

The Impact of High Intensity Interval Training and Bee Pollen Supplementation on BDNF Levels in Rats Exposed to Cadmium

Sam Rahmani Chegani¹,
Mehdi Rozbahani²,
Seyed Ali Hosseini³,
Ahmad Hematfar⁴,
Masoud Moini⁵

¹ PhD Student, Department of Physical Education, Borujard branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran

² Assistant Professor, Department of Physical Education, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran

³ Professor, Sports Physiology Department, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Physical Education, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran

⁵ Assistant Professor, Sports Physiology Department, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran

(Received June 10, 2024; Accepted September 26, 2024)

Abstract

Background and purpose: Exposure to heavy metals like cadmium leads to toxicity in the body, and these toxins trigger the production of reactive oxygen species, or free radicals. Even small exposures to these substances can impair brain function. High-intensity interval training (HIIT) and bee pollen have been shown to combat these free radicals. The present study aimed to investigate the effectiveness of HIIT and bee pollen on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in rats exposed to cadmium.

Materials and methods: In this experimental study, 25 Sprague-Dawley male rats, 8 weeks old with an average weight of 258 g, were randomly divided into five groups of five: (1) healthy control (HC), (2) cadmium (CD), (3) cadmium + bee pollen (PO), (4) cadmium + training (HIIT) and (5) cadmium + bee pollen + training (HIIT-PO). The cadmium-treated groups (CD, PO, HIIT, and HIIT-PO) were exposed to cadmium administered as CdCl₂ at a concentration of 400 mg/kg.L dissolved in water. Additionally, the PO and HIIT-PO groups received a daily oral gavage of 200 mg of bee pollen dissolved in 2.4 cc of normal saline. Prior to the training intervention, a VO₂max test was conducted to determine the maximum intensity of the training sessions. Following this, an eight-week HIIT program was performed using the incremental Bedford protocol. Forty-eight hours after the final training and supplementation session, and following a 12-hour fasting period, the rats were anesthetized with ketamine (50 mg/kg) and xylazine (20 mg/kg). The hippocampal tissue of the brain was carefully extracted and BDNF levels were measured using an ELISA kit. The experimental data were analyzed using an independent t-test and two-way analysis of variance (ANOVA).

Results: Cadmium caused a significant decrease in BDNF levels ($P \leq 0.05$). Both HIIT training and bee pollen individually demonstrated significant effects, increasing BDNF levels ($P \leq 0.05$). However, the interaction between HIIT training and bee pollen did not have a significant effect on BDNF levels in the mice ($P \geq 0.05$).

Conclusion: Bee pollen, due to its antioxidant properties, increases BDNF levels in rats exposed to cadmium. Similarly, HIIT training enhances BDNF production in the hippocampus of cadmium-exposed rats exposed by influencing the angiogenesis system. However, the combined interaction of bee pollen and HIIT training does not produce a significant effect on BDNF levels in the hippocampus of these rats.

Keywords: HIIT training, pollen, cadmium, BDNF, laboratory mice

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (239): 15-25 (Persian).

Corresponding Author: Mehdi Rozbahani - Department of Physical Education, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran (E-mail: mehdi.rozbahani@iau.ac.ir)

اثربخشی یک دوره تمرینات تناوبی شدید و مصرف گرده گل بر سطح BDNF موش‌های در معرض کادمیوم

سام رحمانی چگنی^۱
 مهدی روزبهانی^۲
 سید علی حسینی^۳
 احمد همت فر^۴
 مسعود معینی^۵

