیر شدت تمرین در تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی به وسیله تمرین باشد. اعتقاد بر این است که فعالیت‌های ورزشی در وحله‌های کوتاه مدت و حاد منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود و با افزایش استرس اکسیداتیو سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن (آنزیمی و غیر آنزیمی) در حفظ تعادل بین اکسیدان-آنتی‌اکسیدان‌ها به بدن کمک می‌کنند و با تکرار فعالیت‌های ورزشی سازگاری به این امر منجر به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۲۱). به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی منظم و طولانی مدت با مکانیسم افزایش توان میتوکندری برای تولید انرژی، افزایش تامین سوخت با کاتابولیسم اسیدهای چرب را بهبود می‌بخشد و از این مسیر منجر به کاهش تعداد اکسیژن‌های آزاد سیتوزول برای ترکیب با رادیکال‌های آزاد می‌گردد. در نهایت این امر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و پراکسیداسیون اسیدهای آمینه و کاهش تولید MDA و PC منجر می‌شود (۳۱). به طور اختصاصی‌تر مکانیسم‌های متفاوتی برای سازگاری آنتی‌اکسیدانی ناشی از فعالیت‌های ورزشی گزارش شده است، وابسته به نوع ورزش که استقامتی باشد یا مقاومتی این مکانیسم‌ها می‌تواند متفاوت باشد. اما به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی موجب فعال‌سازی مسیر PI3K می‌شود. این پروتئین به سمت NRF2 حرکت می‌کند و با عنصر پاسخگوی آنتی‌اکسیدانی<sup>۱</sup> متصل به NRF2 (ARE) منجر به جداسازی این پروتئین شده و NRF2 فعال می‌شود و سپس به NRF2 با اتصال NRF2 به پروموتور ژن موجب رونویسی از SOD و کاتالاز می‌شود و در نهایت به مقابله با رادیکال‌های آزاد، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و پروتئینی، کاهش MDA و PC می‌شود (۷). علاوه بر این به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی از مسیر فعال‌سازی پروتئین سسترن ۲- القا شده توسط استرس<sup>۲</sup> (SESN2) منجر به فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP<sup>۳</sup> (AMPK) می‌شوند و در ادامه این روند با فعال‌سازی گیرنده پروکسی زوم گامای فعال شده با کو اکتیویاتور ۱ آلفا<sup>۴</sup> (PGC-1α) منجر به افزایش بیوژنز میتوکندریایی، افزایش بیان NRF1 و همچنین بهبود بیان آنتی‌اکسیدان‌ها در نورو می‌شوند (۲۲).

نتایج نشان داد RJ200 موجب کاهش MDA گردید و RJ100 موجب کاهش PC شد. اثر کاهنده PC در گروه RJ100 به مراتب مطلوب‌تر از اثر RJ200 بود. در این زمینه مطالعه‌ای نشان داد مصرف RJ با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش MDA و کاهش عوامل التهابی در بافت مغز موش‌های صحرایی در معرض فلوتورید گردید و تفاوت معنی‌داری

