

بررسی تغییرات برخی نوروتروفین‌ها در بافت هیپوکامپ در یک مدل انسفالومیلیت خود ایمن تجربی متعاقب تمرین استقامتی و ژل رویال

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۵

خلاصه

سارا توکلیان^۱

پروفسور مقصود پیری^{۲*}

دکتر فروزان فروزان فتاحی^۱

مقدمه: اختلالات نوروتروفینی مکانیسمی شایع در بیماری مولتیپل اسکلروزیس می‌باشد. با توجه به نقش اساسی نوروتروفین‌ها در عملکرد شناختی، مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات برخی نوروتروفین‌ها در بافت هیپوکامپ در یک مدل انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (EAE) متعاقب تمرین استقامتی (ET) و ژل رویال (RJ) انجام شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۴۹ سر موش صحرایی ماده نژاد اسپراگو-داولی مبتلا به EAE (توسط ادجوانت فروند کامل) به گروه‌های (۱) EAE، (۲) شم (Sh)، (۳) ۵۰ mg/kg RJ (RJ50)، (۴) ۱۰۰ mg/kg RJ (RJ100)، (۵) ET، (۶) ET+RJ50، (۷) ET+RJ100 تقسیم شدند، برای بررسی اثر EAE بر متغیرها تعداد ۷ سر موش صحرایی سالم در گروه کنترل سالم (HC) قرار گرفتند. ET به مدت پنج هفته، چهار جلسه در هفته با سرعت ۱۱-۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد و RJ با دوزهای (۵۰ و ۱۰۰ mg/kg/day) به صورت صفاقی تزریق گردید. برای تجزیه و تحلیل یافته‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد ($P \leq 0.05$).

نتایج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد مقادیر BDNF در گروه ET به طور معنی داری بیشتر از گروه EAE بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد BDNF در گروه‌های RJ50، RJ100، ET+RJ50، ET+RJ100 و ER+RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه EAE بود. علاوه بر این مقادیر بیان ژنی TrkB در گروه RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه RJ50 بود. همچنین TrkB در گروه‌های RJ50، RJ100، ET+RJ50 و ET+RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه EAE بود. مقادیر BDNF و TrkB در گروه ET+RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه‌های RJ50، RJ100، ET+RJ50 و ER+RJ100 بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تمرین ورزشی و ژل رویال به تنهایی و همچنین به صورت ترکیب با یکدیگر می‌توانند اثرات نوروتروفینی داشته باشند. علاوه بر این به نظر می‌رسد اثر تمرین همراه با ژل رویال به دوز مصرفی وابسته است و دوز ژل بالاتر از ۵۰ mg/kg اثر مطلوب تری بر نوروتروفین‌ها در شرایط EAE در هیپوکامپ دارد.

کلمات کلیدی: تمرین، ژل رویال، نوروتروفین‌ها، هیپوکامپ، انسفالومیلیت خود ایمن تجربی

^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد

اسلامی، تهران، ایران

^۲گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد

اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

Email: m.peeri@iauctb.ac.ir

مقدمه

بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) به عنوان یک اختلال خودایمنی پیشرونده سیستم عصبی مرکزی شناخته می‌شود که با ویژگی‌های التهابی، دمی‌لینیشن، و گلیوزیس همراه است (۱). این بیماری منجر به تخریب نورونها و اختلالات شناختی و حرکتی می‌شود. ادبیات پژوهشی نشان می‌دهد که در سال ۲۰۲۰ تقریباً ۲/۸ میلیون نفر به این بیماری مبتلا بوده‌اند و این بیماری به طور سریع در حال گسترش است (۲). از دیدگاه محققان، عوامل خطرزای ناشناخته‌ای در ابتلا به این بیماری نقش دارند؛ با این حال، شواهد نشان می‌دهد عواملی مانند: تغذیه، سن، جنسیت، ویژگی‌های ژنتیکی و موقعیت جغرافیایی در بروز آن تأثیرگذار هستند (۳). بررسی ادبیا پژوهشی نشان می‌دهد که اختلال عملکرد شناختی از جمله عوارض بالینی اصلی در بیماری MS محسوب می‌شود که ارتباط معنی داری با طول مدت بیماری و شدت تخریب نورونی دارد. افزایش سطح رادیکال‌های آزاد، تشدید فرآیندهای التهابی و القای آپوپتوز در نورونها ممکن است منجر به اختلال در عملکرد نوروتروفین‌های مؤثر بر حافظه، نظیر عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و گیرنده تیروزین کیناز B (TrkB) شود. این تغییرات می‌توانند در نهایت به نقص در سیگنالینگ نوروتروفینی و اختلالات شناختی منجر گردند. بر اساس شواهد موجود، کاهش سطوح (BDNF) با تشدید اختلالات عملکردی در بیماران مبتلا به MS همراه بوده است، که نشان‌دهنده نقش محافظتی احتمالی این نوروتروفین در پاتوفیزیولوژی بیماری است (۴). بر اساس یافته‌های تحقیقاتی، فعال‌سازی مسیرهای التهابی سیستمیک از طریق افزایش بیان نشانگرهایی نظیر NF- κ B و TNF- α می‌تواند به دمی‌لینیشن و آپوپتوز الیگودندروسیت‌ها منجر شود (۵). محققان بر این باورند که BDNF، نقش مهمی در کاهش نوروپروتکشن و اختلالات عصبی مرتبط با بیماری‌هایی مانند MS ایفا کنند. با توجه به محدودیت‌های ذاتی مطالعات انسانی در پژوهش‌های مرتبط با (MS)، محققان به مدل‌های تجربی روی آورده‌اند. در این میان

انسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) ۱ به عنوان مدل حیوانی استاندارد و معتبر در تحقیقات پایه‌ای و ترجمه‌ای MS شناخته می‌شود (۶). این مدل قادر است جنبه‌های کلیدی پاتوفیزیولوژی بیماری از جمله فرآیندهای التهابی، تخریب میلین و اختلالات نورولوژیک را به خوبی شبیه‌سازی کند. از سوی دیگر، با توجه به هزینه‌های اقتصادی فزاینده‌ای که کاهش عوارض این بیماری به همراه دارد و همچنین پیامدهای گسترده اجتماعی آن، پژوهشگران به سوی روش‌های درمانی غیرتهاجمی و کم‌خطر روی آورده‌اند. مطالعات نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی منظم می‌تواند به عنوان یک راهبرد مؤثر، در بهبود اختلالات شناختی و حرکتی و همچنین در تنظیم سطح نوروتروفین‌ها و نوروترانسمیترها در اختلالات نورودژنراتیو و دوران سالمندی نقش‌داشته باشد. شواهد بالینی بیانگر آن است که فعالیت‌های ورزشی، از طریق مکانیسم‌های تعدیل سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش التهاب، منجر به افزایش بیان (BDNF) و (TrkB) در بیماران مبتلا به (MS) می‌شود. در مطالعه دیگری، پژوهشگران گزارش دادند که تمرینات ورزشی از طریق مهار فرآیندهای التهابی و آپوپتوز، منجر به تقویت مسیر سیگنالینگ BDNF/TrkB در بافت قشر مغز موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت می‌شود. با این حال، در مطالعه دیگری پژوهشگران دریافتند که چهار هفته تمرین شنا موجب افزایش معناداری در سطوح BDNF/TrkB موش‌های صحرایی مدل EAE نگردید. لذا تغییرات این مسیر نوروتروفینی در مدل EAE هنوز به صورت کامل مورد بررسی قرار نگرفته است (۷، ۸، ۹، ۱۰). با توجه به هزینه‌های سنگین درمان و پیامدهای گسترده اجتماعی این بیماری، رویکردهای درمانی غیرتهاجمی به کانون توجه پژوهشگران تبدیل شده است. مطالعات متقن حاکی از آن است که اجرای فعالیت ورزشی منظم، به مثابه مداخله‌ای چندوجهی، قادر است اختلالات شناختی-حرکتی را کاهش دهد، سطوح نوروتروفین‌ها را متعادل سازد و بالانس نوروترانسمیترها را در

اختلالات تخریب‌گر عصبی و فرایند سالمندی تنظیم نماید. این یافته‌ها، فعالیت بدنی را به عنوان راهبردی امیدبخش در عرصه نورولوژی مطرح می‌سازد. بررسی ادبیات پژوهشی نشان می‌دهد که علاوه بر فعالیت ورزشی، مداخلات تغذیه‌ای شامل رژیم‌های غذایی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند نقش درمانی قابل توجهی در بهبود برخی بیماری‌ها ایفا نمایند (۱۱). در این میان RJ ترشح غدد هیپوفارنژیال زنبور عسل کارگر - به دلیل خواص نوروپروتکتیو و اثرات تعدیل‌کننده‌ای که بر سیستم عصبی مرکزی اعمال می‌کند، به عنوان یک ترکیب امیدبخش در مدیریت بیماری‌های نورودژنراتیو مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (۱۲). در مطالعه ای که Kawahata و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام دادند مشخص شد که RJ با مکانیسم اتصال عنصر پاسخ‌گر به cAMP (CEREB) و انتقال به جعبه رونویسی TATA می‌تواند در DNA منجر به رونویسی از TrkB, BDNF در یک مدل حیوانی بیماری آلزایمر شود (۱۴). از طرفی در مطالعه ای که Dehbozorgi و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند مشخص شد که سطح BDNF به صورت غیر معنی داری در مدل حیوانی نورودژنراتیو و مقادیر بیان ژنی NGF به طور معنی داری افزایش یافته است Dehbozorgi و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند (۱۵). با توجه به اطلاعات موجود اثر گذاری RJ بر نوروتروفین‌ها وابسته به دوز و طول دوره مصرف است و در مطالعات سیستماتیک به صورت جامع مورد بررسی قرار نگرفته است. اما در ارتباط با اثر همزمان تمرین و RJ در شرایط EAE مطالعه قبلی ما نشان داد تمرین استقامتی (ET) همراه با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg RJ می‌تواند منجر به بهبود عملکرد شناختی و افزایش تعداد سلول‌های سالم هیپوکامپ در مدل EAE شود (۱۶). در مطالعه‌ی لهراسبی و همکاران، نتایج حاکی از آن بود که مداخله‌ی ترکیبی (ET) و (RJ) منجر به بهبود معنادار تعادل حرکتی در مدل (EAE) شد (۱۷). با این وجود، تحلیل داده‌ها نشان داد که بهبود تعادل عمدتاً تحت تأثیر عامل ET قرار داشت و RJ سهم کم‌تری در این اثرگذاری داشت (۱۸). علاوه بر این در مطالعات دیگر اثرات ضد التهابی و میلینیشن را در مدل EAE گزارش نموده بودند. با توجه به

اختلالات شناختی متعاقب MS که با آسیب‌های جبران ناپذیر بر سیستم عصبی مرکزی همراه است، اطلاعات محدودی در ارتباط با اثر همزمان ET و RJ بر عملکرد نوروتروفین‌ها وجود دارد (۱۹). لذا با توجه به نیاز به درک بهتر از دوز مطلوب تر مورد استفاده و درک مکانیسم این دو انجام مطالعه بنیادی در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی بررسی تغییرات برخی نوروتروفین‌ها در بافت هیپوکامپ در یک مدل انسفالومیلیت خود ایمن تجربی متعاقب تمرین استقامتی و ژل رویال انجام شد. با توجه به ضرورت تعیین دوز بهینه ی (RJ) و تبیین مکانیسم‌های مولکولی تأثیر تمرین ET و RJ در مدل EAE، انجام مطالعات بنیادی در این زمینه از اهمیت بالایی برخوردار است. بر این اساس، هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی تغییرات سطوح برخی نوروتروفین‌ها در بافت هیپوکامپ در پاسخ به مداخله‌ی ترکیبی ET و RJ بود.

