



## تأثیر تمرین تناوبی شدید و ژل رویال بر بیان ژن‌های مرتبط با حافظه (CREB و TrkB) در هیپوکمپ موش‌های دیابتی نوع دوم

لیلا معرفت: دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 حسین عابدنطنزی: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (✉ نویسنده مسئول) [abednazari@gmail.com](mailto:abednazari@gmail.com)  
 ماندانا غلامی: دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 فرشاد غزالیان: دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین تناوبی شدید،  
هیپوکمپ،  
موش‌های چاق دیابتی

**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، تعیین تأثیر تمرین تناوبی شدید و ژل رویال بر بیان ژن‌های مرتبط با حافظه (CREB و TrkB) در هیپوکمپ موش‌های دیابتی نوع دوم بود.

**روش کار:** روش انجام تحقیق آزمایشی حاضر بدین صورت بود که ۳۶ سر موش نر ویستار چهار الی ۶ هفته‌ای ( $110 \pm 20$  گرم) بعد از دو هفته آشنایی با محیط جدید و رسیدن به وزن  $193 \pm 20$  گرم به مدت ۵ ماه تا رسیدن به میانگین وزنی حدود  $409 \pm 50$  گرم با رژیم پر چرب (۴۵ تا ۶۰ درصد چربی) تغذیه شده و با تزریق درون صفاقی ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوتوسین (Streptozotocin-STZ) دیابتی شده و به صورت تصادفی به ۴ گروه کنترل دیابتی (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید (۱۰ سر)، ژل رویال (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۱۰ سر) تقسیم شدند. گروه تمرین و تمرین-ژل رویال، تمرین تناوبی شدید را به صورت پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۳۰ تا ۳۶ متر در دقیقه (۸۰ تا ۹۵ درصد  $Vo_{2max}$ ) و تناوب استراحت یک دقیقه ای با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد  $Vo_{2max}$ ) و زمان ۱۵ تا ۳۳ دقیقه به‌صورت دویدن روی تردمیل برای مدت دو ماه (۸ هفته) انجام دادند. ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رقیق شده در آب مقطر و به روش گاواژ ۵ روز در هفته به گروه ژل رویال و ژل رویال - تمرین قبل شروع تمرین داده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد بیان ژن‌های CREB و TrkB بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین، ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش معناداری یافت ( $P=0/0001$ ).

**نتیجه‌گیری:** استفاده از تمرین تناوبی شدید همراه با ژل رویال زیر نظر متخصص به افراد دیابتی توصیه می‌شود.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Marefat L, Abednatanzi H, Gholami M, Ghazalian F. The Effect of HIIT and Royal Jelly on the Expression of Memory-Related Genes (CREB and TrkB) in the Hippocampus of Type 2 Diabetic Rats. Razi J Med Sci. 2025(1 Jun);32:37.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

\*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 4.0 صورت گرفته است.



## The Effect of HIIT and Royal Jelly on the Expression of Memory-Related Genes (CREB and TrKB) in the Hippocampus of Type 2 Diabetic Rats

**Leila Marefat:** PhD Student of Exercise Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Department Physical Education and Sport Science, Tehran, Iran

**Hossein Abednatanzi:** Assistant Professor of Exercise Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Department Physical Education and Sport Science, Tehran, Iran (\* Corresponding Author) [abednatanzi@iau.ir](mailto:abednatanzi@iau.ir)

**Mandana Gholami:** Associate Professor of Exercise Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Department Physical Education and Sport Science, Tehran, Iran

**Farshad Ghazalian:** Associate Professor of Exercise Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Department Physical Education and Sport Science, Tehran, Iran

### Abstract

**Background & Aim:** Type 2 diabetes is the most common endocrine disease that occurs due to glucose intolerance as a result of the imbalance between insulin reserves and demand. One of the most common complications of diabetes is diabetic neuropathy. Cognitive disorders caused by damage to hippocampal neurons are also complications of diabetes, and memory and cognition deficits are reported to be more common in diabetic people than in non-diabetic people. The hippocampus is one of the most sensitive areas of the brain to metabolic disorders, including diabetes. During diabetes, the hippocampus undergoes neurophysiological, structural and molecular changes, such as a decrease in neurogenesis and hippocampal disintegration. Diabetes causes inflammation in the brain. Managing diabetes and controlling the risks of diabetes can be done in different ways. Regular sports activity can have a major contribution in reducing the complications of diabetes, including obesity, high blood pressure, hyperlipidemia, and increasing insulin sensitivity in the target tissue. Sports activity increases hippocampal memory and learning and increases hippocampal neurogenesis. Also, sports activity activates various pathways of neurogenesis, which leads to an increase in neural plasticity and is associated with strengthening learning and memory. CREB is a BDNF transcription factor that plays an important role in neuron protection and improving learning and memory. By binding to specific tyrosine kinase receptors, BDNF triggers intracellular cascades and finally produces and differentiates new neurons. Two different groups of these tyrosine kinase receptors that can bind to neurotrophins include P75 and TrKB. Previous research suggests that exercise training may affect the expression of CREB and TrKB genes. Royal jelly and its biologically active compounds have received attention due to their antioxidant effects and antibacterial, anti-diabetic, anti-cancer, anti-inflammatory, anti-blood pressure, and immune system drugs. Understanding the relationship between exercise, royal jelly and the reduction of diabetes-related complications such as Alzheimer's would be beneficial for public health. The aim of the present study was to investigate the effect of HIIT and royal jelly on the expression of memory-related genes (CREB and TrKB) in the hippocampus of type 2 diabetic rats.