<sup>1</sup> Antioxidant response element

<sup>2</sup> Stress-induced protein Sestrin2

<sup>3</sup> AMP-activated protein kinase

<sup>4</sup> Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

بین دوزهای مصرفی گزارش نشد (۱۱). اما اثرات بیولوژیک RJ به دوز مصرفی وابسته است به گونه‌ای که دوزهای پایین اثرات کمتری بر ترکیب بدنی دارد، در حالی که با افزایش دوز مصرفی ترکیب بدنی نیز بهبود می‌یابد (۲۷). از این رو به نظر می‌رسد تفاوت در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف RJ در بافت مغز وابسته به طول دوره مصرف و دوز مصرفی باشد. در مطالعه ای نیز محققین نشان دادند که مصرف ژل رویال موجب کاهش MDA در بافت پانکراس موش‌های صحرایی در معرض بلونوماپسین گردید (۳۲). اطلاعات نشان می‌دهند که RJ به دلیل دارا بودن ماده‌ای به نام ۱۰ هیدروکسی ۲ دکانوئیک اسید<sup>۱</sup> (10HDA) اثرات بیولوژیکی فراوانی در ارگان‌ها به ویژه در سیستم عصبی دارد. به عبارتی RJ می‌تواند با فعال‌سازی AMPK منجر به فعال‌سازی پروکسی زوم تمایز دهنده فعال شده آلفا<sup>۲</sup> (PPAR-a) شده و در بیوژنز میتوکندریایی نقش دارد (۲۷). علاوه بر این محققین نشان داده‌اند که RJ به طور مستقیم می‌تواند رادیکال‌های آزاد را خنثی کند و این به خاصیت آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی RJ شناخته می‌شود. همچنین عملکرد تعدیل سلول‌های T تنظیمی را بهبود می‌بخشد و از این مسیر خاصیت ضدالتهابی نیز دارد (۱۳). از مکانیسم‌های دیگر آنتی‌اکسیدانی RJ می‌توان به فعال‌سازی مسیر IGF-1/PI3K/NRF2 اشاره نمود که در رونویسی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش استرس اکسیداتیو و در نهایت بهبود آناتومی مغز منجر می‌شود (۱۴).

همچنین نتایج نشان داد RT+RJ200 موجب کاهش MDA و PC گردید. همچنین اثر کاهنده MDA در گروه RT+RJ200 به مراتب مطلوب‌تر از گروه‌های RT+RJ100 بود. بررسی‌ها نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی به ویژه تمرین مقاومتی وابسته به شدت و نوع تمرین می‌تواند از مسیر PI3K/NRF2 در DNA منجر به رونویسی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و کاتالاز شده و در نهایت منجر به کاهش MDA و PC می‌شود (۳۱ و ۷). همچنین علاوه بر فعال‌سازی SESN2/AMPK/PGC-1a و در ادامه رونویسی از آنتی‌اکسیدان‌های درون میتوکندریایی نیز از دیگر مکانیسم‌های تمرین مقاومتی برای مقابله با استرس اکسیداتیو است. به عبارتی تمرینات ورزشی با بهبود متابولیسم چربی‌ها و کاهش اکسیژن آزاد می‌تواند به کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها منجر شود (۲۲). همچنین RJ وابسته به دوز و طول دوره مصرف با فعال‌سازی AMPK و PPAR-a منجر به افزایش بیوژنز میتوکندریایی، بهبود متابولیسم گلوکز و چربی‌ها، بهبود مقاومت به انسولین، افزایش بیان NRF1/2 و در نهایت بیان آنتی‌اکسیدان‌ها شود (۳۲ و ۲۷).. همچنین ویژگی آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی RJ، تعدیل سلول‌های T تنظیمی (Raoufi, 2023)، فعال‌سازی مسیر IGF-1/PI3K/NRF2 و در نهایت بهبود آنتی‌اکسیدان‌ها را می‌توان از مسیر سیگنالی دیگر RJ در کاهش MDA و PC دانست (۱۴). با توجه به مطالب ذکر شده به نظر می‌رسد مکانیسم‌های مشابه RT و RJ در کاهش استرس اکسیداتیو می‌تواند در بهبود عملکرد نوروئی نقش داشته باشد. در زمینه اثر همزمان تمرین و RJ همسو با مطالعه حاضر محققین نشان دادند که RT و RJ به طور همزمان موجب افزایش بیان SOD و کاتالاز در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به AD می‌گردد (۱۵)؛ همچنین هشت هفته تمرین استقامتی همراه با RJ دارای اثر تعاملی بر افزایش بیان دوپامین در بافت مغز موش‌های صحرایی مبتلا به AD داشت (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر محققین اشاره کردند که RT و RJ دارای اثر تعاملی بر افزایش برخی نوروتروفین‌ها داشت، علاوه بر این اثر RT+RJ200 بر بهبود نوروتروفین‌ها به مراتب مطلوب‌تر از RT+RJ100 بود (۳۰). بنابراین به نظر می‌رسد این مطالعه نیز در تایید مطالعات قبلی با تاکید بر کاهش استرس اکسیداتیو نقش تعامل تمرین و RJ در شرایط بیماری آلزایمر می‌باشد. با توجه به مسیر سیگنالی مشترک تمرین و ژل رویال در تنظیم بیان آنتی‌اکسیدان‌ها یعنی مسیر NRF2 به نظر می‌رسد عدم ارزیابی این مسیر سیگنالی از محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی به بررسی مسیر سیگنالی بالا