چکیده

سابقه و هدف: قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین مانند کادمیوم باعث ایجاد مسمومیت در بدن می‌شود و این مسمومست‌ها باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) یا رادیکال‌های آزاد می‌شود حتی بروز اندک این مواد می‌تواند عملکرد مغز را مختل می‌کند ورزش HIIT و گرده گل با این رادیکال‌های آزاد مقابله می‌کنند. هدف مطالعه حاضر تعیین میزان اثربخشی یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و گرده گل بر سطح BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) موش‌های در معرض کادمیوم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش نر نژاد اسپراگ-داولی، سن ۸ هفته و وزن ۲۵۸ گرم به صورت تصادفی انتخاب و به پنج گروه ۵ تایی شامل سالم کنترل (HC)، کادمیوم (CD)، کادمیوم + گرده گل (PO)، کادمیوم تمرین (HIIT) و کادمیوم + گرده گل + تمرین (HIIT-PO) تقسیم شدند. کادمیوم به صورت کادمیوم کلراید ۴۰۰ mg/kg.l محلول در آب به گروه‌های (CD/PO/HIIT/HIIT-PO) خوراندن شد و روزانه ۲۰۰ mg گرده گل در ۴/۲cc نرمال سالین به صورت گاواژ به گروه‌های (PO/HIIT-PO) داده شد. پیش از تمرینات برای تعیین حداکثر شدت تمرین از آزمون vo2max استفاده شد و سپس هشت هفته تمرین HIIT با پروتکل افزایشی بدفورد انجام شد. سپس ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و مکمل دهی، در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها با استفاده از کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۲۰ mg/kg) بیهوش شدند. سپس بافت هیپوکامپ مغز استخراج شد و با استفاده از کیت الایزا، BDNF اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط آزمون تی مستقل و تحلیل واریانس دوراهه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: در مطالعه حاضر، کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار سطح BDNF شد ($P \leq 0/05$)، اثر تمرینات HIIT و گرده گل معنی‌دار بود به این صورت که تمرینات و گرده گل سبب این افزایش شدند ($P \leq 0/05$). اما تعامل این دو تاثیر معنی‌داری بر سطح BDNF موش‌ها نداشت ($P \geq 0/05$).

استنتاج: بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، گرده گل با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش سطح BDNF موش‌های در معرض کادمیوم می‌شود و تمرین HIIT با تاثیر بر سیستم آنژیوژنز باعث افزایش تولید BDNF در هیپوکامپ موش‌های در معرض کادمیوم می‌شود. اما تعامل این دو باهم تاثیر معنی‌داری بر سطح BDNF هیپوکامپ موش‌ها ندارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین HIIT، گرده گل، کادمیوم، BDNF، موش آزمایشگاهی

E-mail: mehdi.roozbahani@iauo.ac.ir

مؤلف مسئول: مهدی روزبهانی - بروجد: دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم انسانی

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۲. استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۳. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۴. استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۵. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۶/۲۰ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۸/۱۲

مقدمه

فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain-Derived Neurotrophic Factor: BDNF)، یک نوروتروفین است و به خانواده‌ای از پروتئین‌ها تعلق دارد که باعث بقا، عملکرد و توسعه نورون‌ها و آنژیوژنز می‌شود. بیان ژن BDNF را می‌توان در قشر، هیپوکامپ و نواحی قاعده‌ای پیش مغز (برای حافظه، یادگیری و عملکرد شناختی بالاتر ضروری می‌باشند)، یافت. BDNF وظیفه نوروژنز و افزایش انتقال عصبی و انعطاف‌پذیری سیناپسی را در کل اعصاب به عهده دارد و هم‌چنین باعث عملکرد بهتر هیپوکامپ در طولانی مدت می‌شود که برای شکل‌گیری حافظه مهم است و در متابولیسم گلوکز و لیپید نقش دارد، علاوه بر این به‌عنوان بخشی از مکانیسم‌های ترمیم در عضلات آسیب دیده موثر است (۲،۱).

Weinstein و همکاران دریافتند که سطوح بالاتر BDNF از افراد مسن در برابر آلزایمر محافظت می‌کند (۳). فلزات سنگین باعث کاهش BDNF می‌شوند از جمله کادمیوم (Cd)، سرب (Pb) و جیوه (Hg)، که در چرخه BDNF اختلال ایجاد می‌کنند. اخیراً به دلیل تأثیر کادمیوم بر مغز در بیش‌تر مقالات به بررسی این فلز سنگین می‌پردازند (۴). در این زمینه Rai و همکاران دریافتند که مخلوط (آرسنیک، سرب و کادمیوم) سطح بیان BDNF را در موش‌ها کاهش می‌دهد (۵). کادمیوم باعث کاهش ناقل زینک می‌شود که این کاهش منجر به آغاز تنظیم آبخاری می‌شود و گیرنده تیروزین کیناز B (tropomyosin receptor kinase B: BDNF-TrkB) را کاهش و متعاقب آن فعال‌سازی سنتز BDNF کم می‌شود که این امر نقش مهمی در شکل‌پذیری و رشد و انعطاف‌پذیری نورون ایفا می‌کند و بر مسیرهای سیگنالینگ حیاتی در مغز تأثیر می‌گذارد (۶).