روش کار

در این مطالعه که از نوع تجربی با طرح پس آزمون همراه با گروه کنترل بود تعداد ۶۰ سر موش صحرایی با جنسیت ماده و نژاد اسپراگو-داولی، سن ۸-۱۰ هفته و وزن ۲۰۰-۲۲۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه شد. موش‌های صحرایی پس از انتقال به محیط آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانی این واحد دانشگاهی به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط نگهداری شدند. در طول دوره تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی با دستور العمل اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و برگرفته از معاهده هلسینکی رعایت شد. همچنین در طول دوره تحقیق موش‌های آزمایشگاهی در محیط استاندارد شامل چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعت به ۱۲ ساعت که توسط دایمر کنترل می‌شد با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد نگهداری می‌شدند. همچنین موش‌های صحرایی در طول تحقیق در قفس‌های پلی کربنات قابل شست و شو (۸ سر موش صحرایی در هر قفس به ابعاد ۳۰ * ۴۰ * ۲۲ سانتی متر) نگهداری می‌شدند. همچنین از خاک رنده استریل برای جذب

بالینی در گروه‌ها وجود نداشته باشد. در ادامه این ۴۹ سر موش صحرایی بیمار به گروه‌های (۱) کنترل EAE، (۲) شم (Sham) یا حلال ژل رویال، (۳) ژل رویال ۵۰ mg/kg (RJ50)، (۴) RJ100، (۵) تمرین استقامتی (ET)، (۶) ET+RJ50 و (۷) ET+RJ100 تقسیم شدند. علاوه بر این تعداد هشت سر موش صحرایی سالم برای بررسی اثرات القا بیماری بر متغیرهای تحقیق در گروه کنترل سالم (HC) قرار داده شدند. ژل رویال به گروه‌های ۳ و ۶ به مدت ۵ هفته روزانه ۵۰ mg/kg (حل شده در نرمال سالین) را به صورت صفاقی دریافت نمودند و گروه‌های ۴ و ۷ نیز روزانه ژل رویال را به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند؛ علاوه بر این گروه‌های ۵، ۶ و ۷ به مدت پنج هفته، پنج جلسه در هفته و هر جلسه ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۱ متر بر دقیقه تمرینات استقامتی را بر روی نوارگردان ویژه موش‌های صحرایی انجام دادند (۲۱، ۲۲).

پروتکل تمرین استقامتی

تمرین استقامتی ۱۰ روز پس از اطمینان از القا EAE شروع شد. برای آشنا سازی موش‌های صحرایی با تمرین استقامتی در هفته اول موش‌های صحرایی روزانه ۵ تا ۲۵ دقیقه با سرعت ۶ متر بر دقیقه، و شیب ۱۱ درصد تمرین کردند. سپس پروتکل تمرین اصلی به مدت ۵ هفته، هر روز با سرعت ۱۱ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه بود. از دلایل انتخاب این پروتکل تمرین اثرات بهبود دهنده ی نورونی این نوع تمرین در موش‌های صحرایی دارای اختلالات شناختی در موش‌های آزمایشگاهی کوچک و موش‌های صحرایی مدل تجربی پارکینسون و انسفالومیلیت (EAE) بود. پس از القای موفقیت آمیز در موشهای صحرایی، برنامه ی تمرینات استقامتی پس از ۱۰ روز آغاز شد. در مرحله ی ابتدایی، به منظور ایجاد آمادگی و کاهش استرس ناشی از تمرین، موشها به مدت یک هفته تحت برنامه ی تمرینی تدریجی قرار گرفتند. در این مرحله، مدت زمان دویدن از ۵ دقیقه در روز به تدریج به ۲۵ دقیقه افزایش یافت و حیوانات با سرعت ۶ متر بر دقیقه و شیب ۱۱ درصد به دویدن روی تردمیل سازگار شدند. پس از این دوره ی سازگاری، برنامه ی اصلی تمرینات به مدت پنج هفته و به صورت روزانه اجرا شد. در این

رطوبت بستر حیوانات استفاده می‌شد. در این مطالعه دسترسی به آب و غذای ویژه حیوانات آزادانه و نامحدود بود.

القا بیماری EAE

برای القا بیماری در روز هشتم، نخاع ۲۰ سر خوکچه هندی تهیه شده از مرکز انستیتو پاستور ایران پس از بی‌هوشی به وسیله کتامین و زایلوزین استخراج شد، سپس بافت نخاع خوکچه هندی بلافاصله در تانک ازت غوطه ور شدند و پس از آن در آون پر از ازت کوبیده شدند؛ جهت هموژن کردن بافت نخاع سپس با مقدار برابر نرمال سالین مخلوط شدند و در دمای ۵ درجه سانتی گراد در شیکر قرار داده شدند تا کاملاً هموژن شود. محلول هموژن شده به نسبت ۱ به ۱ با ادجوانت کامل فروند (Compound Freund's Adjuvant = CFA) به حالت محلول امولسیون تبدیل شدند. پس از تهیه محلول ۵۳ سر موش صحرایی پس از بیهوشی کامل تحت تزریق ۴۰۰ میکرولیتر مخلوط آنتی ژن و ادجوانت به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت و ۱۰۰ میکرولیتر به ناحیه بالشتک هر حیوان با سوزن شماره ۲۵ قرار گرفتند. پس از تزریق محلول ادجوانت فروند کامل و آنتی ژن (نخاع خوکچه هندی) روند بیماری روزانه ارزیابی شد. این نکته قابل ذکر است که موش‌های صحرایی بر اساس اختلال ایجاد شده دسته بندی شدند. دسته بندی بدین صورت بود که صفر: به منزله عدم بروز بیماری، ۱: اختلال در حرکت دم، ۲: فلج شدن دم، ۳: اختلال در راه رفتن، ۴: فلج یک پا، ۵: فلج هر دو پا، ۶: فلج چهار دست و پا و ۷: مرگ در نظر گرفته شد (۲۰). این نکته قابل ذکر است که ۲ سر موش صحرایی پس از گذشت ۱۴ روز از تزریق امولسیون تلف شدند و دو سر موش صحرایی به دلیل عدم توانایی حرکت و فلج کامل از روند تحقیق حذف شدند. در نهایت ۴۹ سر موش صحرایی مبتلا به EAE شرایط ورود به پژوهش را داشتند.