<sup>1</sup> 10-Hydroxy-2-decenoic acid

<sup>2</sup> peroxisome proliferator-activated-alpha

دست آنتی‌اکسیدان‌ها پرداخته شود. همچنین با توجه به تاثیر شدت و نوع تمرین بر کاهش استرس اکسیداتیو، عدم ارزیابی دو شدت تمرینی از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی دو شدت متفاوت تمرین مقاومتی برای درک بهتر تاثیر شدت بر کاهش استرس اکسیداتیو انجام شود.

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به نظر می‌رسد تمرین مقاومتی وابسته به شدت و ژل رویال وابسته به دوز مصرفی می‌تواند اثرات مطلوبی بر کاهش نشانگرهای استرس اکسیداتیو مانند MDA و PC داشته باشند. اما ترکیب تمرین و ژل رویال به ویژه در دوز بالاتر اثر مطلوبی بر کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود نرون زایی در بافت هیپوکامپ در شرایط مدل‌سازی حیوانی دارد.

## منابع

- 1.Lanctôt KL, Hahn-Pedersen JH, Eichinger CS, Freeman C, Clark A, Tarazona LR, Cummings J. Burden of Illness in People with Alzheimer's Disease: A Systematic Review of Epidemiology, Comorbidities and Mortality. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*. 2023 Jun 1:1-1, <https://doi.org/10.1002/alz.051496>.
- 2.Briyal S, Ranjan AK, Gulati A. Oxidative stress: A target to treat Alzheimer's disease and stroke. *Neurochemistry International*. 2023 Mar 11:105509, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2023.105509>.
- 3.Roy RG, Mandal PK, Maroon JC. Oxidative stress occurs prior to amyloid A $\beta$  plaque formation and tau phosphorylation in Alzheimer's disease: Role of glutathione and metal ions. *ACS Chemical Neuroscience*. 2023 Aug 10;14(17):2944-54, <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.3c00486>.
- 4.Wójcik P, Jastrzębski MK, Zięba A, Matosiuk D, Kaczor AA. Caspases in Alzheimer's Disease: Mechanism of Activation, Role, and Potential Treatment. *Molecular Neurobiology*. 2023 Dec 23:1-20, <https://doi.org/10.1042/BST20210751>.
- 5.Salehi OR, Sheikholeslami-Vatani D, Hosseini SA. Psycho-physiological effects of high intensity interval training and vitamin E consumption in elderly trimethyltin-treated Alzheimer's rats. *Metabolism and Exercise*. 2021 Sep 23;11(2):57-76, <https://doi.org/10.22124/jme.2023.23953.251>.
- 6.Ghanbari P, Khajehzadeh S, Sayyed A, Raeisi D, Salehi O. The effect of high intensity interval training with beetroot (*Beta vulgaris*) juice supplementation on serotonin and dopamine receptors expression, anxiety and depression in middle-aged diabetic rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2022 Nov;12(6):627, <https://doi.org/10.22038/2FAJP.2022.20895>.
- 7.Souza J, da Silva RA, da Luz Scheffer D, Penteadó R, Solano A, Barros L, Budde H, Trostchansky A, Latini A. Physical-Exercise-Induced Antioxidant Effects on the Brain and Skeletal Muscle. *Antioxidants*. 2022 Apr 23;11(5):826, <https://doi.org/10.3390/antiox11050826>.
- 8.de Souza RF, de Moraes SR, Augusto RL, de Freitas Zanona A, Matos D, Aida FJ, da Silveira Andrade-da BL. Endurance training on rodent brain antioxidant capacity: A meta-analysis. *Neuroscience Research*. 2019 Aug 1;145:1-9, <https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.09.002>.
- 9.Hashemi SA, Ghadimi Z, Ghaedi H, Hashemi A. The effects of eight weeks of aerobic training with vitamin C on the expression pathway of antioxidants in the hippocampus tissue of TMT induced Alzheimer's disease rats. *Brain Research*. 2024 Jan 1;1822:148645, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2023.148645>.