کادمیوم یک آلاینده محیطی فراگیر است که در صنعت استفاده‌های فراوانی دارد و از آن جمله می‌توان به تولید باتری‌ها، رنگ‌ها، آبکاری فلزات، صنایع نظامی، کودها و مواد ثبات بخش در پلاستیک‌ها اشاره کرد.

هم‌چنین در زندگی روزمره مانند سیگار کشیدن و گرد و غبار و مصرف آب و غذای آلوده به کادمیوم، این فلز وارد بدن انسان می‌شود. این فلز به دلیل آلودگی شهرها به مسئله جهانی تبدیل شده است. تجمع کادمیوم در بدن با ایجاد مسمومیت در ارگان‌هایی مانند کبد، ریه، دستگاه تناسلی مردانه باعث آسیب می‌شود، که عوارض آن شامل اسهال، شکم درد، استفراغ شدید، آسیب به سیستم عصبی مرکزی، DNA و سرطان می‌باشد. گزارش شده است در مسمومیت‌های مزمن با کادمیوم، بیش‌ترین سطح کادمیوم در هیپوکامپ تجمع یافته و باعث نورودژنراسیون می‌شود و هم‌چنین می‌تواند در میتوکندری با ورود به ساختار آنزیم‌های چرخه فسفریلاسیون اکسیداتیو، تولید انرژی را مختل کند و می‌تواند در بدن جایگزین عناصر دیگری مثل کلسیم شده و باعث کاهش ورود آن به سلول شود (۷). محافظت از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم به دلیل گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) و رادیکال‌های آزاد، به صورت مکانیسم‌های دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی است که به خاصیت محافظتی مواد، خواص آنتی‌اکسیدانی گفته می‌شود (۸). در سال‌های اخیر چندین ترکیب با خواص آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و از این میان مکمل‌هایی که بر استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت کادمیوم تأثیر می‌گذارند شامل لوتئین، زاگزانتین در تخم مرغ، ویتامین C، E، بتاکاروتن، سلنیم و گرده گل هستند (۹) که عملکرد فیزیولوژیکی را در آسیب اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین محافظت یا احیا می‌کنند (۱۰،۱۱).

گرده گل که به‌عنوان محصول طبیعی عسل شناخته می‌شود به لطف اثرات درمانی در اختلالات متابولیک محبوب شده است. در میان فرآورده‌های عسل، گرده گل محصول بسیار ارجح و حاوی مواد ضروری برای زندگی است. علاوه بر این، گرده گل برای قرن‌ها در طب سنتی به دلیل کاربردهای تغذیه‌ای و پزشکی مورد