گروه بندی موش‌های صحرایی

پس از اطمینان از القا EAE موش‌های صحرایی با توجه به مقیاس بیماری همگن شدند؛ به طوری که از هر هفت مقیاس بیماری در تمام گروه‌ها قرار داده شد تا تفاوتی از نظر شواهد

ادامه پس از سنتز cDNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده در کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) از بر اساس راهنمای ژن‌های IFN- γ و IL-4 در سایت PUBMED واکنش رونویسی معکوس انجام شد. برای تعیین کارایی و اختصاصی بودن پرایمرها از پیش پرایمرها با استفاده از نرم افزار موجود در سایت NCBI ارزیابی گردید. پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه qReal Time PCR و پس از رسیدن نمونه‌ها به آستانه بیان (Cycle Threshold) جهت کمی‌سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
TBP	Forward: GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3'	5'147
	Reverse: AGTGATGTGGGGACAAAACGA-3'	5'
Bdnf	Forward: GAACGGGAGGGGTAGATTTC-3'	5'120
	Reverse: CAACCAGAATGGAGAGTGAAGA-3'	5'
TrKB	Forward: CACACACAGGGCTCCTTA-3'	5'169
	Reverse: AGTGGTGGTCTGAGGTTGG-3'	5'

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این مطالعه پژوهشی داده‌ها بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شدند. برای بررسی نحوه طبیعی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها برای بررسی تفاوت بین گروهی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و در ادامه در صورت معنی دار بودن برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی در نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد ($P \leq 0.05$).

نتایج

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که تفاوت معنی داری در مقادیر BDNF ($P=0.001$ و $F=41.01$) و TrKB در

مرحله، موشها هر روز به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۱ متر بر دقیقه و با حفظ شیب ۱۱ درصد تمرین کردند. انتخاب این پروتکل تمرینی بر اساس ادبیات پژوهشی و مطالعات معتبری صورت گرفت که سطح معنی داری تمرینات استقامتی منظم را بر اثرات محافظتی در نرون‌ها و اختلالات شناختی ایجاد میکند (۲۱، ۲۲).

مصرف ژل رویال

جهت مصرف ژل رویال با دوزهای ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ طی پنج هفته ژل رویال تهیه شده از مرکز جهاد کشاورزی شهرستان مرودشت روزانه ژل رویال مورد نیاز در نرمال سالین حل شده و سپس به صورت صفاقی به موش‌های صحرایی تزریق گردید (۲۳).

تشریح و بافت برداری

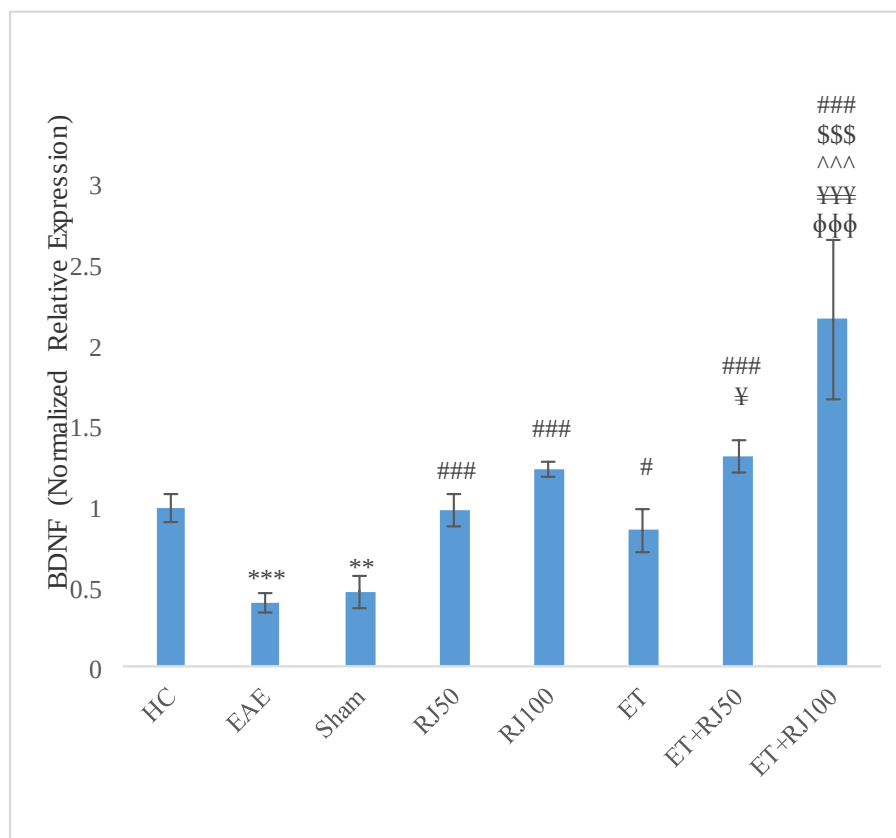
در ادامه ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی به منظور رفع اثر حاد تمرین و مکمل، موش‌های صحرایی با ترکیب کتامین (۸۰ mg/kg) و زایلوزین (۱۵ mg/kg) ساخت شرکت آلفاسان کشور هلند بی هوش شدند. پس از بی هوشی کامل قسمت فوقانی جمجمه توسط کاتر و قیچی جراحی به دقت برداشته شد. بافت مغز توسط پنس و نایف و تیغ سایز ۵ جدا شد. سپس بافت هیپوکامپ با برش قسمت‌های فوقانی و جانبی مغز به دقت جدا شد.

روش اندازه گیری متغیرها

جهت اندازه گیری BDNF و TrKB ابتدا بافت هیپوکامپ در بافر فسفات سالین هموژنیزه گردید، در ادامه مقدار ۵۰ میلی گرم بافت از مغز جدا شد، در اولین مرحله استخراج RNA بر اساس پروتکل شرکت سازنده (کیازن، آلمان) انجام شد. به منظور کسب اطمینان از کیفیت RNA از ژل آگارز الکتروفورز و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ شرکت سیگما (ساخت آمریکا) و فرمول $A_{260} \times \epsilon \times d / 1000 = C (\mu g / \mu l)$ استفاده شد. پس از تأیید غلظت مورد نظر نمونه‌ها برای مراحل بعدی نگهداری شدند. در

ET+RJ50، (P=۰/۰۰۱) ET، (P=۰/۰۰۱) RJ100، (P=۰/۰۰۱)
 بود. همچنین در گروه ET+RJ50 به طور معنی
 داری بیشتر از گروه ET بود (P=۰/۰۱۳) (نمودار ۱).