- 10.Ni C, Ji Y, Hu K, Xing K, Xu Y, Gao Y. Effect of exercise and antioxidant supplementation on cellular lipid peroxidation in elderly individuals: Systematic review and network meta-analysis. *Frontiers in Physiology*. 2023 Feb 14;14:1113270, <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1113270>.
- 11.Aslan A, Beyaz S, Gok O, Parlak G, Can MI, Agca CA, Ozercan IH, Parlak AE. Royal jelly protects brain tissue against fluoride-induced damage by activating Bcl-2/NF- $\kappa$ B/caspase-3/caspase-6/Bax and Erk signaling pathways in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023 Apr;30(17):49014-25, <https://doi.org/10.1007/s11356-023-25636-y>.
- 12.Guo J, Wang Z, Chen Y, Cao J, Tian W, Ma B, Dong Y. Active components and biological functions of royal jelly. *Journal of Functional Foods*. 2021 Jul 1;82:104514, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104514>.
- 13.Raoufi S, Salavati Z, Komaki A, Shahidi S, Zarei M. Royal jelly improves learning and memory deficits in an amyloid  $\beta$ -induced model of Alzheimer's disease in male rats: Involvement of oxidative stress. *Metabolic Brain Disease*. 2023 Apr;38(4):1239-48, <https://doi.org/10.16429/j.1009-7848.2016.01.003>
- 14.Ibrahim DS, Shahan EM. Effect of royal jelly on acrylamide-induced neurotoxicity in rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2023 Dec 1;134:102358,
- 15.Mokhtari L, Bagherpour T, Nemati N. The effect of eight weeks of resistance training with royal jelly on the oxidative system of hippocampal tissue in rats with Alzheimer's disease.2022; 24(2):9, <http://dx.doi.org/10.22034/24.2.4>.
- 16.Ashofteh A, Cheragh BS, TaheriChadorneshin H. The Effect of Resistance Training Along with Royal Jelly Supplementation on Genes Expression of ProNGF and P75 Receptor in the Hippocampal Tissue of Alzheimer's Rats.2022;14(1):53, <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3849.1600>.
- 17.Hosseini SA, Salehi OR, Farzanegi P, Farkhaie F, Darvishpour AR, Roozegar S. Interactive effects of endurance training and royal jelly consumption on motor balance and pain threshold in animal model of the alzheimer disease. *Archives of Neuroscience*. 2020 Apr 30;7(2), <https://doi.org/10.5812/ans.91857>
- 18.Dehghan F, Hajiaghaalipour F, Yusof A, Muniandy S, Hosseini SA, Heydari S, Salim LZ, Azarbayjani MA. Saffron with resistance exercise improves diabetic parameters through the GLUT4/AMPK pathway in-vitro and in-vivo. *Scientific reports*. 2016 Apr 28;6(1):25139,
- 19.Arzi A, Houshmand G, Goudarzi M, Khadem Haghghian H, Rashidi Nooshabadi MR. 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 Feb 10;17(2):50-6, <http://dx.doi.org/10.22088/jbums.17.2.50>
- 20.Aran KR. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease-A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Aging and Health Research*. 2023 Nov 8:100169, <https://doi.org/10.1016/j.ahr.2023.100169>
- 21.Chaudhari K, Wong JM, Vann PH, Como T, O'bryant SE, Sumien N. ApoE genotype-dependent response to antioxidant and exercise interventions on brain function. *Antioxidants*. 2020 Jun 25;9(6):553, <https://doi.org/10.3390/antiox9060553>.
- 22.Feng L, Li B, Cai M, Zhang Z, Zhao Y, Yong SS, Tian Z. Resistance exercise alleviates the prefrontal lobe injury and dysfunction by activating SESN2/AMPK/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway and inhibiting oxidative stress and inflammation in mice with myocardial infarction. *Experimental Neurology*. 2023 Dec 1;370:114559, <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114559>.
- 23.Hortobágyi T, Vetrovsky T, Balbim GM, Silva NC, Manca A, Deriu F, Kolmos M, Kruuse C, Liu-Ambrose T, Radák Z, Váczi M. The impact of aerobic and resistance training intensity on markers of neuroplasticity in health and disease. *Ageing Research Reviews*. 2022 Jul 16:101698, <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101698>
- 24.Sheoran S, Vints WA, Valatkevičienė K, Kušleikienė S, Gleiznienė R, Česnaitienė VJ, Himmelreich U, Levin O, Masiulis N. Strength gains after 12 weeks of resistance training correlate with neurochemical