استفاده قرار گرفته است و ترکیب گرده گل می تواند به دلیل منشاء گیاهی و جغرافیایی منطقه ای متفاوت باشد (۱). متابولیت های گرده گل شامل پروتئین ها، اسیدهای آمینه، آنزیم ها، کوآنزیم ها، کربوهیدرات ها، لیپیدها، اسیدهای چرب، ترکیبات فنلی، عناصر زیستی و ویتامین ها هستند (۱۲). میانگین پروتئین گرده ۲۲/۷ درصد است که شامل اسیدهای آمینه حیاتی مانند تریپتوفان، فیل آلانین، متیونین، لوسین، لیزین، ترئونین، هیستیدین، ایزولوسین، والین و اسیدهای نوکلئیک، به ویژه اسید ریبونوکلئیک می باشد که این اسیدهای آمینه در بدن ما سنتز نمی شوند، اما در رشد و سلامت بدن و بیان ژن ها، مسیرهای پیام رسانی سلولی، هضم و جذب مواد مغذی، نقش مهمی دارند. کربوهیدرات ها در گرده گل به میزان ۳۰/۸ درصد وجود دارند که حاوی قندهایی مانند گلوکز و فروکتوز است. حدود ۵/۱ درصد از لیپیدها در گرده گل به عنوان اسیدهای چرب ضروری مانند اسیدهای آروکائیک، لینولئیک و γ -لینولئیک، فسفولیپیدها و فیتوسترول ها (به ویژه β -سیتوسترول) یافت می شوند (۱۳). ترکیبات فنلی، ۱/۶ درصد از ترکیبات گرده گل را تشکیل می دهد که شامل لکوترین ها، کاتچین ها، اسیدهای فنولیک (مانند اسید کلروژنیک) و فلاونوئیدها (مانند کامفرول، ایزورامنتین و کوئرستین) هستند. مقالات زیادی خواص ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی گرده گل را ثابت کرده اند و بیان شده است که اثر درمانی و پیشگیری کننده ROS گرده گل به دلیل ترکیبات فنلی موجود در آن می باشد. گرده گل به عنوان یک عامل محافظت کننده عصبی مهم عمل می کند (۱۴، ۱۵)، به عنوان مثال در برخی از مطالعات مربوط به اختلالات عصبی، ادعا کرده اند که گرده گل سطح اضطراب را کاهش می دهد و اختلالات شناختی را بهبود می بخشد (۱۵، ۱۶)، هم چنین Abdelaziz و همکاران در پژوهشی با عنوان سمیت کادمیوم و اثر محافظتی گرده گل، ویتامین C و B کمپلکس به این نتیجه رسیدند که درمان با گرده گل بیشترین تأثیر را در بهبود پارامترهای خونی مدنظر

داشته است که ثابت می کند گرده گل باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت کادمیوم کلرید می شود (۱۷).

فعالیت های ورزشی متفاوتی در ارتباط با BDNF انجام شده است که پرتکرارترین و محبوب ترین آنها تمرین تناوبی با شدت بالا (High-intensity interval training: HIIT) است که یک پروتکل تمرینی شامل یک یا چند دوره تمرین شدید یا انفجاری کوتاه مدت با ریکاوری کوتاه مدت می باشد که تا رسیدن به خستگی به صورت متناوب انجام شده و منجر به سنتز BDNF بیش تر می شود. هم چنین لازم به ذکر است که این نوع تمرین به دلیل افزایش متابولیسم، افزایش سوزاندن کالری و چربی و کاهش زمان تمرین، بسیار محبوب می باشد (۱۸).

Huang و همکاران نشان دادند که ورزش حتی اگر یک جلسه باشد بیان ژن و غلظت BDNF را در هیپوکامپ، جسم مخطط و نواحی مختلف قشر مغز افزایش می دهد (۱۹) و این افزایش BDNF در مغز در بیش تر مواقع باعث بهبود عملکرد شناختی به ویژه یادگیری و حافظه که وابسته به هیپوکامپ هستند مانند ماز آبی موریس یا تشخیص اشیا، می شود. بیان شده است که تمرین HIIT غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و فاکتور نکروزکننده آلفا (TNF- α): Tumor necrosis factor (alpha) را در مغز افزایش می دهد که این مولکول ها می توانند سنتز BDNF را شروع کنند و باعث خود تنظیمی مثبت سنتز BDNF شوند (۲۰).