در گروه‌های تحقیق وجود دارد. در
 ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد مقادیر بیان ژنی
 BDNF در گروه EAE (P=۰/۰۰۱) و Sham (P=۰/۰۰۴) به
 طور معنی داری کمتر از گروه HC بود. اما در گروه‌های
 ET+RJ50، (P=۰/۰۱۷) ET، (P=۰/۰۰۱) RJ100، (P=۰/۰۰۱)
 و ET+RJ100 (P=۰/۰۰۱) به طور معنی داری بیشتر
 از گروه EAE بود. همچنین در گروه ET+RJ100 به طور معنی
 داری بیشتر از گروه RJ50



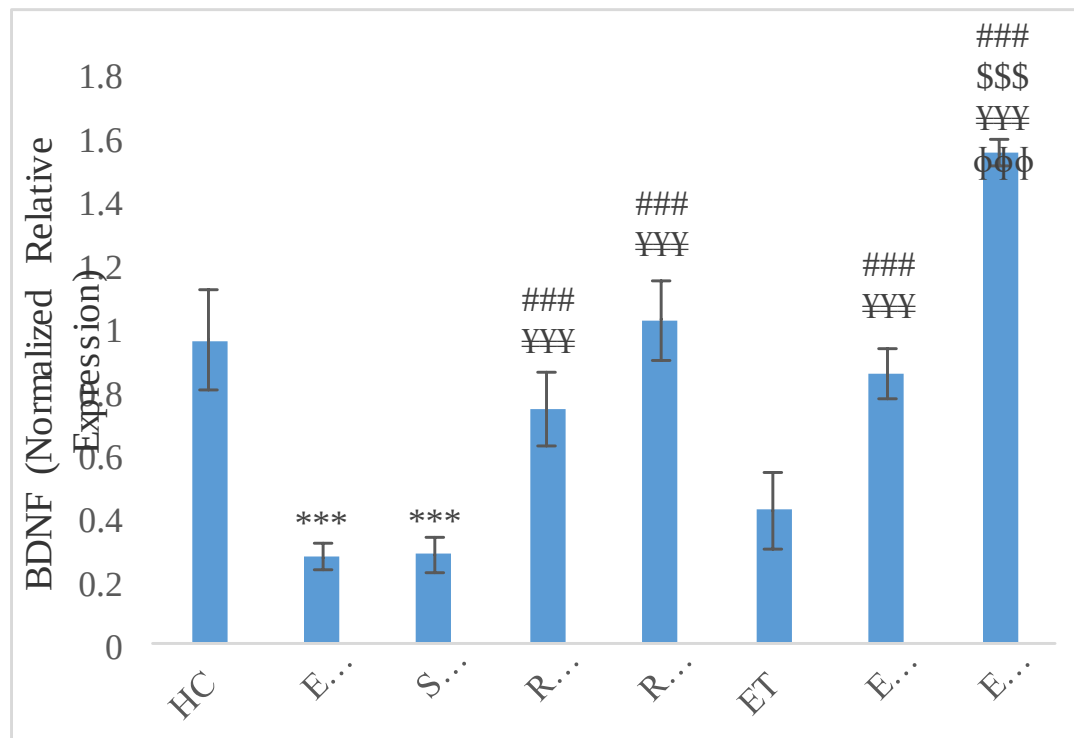
نمودار ۱. مقادیر بیان ژنی BDNF در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق

مقادیر بیان ژنی TrkB در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی
 در گروه EAE (P=۰/۰۰۱) و Sham (P=۰/۰۰۱) به طور معنی
 داری کمتر از گروه HC بود. اما در گروه‌های
 ET+RJ50، (P=۰/۰۰۱) RJ100، (P=۰/۰۰۱) و
 ET+RJ100 (P=۰/۰۰۱) به طور معنی داری بیشتر از گروه
 EAE بود. همچنین در گروه‌های RJ100 (P=۰/۰۰۳) و
 ET+RJ100 (P=۰/۰۰۱) به طور معنی داری بیشتر از گروه

*** (P=۰/۰۰۱) و ** (P=۰/۰۱) کاهش معنی دار نسبت به
 گروه HC؛ ### (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه
 EAE؛ \$\$\$ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه RJ50؛
 ^^^ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه RJ100؛ ¥¥¥
 (P=۰/۰۰۱) و ¥ (P=۰/۰۰۵) افزایش معنی دار نسبت به گروه ET؛
 φφφ (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه ET+RJ50

این در گروه ET+RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه ET+RJ50 بود ($P=0/001$) (نمودار ۲).

RJ50 بود؛ در حالی که در گروه‌های RJ50 ($P=0/001$)، RJ100 ($P=0/001$)، ET+RJ50 ($P=0/001$) و ET+RJ100 ($P=0/001$) به طور معنی داری بیشتر از گروه ET بود. علاوه بر



نمودار ۲. مقادیر بیان ژنی TrkB در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق

که اصلی‌ترین دلیل اختلالات شناختی در شرایط EAE به دلیل افزایش ROS می‌باشد؛ به گونه‌ای که با افزایش پراکسیداسیون ها، MDA و هیدروژن پراکسید افزایش می‌یابد و با مکانیسم تأثیر بر سیستم ایمنی و ماکروفاژها می‌تواند منجر به پاسخ التهابی شود و نشانگرهایی مانند $TNF-\alpha$ ، IL-6 و IL-1 β را افزایش دهد و این عوامل التهابی در نورون‌های هیپوکامپ مسیر جانوس کینازها را فعال می‌کنند و در ادامه روند تخریب DNA آغاز می‌شود. با آسیب به DNA، بیان نوروتروفین‌ها کاهش معنی داری را تجربه می‌کنند (۲۴). بنابراین BDNF، TrkB، NGF و دیگر نوروتروفین‌ها تحت تأثیر قرار گرفته و کمتر بیان می‌شوند. از سویی فعالیت‌های ورزشی با مکانیسم افزایش کاتکولامین‌ها،

*** ($P=0/001$) و ** ($P=0/01$) کاهش معنی دار نسبت به گروه HC؛ ### ($P=0/001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه EAE؛ \$\$\$ ($P=0/001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه RJ50؛ ^^^ ($P=0/001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه RJ100؛ YYY ($P=0/001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه ET؛ φφφ ($P=0/001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه ET+RJ50

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مقادیر BDNF در گروه ET به طور معنی داری بیشتر از گروه EAE بود؛ اما در افزایش TrkB در گروه ET نسبت به گروه EAE معنی دار نبود. اعتقاد بر این است