**Methods:** The statistical population of this study consisted of 36 four-week-old male Wistar rats (110±20 grams). The test samples were kept for two weeks with the aim of familiarization with the environment and reached the weight range of 193 ± 20 grams. All mice were fed with a high-fat diet (45-60% fat) for 5 months. Rats had unlimited access to food and water was available in 500 ml bottles in all cages. And after the rats became obese and reached an average weight of 407±50 grams, to create a type 2 diabetes, STZ was injected into them at a low dose of 25 milligram per kilogram of body weight by intraperitoneal injection. One week after the induction of diabetes, fasting blood glucose was measured and blood sugar above 150 to 400 mg/dL was considered as a criterion to ensure that the mice had type 2 diabetes. To further ensure that the mice became diabetic and the accuracy of the work, blood was taken from 10 mice randomly from the tail and their glucose was measured. Then type 2 diabetic rats were divided into 4 diabetic control groups (8 rats), HIIT (10 rats), royal jelly (8 rats), HIIT and

### Keywords

HIIT,  
Royal Jelly,  
Hippocampus,  
Obese Diabetic Mice

Received: 01/03/2025

Published: 01/06/2025

royal jelly (10 rats) so that their weight averages are close to each other. At the end of the protocol, 29 rats remained in 4 diabetic control groups (6),HIIT(8), royal jelly (7),HIIT and royal jelly (8).

The HIIT protocol consisted of eight weeks of aerobic exercise, five sessions per week with a gradual increase in extreme frequency from 30 to 36 meters per minute(80 to 95% of the maximum oxygen consumption) and a rest period of 16 to 22 (50 to 56% of the maximum oxygen consumption) meters per minute for 15 to 33 minutes by running on a treadmill. Running time increased from 15 minutes in the first week to 33 minutes in the eighth week. Royal jelly with a dose of 100 mg/kg diluted in distilled water was given by gavage 5 days a week to the royal gel and royal gel-HIIT groups, pre-workout. At the end of the training period and 48 hours after the last training session of the experimental groups, sampling was performed after 12 hours of fasting. Measurement of hippocampal tissue gene expression was performed using Real-time PCR. Finally, one-way and post hoc analysis of variance were used to analyze the research hypotheses and compare the groups, and two-factor test and effect size index were used to determine the effectiveness of each factor.

**Results:** The results of the study showed that the expression of CREB and TrkB genes in the hippocampal tissue of the rat brain increased in the experimental groups of exercise, royal jelly, and exercise-royal jelly, and their changes were significant ( $P=0.0001$ ).

**Conclusion:** In general, according to the results of the study, it can be concluded that high-intensity interval training (HIIT) and royal jelly have a significant effect on TrkB and CREB gene expression in the hippocampus. HIIT training affects BDNF production in the brain in several ways: First, HIIT increases mitochondrial activity and ROS concentration in neurons, which ROS causes CREB-BDNF transcription and signaling. Second, HIIT increases calcium ion concentration in neurons, which increases CaMKII activity and causes MAPK ERK MSK signaling to activate CREB-BDNF transcription and neural plasticity. Intracellular calcium can also increase ROS production in neurons. ROS can activate CREB-BDNF transcription, and finally, HIIT increases systemic blood lactate concentration, thereby enhancing NMDA receptor activity to increase intracellular calcium ion concentration in neurons. Therefore, intense interval training can prevent hippocampal tissue degradation caused by diabetes, and royal jelly, due to its diverse vitamin and protein compounds and phenolic compounds, as well as its multiple antioxidant and anti-inflammatory roles, increases neurogenesis and reduces oxidative damage in brain tissue. By reducing factors such as oxidative stress, inflammation, and increasing the secretion of neurotrophins and neurogenesis, the beneficial effects of exercise and royal jelly on brain structure and function, especially the diabetic hippocampus, which is susceptible to damage, can be achieved.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Marefat L, Abednatanzi H, Gholami M, Ghazalian F. The Effect of HIIT and Royal Jelly on the Expression of Memory-Related Genes (CREB and TrkB) in the Hippocampus of Type 2 Diabetic Rats. *Razi J Med Sci.* 2025(1 Jun);32.37.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