markers of brain health in older adults: a randomized control 1H-MRS study. *GeroScience*. 2023 Jan 26;1-9, <https://doi.org/10.11138/mltj/2013.3.4.346>.

25. Takami M, Aoi W, Ando C, Kato Y, Kobayashi Y, Kuwahata M. High-intensity exercise training induces the oxidative modification of malate dehydrogenase 2 in skeletal muscles. *Advances in Redox Research*. 2023 Dec 1;9:100076, <https://doi.org/10.1016/j.arres.2023.100076>.

26. Barros ND, Aidar FJ, Marçal AC, Santos JL, de Souza RF, Menezes JL, Gomes MZ, de Matos DG, Neves EB, Carneiro AL, de Almeida-Neto PF. Effects of Resistance Training on Oxidative Stress Markers and Muscle Damage in Spinal Cord Injured Rats. *Biology*. 2021 Dec 27;11(1):32, <https://doi.org/10.3390/biology11010032>.

27. Vajdi M, Musazadeh V, Khajeh M, Safaei E, Darzi M, Noshadi N, Bazayr H, Askari G. The effects of royal jelly supplementation on anthropometric indices: a GRADE-assessed systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in Nutrition*. 2023;10, <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1196258>.

28. Aslan A, Beyaz S, Gok O, Parlak G, Can MI, Agca CA, Ozercan IH, Parlak AE. Royal jelly protects brain tissue against fluoride-induced damage by activating Bcl-2/NF-κB/caspase-3/caspase-6/Bax and Erk signaling pathways in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023 Apr;30(17):49014-25, <https://doi.org/10.1007/s11356-023-25636-y>.

29. Hassanlouei F, Hoseini SA, Behbudi Tabrizi L, Haji Rasouli M. The effect of endurance training with royal jelly consumption on dopamine in the hippocampus tissue of rats with Alzheimer's disease.

30. Ashofteh A, Cheragh-Birjandi S, TaheriChadorneshin H. The effect of resistance trainings along with Royal jelly supplementation on gene expression of nerve growth factor and tyrosine kinase A receptor in the hippocampal tissue of Alzheimer's male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2022 Mar 21;10(21):78-89, <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3849.1600>.

31. Rami M, Habibi A, Khajehlandi M. The effect of moderate intensity exercise on the activity of catalase enzyme and malondialdehyde in hippocampus area of diabetic male Wistar rats. *KAUMS Journal (FEYZ)*. 2018 Dec 10;22(6):555-63.

32. Amirshahi T, Nejati V, Najafi G. Biochemical and histological evaluation of protective effect of royal jelly on pancreas-induced oxidative stress in male rat pancreas. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2013 Dec 10;23(107):107-15, <http://jmums.mazums.ac.ir/article-1-3057-en.html>.