سوال اصلی که در این مطالعه مطرح است این است که اثر بخشی هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف گرده گل هر کدام به تنهایی و با هم به چه میزان تأثیر معنی دار بر BDNF موش های آزمایشگاهی در معرض کادمیوم دارند؟

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع مطالعات تجربی بود و تلاش شده

است تا تمامی متغیرهای مزاحم کنترل شوند. ابتدا ۲۵ سر موش آزمایشگاهی نر نژاد اسپراگ-داولی، سن ۸ هفته و وزن ۲۵۰ گرم که از آزمایشگاه حیوانات مرودشت تهیه شد، پس از انتقال به محیط آزمایشگاه به مدت ۷ روز جهت سازگاری نگهداری شدند. سپس موش‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه ۵ تایی شامل: (۱) سالم کنترل (HC)، (۲) دریافت کادمیوم (CD)، (۳) کادمیوم+گرده گل (PO)، (۴) کادمیوم+تمرین تناوبی شدید (HIIT) و (۵) کادمیوم+گرده گل+تمرین تناوبی شدید (HIIT-PO) تقسیم شدند. کادمیوم در طول دوره تمرینی به‌صورت کادمیوم کلراید که با کد ۳۶۶۲۹،۲۲ ساخت آلفا ایسر آلمان تهیه شده بود و به صورت محلول در آب به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در لیتر از طریق آب آشامیدنی به موش‌های گروه‌های (HIIT/HIIT-PO / PO / CD) خورانده شد. ظروف آب حاوی کادمیوم به‌طور روزانه و در تمام مدت هشت هفته، کنترل و همواره پر می‌شد به‌طوری که موش‌ها در تمام مدت قادر به مصرف آب به‌مقدار دل‌خواه بودند. مکمل گرده گل که از شرکت هانی بال ایران تهیه شد به صورت روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم گرده گل در ۴/۲ سی‌سی نرمال سالین حل شد و به صورت گاوآژ به موش‌های آزمایشگاهی گروه‌های (PO/HIIT-PO) داده شد (۲۱، ۱۸).

مدت زمان مطالعه هشت هفته به طول انجامید و پروتکل تمرینی، HIIT شامل سه جلسه دویدن هفتگی روی تردمیل با شدت و مدت زمان مشخص بود. بدین صورت که در ابتدا به دلیل حفظ و اعمال شدت تمرین مناسب یک آزمون تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌های گروه‌های (HIIT/HIIT-PO) با عنوان آزمون افزایشی استاندارد بدفورد که توسط لیندرو و همکاران برای موش‌ها استاندارد سازی شده است (۲۲)، گرفته شد که این آزمون شامل ۱۰ مرحله سه دقیقه‌ای است. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر در ساعت و در مراحل بعدی ۰/۳ کیلومتر در ساعت به سرعت تردمیل افزوده می‌شد، در حالی که در تمام مراحل شیب صفر

بوده است. در هر مرحله از آزمایش، زمانی که موش‌ها دیگر قادر به ادامه کار نبودند، سرعت معادل سرعت حداکثر در نظر گرفته شد. سپس براساس پروتکل تمرین HIIT شامل سه مرحله: گرم کردن (۵ دقیقه)، تمرین اصلی، شامل تکرارهای فاصله زمانی ۲ دقیقه (۲×۲) (با ریکاوری فعال ۲ دقیقه بین هر بازه) و سرد کردن (۵ دقیقه) بود. موش‌ها ابتدا روی تردمیل با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد Vo_{2max} (maximum oxygen consumption) به مدت ۵ دقیقه گرم شدند. یک تکرار تمرینی به این گونه بود که یک تمرین ۲ دقیقه‌ای با شدت بالا انجام می‌شد، سپس ۲ دقیقه استراحت فعال با شدت ۵۰ درصد Vo_{2max} به دنبال داشت. در هفته اول دو تکرار ۲ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد Vo_{2max} ، در هفته دوم چهار تکرار با شدت ۹۰ درصد Vo_{2max} ، در هفته سوم شش تکرار با شدت ۱۰۰ درصد Vo_{2max} و از شروع هفته چهارم به بعد هشت تکرار با شدت ۱۱۰ درصد Vo_{2max} انجام شد (تکرار با شدت کم (فاصله بازیابی) شامل ۲ دقیقه با شدت ۵۰ درصد Vo_{2max} بود). پس از آخرین تکرار بازه با شدت بالا، موش‌ها سرد کردن را با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد Vo_{2max} به مدت ۵ دقیقه انجام می‌دادند (۲۳).