**\*This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.**

## مقدمه

در سطح جهانی افزایش اپیدمی بروز دیابت نوع ۲ (T2DM) و بیماری آلزایمر (Alzheimer's -AD) disease)، هزینه‌های مالی و عاطفی هنگفتی را موجب می‌گردد. دیابت نوع ۲ با افزایش خطر ابتلا به بیماری آلزایمر و زوال عقل مرتبط است. غلظت بالاتر گلوکز در بافت‌های مغز و مقاومت به انسولین بالاتر با شدت بیماری آلزایمر و علائم آن ارتباط دارد. در انتقال دهنده‌های عصبی، هموستاز انرژی، و همچنین ظرفیت حافظه در مغز انسولین نقش حیاتی دارد (۱).

AD و T2DM با مقاومت به انسولین، التهاب عصبی، استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندری و سندرم متابولیک به هم پیوسته‌اند. بتا آمیلوئید، پروتئین تاو می‌توانند در مغزهای افراد مبتلا به T2DM و AD تجمع کنند. با توجه به اینکه بیماران T2DM به طور معمول از نظر وضعیت شناختی خود ارزیابی نمی‌شوند، به ندرت برای اختلالات شناختی درمان می‌شوند. به طور مشابه، بیماران AD به طور معمول برای سطوح بالای انسولین یا برای دیابت نوع ۲ ارزیابی نمی‌شوند. همچنین مطالعات نشان می‌دهد AD به عنوان یک بیماری متابولیک ناشی از مقاومت به انسولین در مغز است. همچنین از این فرضیه حمایت می‌کند که AD یک دیابت نوع دو است (۲).

هیپوکمپ از حساس‌ترین مناطق مغز به اختلالات متابولیک از جمله دیابت است. هیپوکمپ در طی آن دستخوش تغییرات نوروفیزیولوژیکی، ساختاری و مولکولی مانند کاهش نورون زایی و تحلیل هیپوکامپ می‌شود. دیابت در مغز موجب التهاب می‌شود. در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲، سطوح بالای  $IL-1-\beta$ ،  $IL-6-\beta$ ، CRP یافت می‌شود. امروزه التهاب به عنوان عامل بسیار مهمی در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های عصبی مورد توجه قرار گرفته است. التهاب عصبی می‌تواند ناشی از آسیب به خود بافت مغزی باشد یا توسط التهاب محیطی القا شود. این فرایند با فعال شدن میکروگلیاها، تحریک آستروسیت‌ها، آسیب به سد خونی-مغزی، ورود سلول‌های ایمنی محیطی به بافت مغزی، تولید بیش از حد سایتوکین‌ها، گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین

پروستاگلاندین‌ها و در نهایت با آسیب و مرگ نورون‌ها مشخص می‌شود (۳). 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. 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 مسیرهای گوناگون پیام‌رسانی نورونز را فعال می‌کند که به افزایش پلاستیسیته عصبی منجر می‌شود و با تقویت یادگیری و حافظه همراه است (۴).

یکی از مهم‌ترین سازوکارهای سلولی درگیر در رشد عصبی، فاکتور نورون‌زایی مشتق‌شده از مغز (BDNF -Brain-Derived Neurotrophic Factor) است. BDNF در بخش‌های مختلف مغز پستان داران از قبیل هیپوکمپ، قشر مغز و مخچه بیان می‌شود و از طریق گیرنده اختصاصی تیروزین کینازی خود، یعنی TrkB فعالیت‌های زیستی خود را اعمال می‌کند (۵). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی از مسیرهای مختلفی از جمله افزایش اکسیژن مصرفی مغز، افزایش انتقال دهنده‌های عصبی مغز و همچنین تنظیم افزایشی نروتروفین‌ها در مغز، اثرات مفید خود را القاء می‌کند (۶). یکی از این نواحی مغزی هیپوکمپ است که نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه و یادگیری دارد و نشان داده شده است که فعالیت ورزشی از طریق افزایش BDNF سبب بهبود عملکرد و ساختار هیپوکمپ می‌شود (۷). فعالیت ورزشی از طریق مسیر پیام‌رسانی وابسته به  $PGC1-\alpha$  منجر به افزایش بیان FNDC5 و در نتیجه افزایش بیان BDNF و CREB در نورون‌های هیپوکمپ می‌شود (۸).

ژل رویال (Royal Jelly-RJ) 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 می‌شود. ژل رویال و ترکیبات فعال

CAT, GPX را منجر می‌شوند. ژل رویال با خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی، در برابر گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید مبارزه می‌کند. اثر هیپوگلیسمیک ژل رویال را به ویتامین‌های موجود در آن نیز می‌توان نسبت داد (ویتامین‌های C، D، E، بیوتین و نیاسین). ویتامین C سطح گلوکز سرم را در دیابت نوع دو کاهش می‌دهد. در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی به صورت رقابتی جانشین گلوکز می‌شود. ویتامین‌های بیوتین و نیاسین نیز عملکرد سلول‌های بتا را تقویت می‌کنند و با تحریک تولید گلیکوژن و مهار گلوکونئوز، سطح گلوکز را در بیماران مبتلا به دیابت کاهش می‌دهند (۹).