فعال سازی مسیر کالمدولین کیناز ها، سروتونین و دوپامین در گردش خون در ابتدا منجر به فعال شدن مسیر CAMP می شود و در ادامه فعال سازی پروکسی زوم گاما تمایز دهنده (PPAR) می شود. این مسیر گیرنده پروکسی زوم گاما فعال شده با کو اکتیویاتور آلفا (PGC-1 α) فعال شده و این امر به فعال سازی CEREB منجر می شود و در نهایت CEREB به جعبه TATA در DNA متصل می شود و BDNF را بیان می نماید (۲۵). مشاهده شده است که اجرای فعالیت ورزشی به عنوان یک مکانیسم اثربخش می تواند منجر به کاهش عوامل التهابی، مولکول های چسبان درون عروقی و بین سلولی در موش های مدل EAE شود (۲۶). در مطالعه ای نیز محققین نشان دادند که ورزش بر روی نوارگردان می تواند از طریق کاهش التهاب نورونی، و استرس اکسیداتیو منجر به افزایش BDNF در بافت مغز و نخاع در یک مدل EAE شود. نتایج مطالعات متاآنالیز انسانی نشان می دهد که مداخله فعالیت ورزشی منجر به افزایش معنی داری در سطوح BDNF در افراد مبتلا به MS می شود (۲۷). این در حالی است که تأثیر تمرین بر سازگاری های نوروتروفینی گاهاً به طول دوره تمرین نیز وابسته است؛ به گونه ای که در مطالعه ای نتایج حاکی از عدم تأثیر معنی دار چهار هفته ورزش هوازی بر TrKB در بافت مغز موش های صحرایی دارای ضایعه نخاعی بود. حتی در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۶ توسط حسینی و همکاران انجام شد مشاهده شد که نوع فعالیت ورزشی را نیز اثر گذار است و مشخص شد که تمرین مقاومتی به مدت ۴ هفته منجر به کاهش سطح BDNF سرمی موش های صحرایی سالم گردید (۲۸).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد BDNF و TrKB در گروه های ۵۰ mg/kg RJ50 و ۱۰۰ mg/kg RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه EAE بود. علاوه بر این مقادیر بیان ژنی TrKB در گروه ۱۰۰ mg/kg RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه ۵۰ mg/kg RJ50 بود. اعتقاد بر این است که RJ به دلیل دارا بودن مقادیر زیاد ۱۰ هیدروکسی ۲ دکانونیک اسید (10HDA) دارای خواص نوروتروفینی است و می تواند به صورت مستقیم به گیرنده BDNF متصل شود و در نهایت از طریق فعال سازی مسیر

PI3K/CEREB موجب رونویسی از BDNF و TrKB در DNA نورون ها شود (۲۹،۳۰). علاوه بر این محققین نشان داده اند که مصرف RJ می تواند مسیرهای رونویسی و پیراستاری ژن ها را در هیپوکامپ تنظیم نماید، آمیلوئید بتا را کاهش دهد و در نهایت عملکرد میتوکندری را برای تأمین انرژی مورد نیاز در نورون ها در بالاترین سطح کیفی و عملکردی قرار دهد (۳۱،۳۲،۳۰). با توجه به ادبیات پژوهشی انجام شده مشاهده شده است که تأثیر RJ بر نوروتروفین ها نیز وابسته به دوز مصرفی و طول دوره مصرف آن دارد. به گونه ای که در تحقیق Kheirdeh و همکاران نتایج حاکی از تأثیر مطلوب تر دوز ۱۰۰ mg/kg نسبت به ۵۰ mg/kg بر نشانگرهای التهابی در بافت مغز موش های صحرایی مدل EAE داشت (۱۸). همچنین در مطالعه ای دیگر نیز دوز ۱۰۰ mg/kg تأثیر مطلوب تری بر نشانگرهای میلین زایی در بافت هیپوکامپ نسبت به دوز ۵۰ mg/kg در مدل حیوانی EAE مشاهده شد (۱۷،۱۹). همچنین در مطالعه ای نتایج نشان داد که مصرف RJ با دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg هر دو موجب افزایش پروتئین پیش ساز رشد عصب و P75 در بافت هیپوکامپ موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر گردید (۳۱). نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که BDNF و TrKB در گروه های ET+RJ50 و ER+RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه EAE بود. اجرای تمرین ورزشی و پروتکول طراحی شده در مطالعه حاضر با مکانیسم بهبود نوروترانسمیتر ها، افزایش جریان خون مغز، فعال سازی مسیرهای وابسته به کلسیم، PI3K، فسفریلاسیون AMPK، فسفریلاسیون PPAR و افزایش PGC-1 α در نهایت فعال شدن CEREB می شود که نتیجه این سازگاری ناشی از اجرای تمرینات ورزشی منجر به افزایش معنی داری در رونویسی از BDNF و TrKB می باشد. همچنین RJ به دلیل دارا بودن 10H2DA دارای خواص نوروتروفینی است که در بحث رونویسی و فعالیت وابسته به نرون زایی حائز اهمیت است لذا؛ منجر به اعمال آنابولیک و رونویسی از پروتئین ها خواهد شد. فعالیت این مکانیسم منجر به فعال سازی PI3K/CEREB می شود که در نهایت منجر به رونویسی از BDNF و TrKB می شود. لذا با توجه به دارا بودن مسیرهای

تمرین بر BDNF و TrkB به نظر می‌رسد محدودیت در بررسی تمرینات هوازی، مقاومتی با طول دوره‌های مختلف از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی تمرینات مختلف با طول دوره‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرند.

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه، به نظر می‌رسد که اجرای تمرین ورزشی و مصرف ژل رویال، به صورت مجزا و همچنین به صورت ترکیبی، دارای اثرات نوروتروفیک هستند. همچنین، نتایج نشان می‌دهد که تأثیر ترکیبی تمرین ورزشی و ژل رویال وابسته به دوز است، به طوری که دوز بالاتر ژل رویال در ترکیب با تمرین، اثرات مطلوب‌تری بر سطوح نوروتروفین‌ها در مدل تجربی انسفالومیلیت خودایمنی (EAE) در ناحیه هیپوکامپ دارد.