تشریح و نمونه‌برداری

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و مکمل‌دهی، در حالت ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌های آزمایشگاهی با استفاده از کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از بیهوشی کامل بافت هیپوکامپ مغز به دقت استخراج شد و بلافاصله پس از توزین و شست و شو به مدت ۱۰ دقیقه در تانک ازت غوطه ور شد و سپس به دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد (۲۴).

اندازه‌گیری کادمیوم درون بافت هیپوکامپ مغز

برای اندازه‌گیری کادمیوم درون بافت هیپوکامپ مغز محلول استاندارد تک عنصری کادمیوم (۱۰۰۰)

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از جمع‌آوری داده‌ها از آزمون‌های شاپیرو-ویلک و لیون به ترتیب برای بررسی نرمالیت و همگنی داده‌ها استفاده شد و جهت تحلیل داده‌ها از آزمون‌های تی مستقل و تحلیل واریانس دوره بهره‌برده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از توصیف داده در جدول شماره ۲ ارائه شده است که شامل میانگین و انحراف استاندارد می‌باشد.

جدول شماره ۲: میانگین مقدار BDNF بر واحد پیکوگرم در میلی‌لیتر در گروه‌های مورد مطالعه

انحراف معیار میانگین	گروه‌ها
۲۸۷/۲۷±۱۰۸/۹	گروهی که کادمیوم، تمرین و مکمل دریافت نمی‌کند (HC) (گروه کنترل سالم)
۱۵۶/۳۶±۳۴/۴۷	گروه مصرف کادمیوم (CD)
۱۸۱/۵۹±۲۵/۴۷	گروه مصرف کادمیوم + مکمل گرده گل (PO)
۱۸۵/۷۹±۲۲/۴۰	گروه تمرین + مصرف کادمیوم (HIIT)
۲۶۶/۰۹±۴۳/۹۹	گروه کادمیوم + تمرین + مکمل گرده گل (HIIT+PO)

همان‌گونه که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، گروه کنترل سالم بیش‌تر میزان BDNF را به خود اختصاص داده است و پس از این گروه، گروهی که کادمیوم، تمرین و مصرف مکمل گرده گل داشته‌اند قرار گرفته است و سپس به ترتیب گروه کادمیوم و تمرین، گروه کادمیوم و مصرف گرده گل و در نهایت گروه مصرف کادمیوم قرار گرفته است.

پیش‌فرض‌های نرمالیت با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لیون مورد بررسی قرار گرفت، که نتایج نشان‌دهنده رعایت پیش‌فرض‌ها بود ($P \geq 0/05$). مقایسه گروه کنترل با گروه مصرف کادمیوم با استفاده از آزمون تی مستقل نشان داد که مصرف کادمیوم سبب کاهش میانگین BDNF شده است که نتایج این مقایسه در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

میکروگرم در میلی‌لیتر) از Reagecon (شانون، ایرلند) خریداری شد. یک گرم بافت مغز با ۸ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ و ۲ میلی‌لیتر اسید پرکلریک مخلوط شد و در طول شب در هود بخار قرار گرفت. روز دوم، محلول روی حرارت گذاشته شد تا شفاف و بی‌رنگ شود، سپس آب مقطر به ۵ میلی‌لیتر از محلول اضافه و حل شد و در نهایت، غلظت Cd در نمونه توسط اسپکتروفتومتری جذب اتمی در طول موج پارامتر را روی ۲۲۸/۸ نانومتر (طیف‌سنج جذب اتمی AAS 3500 ACE™ Scientific Thermo Fisher، ایالات متحده آمریکا) تعیین شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: کادمیوم درون بافت مغز (واحد اندازه‌گیری میکروگرم بر کیلوگرم)

گروه	کادمیوم درون هیپوکامپ مغز پس از پروتکل تمرینی (انحراف معیار میانگین)
HC	۰/۱۶±۰/۰۶
CD	۳/۶۵±۰/۲۱
PO	۲/۳۹±۰/۱۷
HIIT	۱/۱۹۸±۰/۳۹
HIIT-PO	۱/۵۴±۰/۲۲