درک ارتباط بین تمرین ورزشی، ژل رویال و کاهش عوارض ناشی از دیابت مانند آلازایمر برای سلامت عمومی مفید خواهد بود. بنابراین با توجه به کاستی‌های موجود در مطالعات پیشین، محققین در صدد پاسخگویی به این سوال هستند که آیا تمرین تناوبی و ژل رویال و همچنین تأثیر تعاملی این دو بر ژن‌های موثر در آلازایمر در موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو تأثیر دارند یا خیر؟

### روش کار

روش انجام تحقیق آزمایشی حاضر بدین صورت بود که ۳۶ موش نر ویستار ۴ الی ۶ هفته‌ای ( $20 \pm 110$  گرم) بعد از دو هفته آشنایی با محیط و رسیدن به محدوده وزنی  $20 \pm 193$  گرم به مدت ۵ ماه تا رسیدن به میانگین وزنی حدود  $40.9 \pm 50$  گرم با رژیم پر چرب (۴۵ تا ۶۰ درصد چربی) خریداری شده از پژوهشکده زیست فناوری رویان تغذیه شدند. برای ایجاد مدل دیابتی نوع دو ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، استرپتوزوتوسین (Streptozotocin-STZ) به شیوه تزریق درون صفاقی به موش‌ها تزریق شد. یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه‌گیری و قند خون بالای ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد. در ادامه موش‌های دیابتی شده طوری که میانگین وزنی آن‌ها نزدیک به

زیستی آن به دلیل داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد باکتریایی، ضد دیابتی، ضد سرطان، ضد التهابی، ضد فشار خون، و داروهای سیستم ایمنی بدن، داروهای گسترده‌ای را به نمایش می‌گذارند. همچنین نقش مهمی در محافظت از کبد و کلیه، بهبود زخم و سیستم تناسلی دارد و در بیماران دیابتی، اثرات کاهش‌دهنده روی قند خون و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند CAT، GSH-PX و SOD را نشان داد. ژل رویال به‌طور عمده از ترکیبات مهم با فعالیت‌های بیولوژیکی و تقویت‌کننده سلامتی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، قندها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای آمینه آزاد تشکیل شده است و حاوی ویتامین‌هایی مانند ریبوفلاوین، تیامین، نیاسین، اسید فولیک، بیوتین، و پیریدوکسین و مقادیر کمتری از ویتامین‌های C، 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 به‌عنوان علت اصلی DM در نظر گرفته می‌شود. به‌طور مثال، در یک مطالعه روی موش‌ها، مکمل یاری دوزهای مختلف ژل رویال (۱۰، ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به کاهش فشار خون سیستمیک و سطح انسولین سرم و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی، ضدالتهابی و محافظت‌کننده عصبی ژل رویال نیز به اثبات رسیده است (۵).

به علاوه ژل رویال حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها (کوئرستین، کامفرول، آپیزنین و لوتولین) می‌باشد. فلاونوئیدها از چند جهت بر دیابت تأثیر می‌گذارند: موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات و لیپید و کاهش هیپرگلیسمی، دیس‌لیپیدمی و مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی ممانعت می‌کنند. آپیزنین و کامفرول اثر هیپوگلیسمیک در موش‌های دیابتی دارند. افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD،

آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده، پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد استفاده شد؛ به این ترتیب که 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 هر کدام 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 (۱۰).

جهت اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق، موش‌ها پس از بیهوشی با اتر و خونگیری مستقیم از قلب معدوم شدند. مغز به دو نیمکره راست و چپ تقسیم شد. سپس از قسمت نیمکره راست مغز با استفاده از قاشقک هیپوکمپ برداشته شده و سپس در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد. پس از وزن کردن هیپوکمپ با ترازوی دیجیتال، بافت داخل کرایو قرار گرفت و در نهایت داخل کپسول ازت قرار داده شد تا زمانی که نمونه‌ها به یخچال با دمای ۸۵ درجه منتقل

هم باشد، به طور تصادفی به ۴ گروه کنترل دیابتی (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید (۱۰ سر)، ژل رویال (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۱۰ سر) تقسیم 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) باقی ماندند.