مشترک مانند سیگنالینگ PI3K/CEREB (که در مطالعه حاضر بررسی نشد) به نظر می‌رسد سازگاری ناشی از اجرای فعالیت ورزشی و مصرف RJ دارای اثرات سینرژیکی باشد. بنابراین افزایش BDNF و TrkB در گروه ET+RJ100 به طور معنی داری بیشتر از گروه‌های ET، RJ100، RJ50 و ET+RJ50 اینگونه قابل توجه است. همانگونه که در مطالعه Kheirdeh و همکاران؛ Lohrasebi و همکاران، Mosallanezhad و همکاران، Tavakolian (مطالعه پیشین ما) اثر تعاملی تمرین و RJ در شرایط EAE بر نشانگرهای میلینیشن، التهابی، عملکرد جسمانی و عملکرد شناختی مطلوب تر از اثر هر کدام به تنهایی بود. با توجه به اثر تقویت کننده این دو مداخله به ویژه در دوزهای بالاتر به نظر می‌رسد عدم ارزیابی محور PI3K/CEREB یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد. از این رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی این محور سیگنالی مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین با توجه به نقش طول دوره

References

1. Haki, M., Al-Biati, H. A., Al-Tameemi, Z. S., Ali, I. S., & Al-Hussaniy, H. A. (2024). Review of multiple sclerosis: Epidemiology, etiology, pathophysiology, and treatment. *Medicine*, 103(8), e37297.
2. Moghtaderi, A., Shahidi-Pourakbari, M., Izadi, S., Khosravi, A., & Hashemzehi, Z. (2023). Ongoing increase in incidence and prevalence of multiple sclerosis in south-eastern Iran: A three decade study. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 71, 104557.
3. Gich, J., Salavedra-Pont, J., Coll-Martinez, C., Quintana, E., Álvarez-Bravo, G., Robles-Cedeño, R., ... & Ramió-Torrentà, L. (2024). The nature of memory impairment in multiple sclerosis: understanding different patterns over the course of the disease. *Frontiers in Psychology*, 14, 1269794.
4. Vacaras, V., Paraschiv, A. C., Iluț, S., Vacaras, C., Nistor, C., Marin, G. E., ... & Mureșanu, D. F. (2024). Brain-Derived Neurotrophic Factor in Multiple Sclerosis Disability: A Prospective Study. *Brain Sciences*, 14(3), 243.
5. Nociti, V., & Romozzi, M. (2023). The role of BDNF in multiple sclerosis neuroinflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 8447.
6. Robinson, A. P., Harp, C. T., Noronha, A., & Miller, S. D. (2014). The experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model of MS: utility for understanding disease pathophysiology and treatment. *Handbook of clinical neurology*, 122, 173-189.
7. Ghanbari, P., Khajehzadeh, S., Sayyed, A., Raeisi, D., & Salehi, O. (2022). 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*, 12(6), 627.
8. Salehi, O. R., Sheikholeslami-Vatani, D., & Hosseini, S. A. (2021). Psycho-physiological effects of high intensity interval training and vitamin E consumption in elderly trimethyltin-treated Alzheimer's rats. *Metabolism and Exercise*, 11(2), 57-76.
 9. Hosseini, S. A., Salehi, O., Keikhosravi, F., Hassanpour, G., Ardakani, H. D., Farkhaie, F., ... & Azarbayjani, M. A. (2022). Mental health benefits of exercise and genistein in elderly rats. *Experimental aging research*, 48(1), 42-57.
 10. Salehi, O. R., Hosseini, S. A., Farkhaie, F., Farzanegi, P., & Zar, A. (2019). The effect of moderate intensity endurance training with genistein on brain-derived neurotrophic factor and tumor necrosis factor- α in diabetic rats. *Journal of nutrition, fasting and health*, 7(1), 44-51.
 11. Shobeiri, P., Karimi, A., Momtazmanesh, S., Teixeira, A. L., Teunissen, C. E., van Wegen, E. E., ... & Rezaei, N. (2022). Exercise-induced increase in blood-based brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in people with multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis of exercise intervention trials. *PloS one*, 17(3), e0264557.
 12. Cheng, S. M., & Lee, S. D. (2022). Exercise training enhances BDNF/TrkB signaling pathway and inhibits apoptosis in diabetic cerebral cortex. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6740.
 13. Seyed-Alhosseini, M., Rajabi, H., Ghadiri, A. A., Gharakhanlou, R., & Sarkaki, A. (2017). The Effect of Four Weeks of Aerobic Swimming on the Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Tyrosine Receptor Kinase B (TrkB) in the Brain of Animal Model of Experimental Autoimmune Encephalitis (EAE). *Journal of Isfahan Medical School*, 35(448), 1263-1270.
 14. Kawahata, I., Xu, H., Takahashi, M., Murata, K., Han, W., Yamaguchi, Y., ... & Yamakuni, T. (2018). Royal jelly coordinately enhances hippocampal neuronal expression of somatostatin and neprilysin genes conferring neuronal protection against toxic soluble amyloid- β oligomers implicated in Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Functional Foods*, 51, 28-38.
 15. Dehbozorgi, A., Tabrizi, L. B., Hosseini, S. A., & Rasoli, M. H. (2020). Effects of swimming training and royal jelly on BDNF and NGF gene expression in hippocampus tissue of rats with Alzheimer's disease. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 22(2).
 16. Tavakolian, S., Peeri, M., Fattahi Masrour, F., & Hajghasem, A. (2024). The Effect of Royal Jelly and Endurance Exercise on Cognitive Function and Pathological Changes of Hippocampus Tissue in Rats with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Journal of Nutrition, Fasting and Health*, 12(2), 90-98.
 17. Lohrasbi, M., Taghian, F., Dehkordi, K. J., & Hosseini, S. A. (2022). Interactive Effects of Endurance Training With Royal Jelly Consumption on Motor Balance in an Experimental Encephalomyelitis Model. *Journal of Nutrition, Fasting & Health*, 10(1).
 18. Kheirdeh, M., Jahromi, M. K., Hemmatinavar, M., & Nemati, J. (2023). Additive beneficial effects of aerobic training and royal jelly on hippocampal inflammation and function in