اندازه‌گیری سطح BDNF

مقادیر پروتئینی با استفاده از کیت الیزا BDNF (BG-E30666 Persongen) کشور آلمان کمپانی FN تهیه شده و بررسی شد. براساس دستورالعمل کیت هر دو هیپوکامپ از هر نیمکره در بافری حاوی ۱۳۷ میلی‌مول NaCl، ۲۰ میلی‌مول تریس هیدروکلرید (Tris-HCL) ۱ درصد و گلیسرول ۱۰ درصد، ۱ میلی‌مول (Phenyl PMSF methyl sulfonyl fluoride)، ۰/۵ میلی‌مول سدیم وانادات و ۱ درصد igepal کاملاً هموژن شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۲۰۰۰ rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از رقیق کردن سوپرناتانت با بافر نمونه چاهک‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه انکوباتور انکوبه شدند. جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد و منحنی استاندارد در دامنه‌ای بین ۵ تا ۱۰۰ نانوگرم به‌ازای هر لیتر برای BDNF رسم شد (۲۵).

نتایج جدول شماره ۴ نشان می‌دهد، اثر اصلی تمرینات HIIT بر گروه‌هایی که کادمیوم استفاده کرده‌اند بر میانگین BDNF به شکل معنی‌داری افزایشی بوده است، به عبارت دیگر انجام تمرینات HIIT سبب افزایش بیان BDNF شده است، اثر اصلی مصرف مکمل گرده گل نیز بر گروه‌هایی که کادمیوم استفاده کرده‌اند بر میانگین BDNF به شکل معنی‌داری افزایشی بوده است، به عبارت دیگر مصرف گرده گل سبب افزایش بیان BDNF شده است. اثر تعاملی تمرین و مکمل گرده گل معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد اثر سطوح مختلف تمرین (یعنی گروه‌های که تمرین داشته‌اند و گروه‌های که نداشته‌اند) بر سطوح مختلف مصرف گرده گل (یعنی گروه‌هایی که مصرف کرده داشته‌اند و گروه‌هایی که نداشته‌اند)، متفاوت نبوده است.

نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد گروه‌هایی که تمرین داشته‌اند نسبت به گروه‌هایی که تمرین نداشته‌اند میزان BDNF بیش‌تری داشته‌اند و هم‌چنین گروه‌هایی که مصرف مکمل داشته‌اند نسبت به گروه‌هایی که مصرف نداشته‌اند، میزان BDNF بیش‌تری داشته‌اند.

بحث

اخیراً با توجه به صنعتی شدن شهرها و اثرات نامطلوب کادمیوم (Cd) و فلزات سنگین بر سلامتی انسان‌ها که در فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی به وفور تولید می‌شوند، این موارد مورد توجه قرار گرفته‌اند. کادمیوم باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول می‌شود، به طوری که اثرات سمی آن می‌تواند باعث اکسیداسیون غشاهای اندامک‌ها یا فسفولیپیدها شود که متعاقباً منجر به اختلال در سیستم قلبی عروقی و متابولیسم بدن و پیشرفت بیماری‌های عصبی متعدد (مانند اختلال خواب، سکنه، بیماری آلزایمر) شود و اختلالاتی در الگوی سنتز BDNF به وجود می‌آورد که عمدتاً به‌عنوان تغییرات در غلظت سرمی BDNF شناسایی شده است (۲۶،۴).

جدول شماره ۳: نتایج آزمون تی مستقل برای مقایسه میانگین BDNF در گروه‌های کادمیوم و کنترل