پروتکل تمرین بدین صورت بود که گروه تمرین و تمرین-ژل رویال، تمرین تناوبی شدید (HIIT) را به صورت پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۳۰ تا ۳۶ متر در دقیقه (۸۰ تا ۹۵ درصد  $VO_{2max}$ ) و تناوب استراحت یک دقیقه ای با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد  $VO_{2max}$ ) و زمان ۱۵ تا ۳۳ دقیقه به صورت دویدن روی تردمیل برای مدت دو ماه (۸ هفته) انجام دادند (جدول ۱).

ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم رقیق شده در آب مقطر و به روش گاواژ ۵ روز در هفته به گروه ژل رویال و ژل رویال - تمرین قبل شروع تمرین داده شد.

برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی ( $VO_{2max}$ ) به دلیل نبود دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی

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

شود.

رویال بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. تاثیر تعاملی تمرین-ژل رویال بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. بررسی شاخص‌های اندازه اثر نشان می‌دهد که اندازه اثر ژل رویال بر بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز از دیگر گروه‌ها بیشتر است.

همچنین نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد (جدول ۳) تغییرات بیان ژن CREB 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 و همچنین گروه تمرین - ژل رویال نسبت به گروه ژل معنی‌دار است.

نهایتاً از آمار توصیفی، آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی بنفرونی و تحلیل دوعاملی و تعیین شاخص اندازه اثر در سطح معناداری  $p \leq 0.05$  جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

### یافته‌ها

نتایج نشان داد بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین و ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش داشته است که تغییرات آن معنی‌دار است ( $F=28.378, Sig=0.0001$ ). همان طور که اطلاعات جدول ۲ نشان می‌دهد تاثیر انجام تمرین تناوبی بر بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. همچنین تاثیر ژل

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی اثرات تمرین تناوبی و ژل رویال بر بیان ژن CREB

منبع	F	سطح معنی‌داری	نتیجه	اندازه اثر	توان آزمون
تمرین تناوبی	۱۳.۱۹۳	۰.۰۰۱	**	۰.۳۵۵	۰.۹۳۶
ژل رویال	۶۶.۱۴	۰.۰۰۰۱	**	۰.۷۳۴	۱.۰۰۰
تمرین تناوبی و ژل رویال	۶.۲۴	۰.۰۲	*	۰.۲۰۷	۰.۶۷۰

جدول ۳- نتایج آزمون تعقیبی جهت مقایسه اثر تمرین تناوبی با شدت بالا و ژل رویال بر بیان ژن CREB

گروه	کنترل دیابتی	تمرین تناوبی	ژل رویال	تمرین و ژل رویال
کنترل دیابتی	M=۱		P=۰.۰۰۵	P=۰.۰۰۰۱
تمرین تناوبی		M=۱.۳۴	P=۰.۰۱۸	P=۰.۰۰۰۱
ژل رویال			M=۲.۶۸	P=۰.۰۰۱
تمرین و ژل رویال				M=۴.۵۱

جدول ۴- نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی اثرات تمرین تناوبی و ژل رویال بر بیان ژن TrkB بافت هیپوکمپ

منبع	F	سطح معنی‌داری	نتیجه	اندازه اثر	توان آزمون
تمرین تناوبی	۱۵.۵۶	۰.۰۰۱	**	۰.۳۹۳	۰.۹۶۶
ژل رویال	۲۱.۰۸	۰.۰۰۰۱	**	۰.۴۶۸	۰.۹۹۳
تمرین تناوبی و ژل رویال	۱.۳۵	۰.۲۵۷		۰.۰۵۳	۰.۲۰۰

جدول ۵- نتایج آزمون تعقیبی جهت مقایسه اثر تمرین تناوبی با شدت بالا و ژل رویال بر بیان ژن TrkB

گروه	کنترل دیابتی	تمرین تناوبی	ژل رویال	تمرین و ژل رویال
کنترل دیابتی	M=۱			P=۰.۰۰۰۱
تمرین تناوبی		M=۱.۴۸		P=۰.۰۰۲
ژل رویال			M=۱.۵۹	P=۰.۰۰۸
تمرین و ژل رویال				M=۲.۴۷

در یک پژوهش برونو و همکاران به بررسی میزان پروتئین CREB و CRTC2 و CRTCG بر پاسخ آنابولیک و افزایش کارایی عضله اسکلتی پرداختند. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا به مدت ۸ هفته و جلسهای ۳۰ دقیقه انجام شد. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا منجر به افزایش سطوح فرم فسفریله CREB و دفسفریلاسیون شدن CRTC2 و CRTC3 شد (۸). نتایج تحقیق برونو و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم راستا بود. گرچه نتایج تحقیق حاضر با نتایج کریمی و همکاران مغایرت داشت، چرا که آن‌ها شاهد تغییر در میزان پروتئین CREB را شاهد نبودند. از دلایل مهم این اختلاف نتایج می‌تواند مکان اندازه‌گیری این پروتئین باشد.