- experimental autoimmune encephalomyelitis rats. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 70, 104527.
19. Lohrasbi, M., Taghian, F., Jalali Dehkordi, K., & Hosseini, S. A. (2022). The functional mechanisms of synchronizing royal jelly consumption and physical activity on rat with multiple sclerosis-like behaviors hallmarks based on bioinformatics analysis, and experimental survey. *BMC neuroscience*, 23(1), 34.
 20. Mousavi, S., Fallahmohammadi, Z., & Hajizadeh Moghaddam, A. (2018). Evaluating the protective effect of 6 weeks resistance training and vitamin D intake on brain neuro-inflammatory factors in female rats with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Feyz Medical Sciences Journal*, 22(6), 573-580.
 21. Malekinejad, H., Ahsan, S., Delkhosh-Kasmaie, F., Cheraghi, H., Rezaei-Golmisheh, A., & Janbaz-Acyabar, H. (2016). Cardioprotective effect of royal jelly on paclitaxel-induced cardio-toxicity in rats. *Iranian journal of basic medical sciences*, 19(2), 221.
 22. Tajiri, N., Yasuhara, T., Shingo, T., Kondo, A., Yuan, W., Kadota, T., ... & Date, I. (2010). Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. *Brain research*, 1310, 200-207.
 23. Bernardes, D., & Oliveira, A. L. R. D. (2018). Regular exercise modifies histopathological outcomes of pharmacological treatment in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Frontiers in neurology*, 9, 950.
 24. Taherian, N., Vaezi, G., Neamati, A., Hojjati, V., Ghorbani-Taherdehi, F., Sahebkar, A., & Gorji-Valokola, M. (2024). The dose-dependent neuroprotective effect of norepinephrine in improving memory retrieval in an experimental model of multiple sclerosis, experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain research bulletin*, 209, 110907.
 25. Hamdi, L., Nabat, H., Goldberg, Y., Fainstein, N., Segal, S., Mediouni, E., ... & Einstein, O. (2022). Exercise training alters autoimmune cell invasion into the brain in autoimmune encephalomyelitis. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 9(11), 1792-1806.
 26. Cefis, M., Chaney, R., Wirtz, J., Méloux, A., Quirié, A., Leger, C., ... & Garnier, P. (2023). Molecular mechanisms underlying physical exercise-induced brain BDNF overproduction. *Frontiers in molecular neuroscience*, 16, 1275924.
 27. Karimi, N., Ashourizadeh, H., Pasha, B. A., Haghshomar, M., Jouzdani, T., Shobeiri, P., ... & Rezaei, N. (2022). Blood levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in people with multiple sclerosis (MS): A systematic review and meta-analysis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 65, 103984.
 28. Giti, Z., Banaeifar, A., Arshadi, S., & Azarbayjani, M. A. (2021). Effect of Eight Weeks of Positive Slope and Negative Slope Training, Along with Royal Jelly on The Hippocampal Expression Of B-Amyloid And Γ -Secretase in TrimethyltinInduced Alzheimer's Disease Rats. *Journal of Nutrition, Fasting & Health*, 9(1).
 29. Ziaee Bashirzad, M., Cheragh-Birjandi, S., Younessi HERAVI, M. A., & Salarinia, R. (2024). The effect of four weeks of different aerobic exercises on the gene expression of tropomyosin kinase B receptor and phosphatidyl-inositol-3-kinase in hippocampal rats with spinal cord injury. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*.

30. Hosseini, A., PARNOW, A. H., Karimi, I., & HOSSEINI, B. (2016). Effect of 4-week resistance training on plasma brain derived neurotrophic factor in rats.
31. Ashofteh, A., CHERAGH, B. S., & TaheriChadorneshin, H. (2022). 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.
32. Mosalla nezhad A, Taghian F, Jalali Dehkordi K, Hosseini S A. The Effect of Aerobic Training with Royal Jelly Consumption on Health Related Anthropometric Markers in an Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Model. Jorjani Biomed J 2021; 9 (4) :1-12

Original Article

Investigating the changes of some neurotrophins in the hippocampus tissue in an experimental autoimmune encephalomyelitis model following endurance training and royal jelly

Received: 30/03/2025 - Accepted: 15/06/2025

Saratavakolian¹
Professor Maghsoud Peeri^{2*}
Dr. Forozan Fattahi¹

¹ Department of sports physiology,
Central Tehran Branch, Islamic Azad
University, Tehran, Iran

² Department of sports physiology,
Central Tehran Branch, Islamic Azad
University, Tehran, Iran (Corresponding
Author)

Email: m.peeri@iauctb.ac.ir

Abstract

Introduction: Neurotrophin disorders are a significant mechanism in multiple sclerosis (MS). This study aimed to explore changes in specific neurotrophins in the hippocampal tissue of an experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model, following endurance training (ET) and royal jelly (RJ).

The study involved 49 female Sprague-Dawley rats with EAE, divided into seven groups: 1) EAE, 2) sham (Sh), 3) 50 mg/kg RJ (RJ50), 4) 100 mg/kg RJ (RJ100), 5) ET, 6) ET+RJ50, and 7) ET+RJ100. Seven healthy rats served as a control group (HC). ET was conducted over five weeks, with four sessions per week at a speed of 11-15 m/min for 30 minutes. RJ was administered intraperitoneally at doses of 50 and 100 mg/kg/day. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc tests ($P \leq 0.05$). BDNF levels in the ET group were significantly higher than in the EAE group. Additionally, BDNF levels in the RJ50, RJ100, ET+RJ50, and ET+RJ100 groups were significantly elevated compared to the EAE group. TrkB levels in the RJ100 group were significantly higher than in the RJ50 group, with both RJ50 and RJ100, as well as ET+RJ50 and ET+RJ100 groups, showing significantly higher TrkB levels than the EAE group. Notably, BDNF and TrkB levels in the ET+RJ100 group were significantly greater than in the RJ50, RJ100, ET, and ET+RJ50 groups. The results indicate that both ET and RJ can have neurotrophic effects, both individually and in combination. The effect of ET with RJ is dose-dependent, with higher doses producing more favorable outcomes on neurotrophins in EAE conditions within the hippocampal tissue. methods of education and providing documented training by prominent professors can open the way for the success of assistants in their academic course.

Keywords: Exercise, Royal Jelly, Neurotrophins, Hippocampus, Experimental Autoimmune Encephalomyelitis