در تفسیر نتایج فوق می‌توان این چنین عنوان کرد که تمرین HIIT باعث افزایش فعالیت میتوکندری و غلظت گونه اکسیژن فعال (Reactive oxygen species - ROS) در نورون‌ها می‌شود که ROS باعث رونویسی و سیگنالینگ CREB-BDNF می‌شود. همچنین HIIT باعث افزایش غلظت یون کلسیم در نورون‌ها می‌شود که این وضعیت فعالیت CaMKII را افزایش می‌دهد و موجب سیگنالینگ M APK ERK و MSK برای فعال کردن رونویسی CREB-BDNF و پلاستیسیتته عصبی می‌شود. همچنین کلسیم داخل سلولی می‌تواند تولید ROS را در نورون‌ها افزایش دهد. ROS قادر به فعال کردن رونویسی CREB-BDNF می‌شود و از این طریق باعث افزایش بیان ژن CREB در بافت هیپوکمپ مغز موش‌های نر دیاباتی نوع دو در اثر تمرین تناوبی شده است (۱۲).

در بحث مسیره‌های سلولی و ملکولی تنظیم کننده پروتئین CREB می‌توان به مسیره‌های متفاوتی اشاره کرد. یکی از این مسیره‌ها، فعال شدن توسط گیرنده‌های GPCR است. اتصال لیگاند به گیرنده G تحریکی، منجر به تشکیل کمپلکس زیر واحدهای آن ( $\alpha$ ،  $\beta$  و  $\gamma$ ) می‌شود؛ این عمل فعال شدن آدنیلات سیکلاز (AC) و در تسریع سنتز AMP حلقوی می‌شود. افزایش cAMP سلولی منجر به تحریک سیگنالینگ پروتئین کیناز-A (PKA) می‌شود. اتصال

یافته دیگر تحقیق حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا، ژل رویال و تمرین-ژل رویال بر میزان بیان ژن TrKB در هیپوکمپ مغز اثر معناداری داشت ( $F=12.17, Sig=0.0001$ ). همان طور که اطلاعات جدول ۴ نشان می‌دهد تاثیر انجام تمرین تناوبی بر بیان ژن TrKB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. همچنین تاثیر ژل رویال بیان ژن TrKB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار است و تاثیر تعاملی تمرین - ژل رویال بر بیان ژن TrKB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار نیست. بررسی شاخص‌های اندازه اثر نشان می‌دهد که اندازه اثر تمرین تناوبی بر بیان ژن TrKB بافت هیپوکمپ مغز از دیگر گروه‌ها بیشتر است.

نهایتاً نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد تغییرات بیان ژن TrKB بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین - ژل رویال نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین و نیز نسبت به گروه ژل رویال معنی‌دار است.

### بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین و ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش داشته است که تغییرات آن معنی‌دار بود. همچنین نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد تغییرات بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین - ژل رویال و گروه ژل رویال نسبت به گروه تمرین و همچنین گروه تمرین - ژل رویال و همچنین گروه تمرین و همچنین گروه تمرین - ژل رویال نسبت به گروه ژل معنی‌دار است.

CREB یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در حفاظت نورونی و بهبود یادگیری و حافظه دارد. CREB علاوه بر این که به طور مستقل بیان BDNF را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به واسطه بازخورد مثبت بیان  $\alpha$ -PGC1 را در نئوکورتکس و استریاتوم کنترل می‌کند و می‌تواند به عنوان محرک مسیر پیامرسانی  $\alpha$ -PGC1- $\alpha$  / FND5 / BDNF / CREB نیز در نظر گرفته شود (۱۱).

افزایش می‌یابد (۶).

محققان بر این باورند که در آسیب‌شناسی بیماری آلزایمر (AD)، عواملی مانند فعالیت میکروگلیا، افزایش سایتوکاین‌های التهابی، اختلالات عروقی مغزی، اختلالات عصبی میتوکندری با افزایش ROS و افزایش متقابل بتا آمیلوئید و آسیب سیناپسی همراه می‌شود (۱۵). برای مثال بتا آمیلوئید ( $A\beta$ ) و گره‌های عصبی فیبری (NFTs) موجب هایپرفسفروریل‌اسیون پروتئین تائو سلول‌های مغزی افراد مبتلا به زوال عقل، از جمله AD، شواهدی از آسیب رادیکال‌های آزاد را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد رادیکال‌های آزاد از دلایل تجمع آمیلوئید در مغزند که از ویژگی‌های AD است (۱۶).

ژل رویال (RJ)، محصول زنبور عسل است که مدت‌هاست به طور سنتی در سیستم‌های پزشکی اروپایی و آسیایی استفاده می‌شود. به نظر می‌رسد ژل رویال به دلیل فعالیت شبه‌انسولینی، مقاومت به انسولین را در بیماران آلزایمری بهبود می‌بخشد. علاوه بر این، ژل رویال رادیکال‌های آزاد مانند اکسید آنیون را در مغز مدل حیوانی AD خنثی می‌کند. در این زمینه، محققان نشان داده‌اند که ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن RJ به مدت ۱۴ روز، سطح نوروتروفین‌ها و حافظه را افزایش می‌دهد، یادگیری را بهبود می‌بخشد و آسیب اکسایشی در بافت مغز موش‌های صحرایی AD ناشی از استرپتوزوتوسین تزریقی داخل بطنی را کاهش می‌دهد (۱۷). مقادیر فراوان ترکیبات فنلی ژل رویال همچون آپیزین و کوئرستین استرس اکسیداتیو ناشی از استرپتوزوتوسین را در سلول‌های بتا، کبد و کلیه مهار می‌کنند و رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند (۱۸، ۱۹). آپیزین و کامفرول با اثر هیپوگلیسمیک در رت‌های دیابتی گلوکز ناشتا را کاهش و مقدار انسولین را افزایش می‌دهند. همچنین ژل رویال با خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی، اثر هیپوگلیسمیک را با توجه به منبع غنی ویتامین‌های موجود در خود بر جای می‌گذارد (۷). مطالعات نشان داده است که ویتامین‌های B، C، E و D، بیوتین و نیاسین به فراوانی در ژل رویال یافت

AMPc به زیر واحد تنظیمی PKA، سبب ارتقاء تفکیک خود از زیر واحد کاتالیزوری می‌شود. زیر واحدهای کاتالیزوری آزاد شده توسط انتشار غیر فعال و فسفریله شدن عنصر CRE متصل شونده به پروتئین CREB در جایگاه سرین - ۱۳۳ سبب ورود هسته آن به می‌شود و سپس اعمال فیزیولوژیک خود را اعمال می‌کند (۱۳).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن TrkB بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین و گروه ژل رویال و تمرین-ژل رویال افزایش داشته که تغییرات آن معنی‌دار است. همچنین نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد تغییرات بیان ژن TrkB بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین-ژل رویال نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین و نیز نسبت به گروه ژل رویال معنی‌دار است.

افزایش تعداد گیرنده‌های نروتروفین‌ها در سطح سلول، سبب افزایش فعالیت نروتروفین‌ها می‌شود. دپلاریزه پس سیناپسی سبب افزایش بیان گیرنده TrkB روی غشای پلاسمایی نورون‌های غدد عصبی و نخاعی می‌شود. همچنین نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که تحریکات الکتریکی و افزایش انتشار کلسیم هر دو در افزایش بیان TrkB مؤثرند. باتوجه به اینکه BDNF سنتز GABA و گلوتامات رادرهیپوکمپ، سروتونین را در نئوکورتکس و هیپوکمپ و دوپامین را در استراتیوم تنظیم می‌کند، اهمیت این تنظیمات متقابل می‌تواند چارچوب مناسبی را برای نروتروفین‌ها در تنظیم انعطاف سیناپسی مهیا کند (۱۴).

سیگنالینگ TrkB در پایانه‌های قبل یا بعد از سیناپسی منجر به تنظیم چندین ژن پایین دست می‌شود. با فعال شدن گیرنده TrkB و دایمریزه و فسفوریل‌اسیون این گیرنده به طور کلی سه نوع سیگنال آبخاری درون سلولی راه اندازی می‌شود. (۱) مسیر، -PLC $\gamma$  (۲) مسیر PI۳K و (۳) مسیر MAPK که چندین افکتور پائین دست را فعال می‌کند که در نهایت هر سه مسیر سبب نسخه برداری از فاکتور CREB ژن هدف نروتروفین‌ها می‌شوند و به این ترتیب بیان ژن نوروتروفینی

پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

### مشارکت نویسندگان

لیلا معرفت در نگارش رساله و مقاله و حسین عابد نطنزی در نگارش و ویراستاری رساله و مقاله و تجزیه و تحلیل آماری و ملاندنا غلامی و فرشاد غزالیان در ویراستاری رساله و مقاله مشارکت داشتند.

### References

1. Michailidis M, Moraitou D, Tata DA, Kalinderi K, Papamitsou T, Papaliagkas V. Alzheimer's disease as type 3 diabetes: common pathophysiological mechanisms between Alzheimer's disease and type 2 diabetes. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5), 2687.
2. Burrill J, Marqués P, Jiménez B, González-Blanco C, Benito M, Guillén C. Insulin resistance and diabetes mellitus in Alzheimer's disease. *Cells.* 2021;10(5):1236.
3. Roets B. Changes in the Neuroanatomy and Neurogenic Activity in the Hippocampus of the Zucker Diabetic Sprague Dawley (Zdsd) Rat. University of Johannesburg (South Africa). 2021.
4. 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. *JSSU.* 2017;24(12):981-993.
5. Ahmad S, Campos MG, Fratini F, Altaye SZ, Li J. New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. *Int J Mol Sci.* 2022;21(2):382.
6. Alkadhi KA. Exercise as a positive modulator of brain function. *Mol Neurobiol.* 2018;55(4):3112-30.
7. 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. *J Mazandaran Uni Med Sci.* 2013;23(107).
8. Bruno NE, Kelly KA, Hawkins R, Bramah-Lawani M, Amelio AL, Nwachukwu JC, et al. Creb coactivators direct anabolic responses and enhance performance of skeletal muscle. *EMBO J.* 2014;33(9):1027-1043.
9. Halvacı E, Kozak T, Gül M, Kars H, Şen F. Bee anatomy: a comprehensive overview of bee morphology and physiology. *Sci Rep.* 2023;(008)"1-19.

می‌شود. ویتامین C سطح گلوکز سرم را در دیابت نوع دو کاهش و مقدار انسولین را افزایش می‌دهند. ویتامین‌های D، E، B1، B6، B12، بیوتین و نیاسین نیز عملکرد سلول‌های بتا را تقویت می‌کنند و با تحریک تولید گلیکوژن و مهار گلوکونئوزن، سطح گلوکز را در بیماران مبتلا به دیابت کاهش می‌دهد و بدین ترتیب از کاهش سطوح BDNF در بیماران با اختلالات گلوکوزی، دیابت و مقاومت به انسولین جلوگیری می‌کند. با این تفاسیر افزایش بیان ژن CREB و TrkB در بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی را می‌توان به خواص ضد التهابی و آنتی اکسیدانی و منبع غنی ویتامینی ژل رویال نسبت داد (۱۹).

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی با توجه به نتایج تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تمرینات تناوبی شدید و ژل رویال اثر معنی داری بر بیان ژن TrkB و CREB در هیپوکمپ دارند. تمرین تناوبی شدید می‌تواند از تحلیل بافت هیپوکامپ که بر اثر دیابت اتفاق می‌افتد، جلوگیری کند و ژل رویال هم به دلیل ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی و نیز نقش‌های متعدد آنتی اکسیدانی و ضد التهابی موجب افزایش نورون‌زایی و کاهش آسیب اکسایشی در بافت مغزی می‌شود. 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.

### ملاحظات اخلاقی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری بود و با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1402.292 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تایید شد و نویسندگان این مقاله هیچ گونه تعارض منافی نداشتند. از تمام همکاران پژوهشی و

10. Cheng SM, Lee SD. Exercise training enhances BDNF/TrkB signaling pathway and inhibits apoptosis in diabetic cerebral cortex. *Int J Mol Sci.* 2022;23(12):6740.
11. Church DD, Hoffman JR, Mangine TG, Jajtner AR, Townsend RJ. Comparison of high-intensity vs. high-volume resistance training on the BDNF response to exercise. *J Appl Physiol.* 2016;121(1):123-8.
12. Jiménez-Maldonado A, Rentería I, García-Suárez PC, Moncada-Jiménez J, Freire-Royes LF. The impact of high-intensity interval training on brain derived neurotrophic factor in brain: a mini-review. *Front Neurosci.* 2018;12:839.
13. Dakhale GN, Chaudhari HV, Shrivastava M. Supplementation of vitamin C reduces blood glucose and improves glycosylated hemoglobin in type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind study. *Adv Pharmacol Sci.* 2011:1-5.
14. Yoshii A, Constantine-Paton M. Postsynaptic BDNF-TrkB signaling in synapse maturation, plasticity, and disease. *Dev Neurobiol.* 2010;70(5):304-22.
15. Ton AM, Campagnaro BP, Alves GA, Aires R, Côco LZ, Arpini CM, et al. Oxidative stress and dementia in Alzheimer's patients: effects of synbiotic supplementation. *Oxidative medicine and cellular longevity.* 2020;1:2638703.
16. Fisher E, Wood SJ, Elsworth RJ, Upthegrove R, Aldred S. Exercise as a protective mechanism against the negative effects of oxidative stress in first-episode psychosis: a biomarker-led study. *Transl Psychiatry.* 2020;10(1):254.
17. e Silva TG, da Silva JRM, da Silva Alves A, Britto LRG, Xavier GF, Sandoval MRL. Oral treatment with royal jelly improves memory and presents neuroprotective effects on icv-STZ rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Heliyon.* 2020;6(2).
18. Rauter AP, Martins A, Borges C, Mota-Filipe H, Pinto R, Sepodes B, et al. Antihyperglycaemic and protective effects of flavonoids on streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res.* 2010;24(S2):S133-8.
19. Hanif AM, Lawson EC, Prunty M, Gogniat M, Aung MH, Chakraborty R. Neuroprotective Effects of Voluntary Exercise in an Inherited Retinal Degeneration Mouse Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(11):6839-46.