مقدار تی	درجات آزادی	سطح معنی داری	تفاوت میانگین‌ها
۲/۵۶*	۸	۰/۳۴	۱۳۰

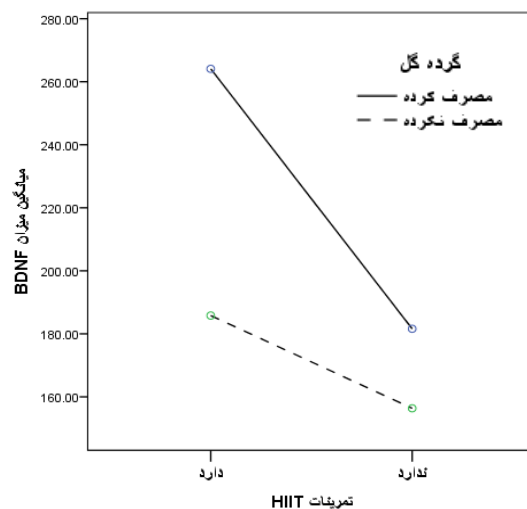
*: $P < 0.05$

براساس نتایج جدول شماره ۳، گروهی که تنها کادمیوم استفاده کرده نسبت به گروه کنترل به شکل معنی‌داری از میانگین BDNF کم‌تری برخوردار بوده است که نشان دهنده این است که کادمیوم سبب کاهش BDNF شده است. جهت بررسی اثر اصلی تمرین و اثر اصلی مکمل گرده گل و هم‌چنین اثر تعاملی تمرین و گرده گل بر میانگین گروه‌هایی که کادمیوم مصرف کرده بودند، از آزمون تحلیل واریانس دوره استفاده شده نتایج آن در جدول شماره ۴ و نمودار شماره ۱ ارائه شده است.

جدول شماره ۴: آزمون تحلیل واریانس دو راهه جهت بررسی اثرات اصلی و تعاملی تمرین و مکمل گرده گل

اثرات	درجات آزادی	مجموع مجذورات	مقدار اف	سطح معنی داری	ضریب اتا	توان
اثر اصلی تمرین	۱	۱۵۶۶/۰۹	۱۴۶/۰*	۰/۰۰۲	۰/۶۷۷	۰/۹۶۸
اثر اصلی مکمل گرده گل	۱	۱۳۳۹۶/۱۹	۱۲/۴۸*	۰/۰۰۳	۰/۴۳۸	۰/۹۱۲
اثر تعاملی تمرین و مکمل گرده گل	۱	۳۵۲/۲۹	۳/۲۸*	۰/۰۸۹	۰/۱۷۰	۰/۳۹۹
خطا	۱۶	۱۰۷۲/۶۹				
کل	۲۰					

*: $P < 0.05$



نمودار شماره ۱: اثر سطوح مختلف تمرین و مصرف مکمل گرده گل را نشان می‌دهد

Zhou و همکاران در مقاله‌ای با عنوان تاثیر قرارگیری هم‌زمان سرب، جیوه، آلومینیوم و منگنز بر غلظت BDNF خون کودکان پیش‌دبستانی در تایزو، چین به این نتیجه رسیدند که سطح سرب و کادمیوم و فلزات سنگین خون با غلظت BDNF سرم کودکان پیش‌دبستانی ارتباط منفی معنی‌داری دارد (۲۷) و هم‌چنین Pyatha و همکاران در مقاله‌ای با عنوان قرار گرفتن هم‌زمان موش‌ها در معرض سرب، جیوه و کادمیوم بیان کردند که به دلیل تداخل در انتقال عصبی دوپامینرژیک و سروتونرژیک در جسم مخطط، این امر باعث ایجاد اختلالات عصبی رفتاری می‌شوند و ثابت کردند که فلزات سنگین هموستاز BDNF جسم مخطط مغز را تغییر می‌دهند (۲۸).

در مقاله‌ای بیان شده است که رادیکال‌های آزاد از راه‌های پیچیده‌ای بر عملکرد نوروتروفین‌های مغز تاثیر منفی دارد و یکی از مکانیسم‌های مهم پشت سمیت فلزات سنگین تولید رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال (ROS) است که منجر به آسیب اندام‌ها می‌شود (۲۹). محصولات زنبور عسل منبع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که قادر به مقابله با عواقب استرس اکسیداتیو هستند. گرده گل یکی از غنی‌ترین و خالص‌ترین منابع آنتی‌اکسیدانی است که تاکنون کشف شده است. گرده گل حاوی آنتی‌اکسیدان‌هایی به شکل پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها است که از نورون‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند. بیان شده است که گرده گل از سمیت عصبی ناشی از فلزات سنگین جلوگیری می‌کند و آسیب اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین را بهبود می‌بخشد، مقالات زیادی ثابت کرده‌اند که گرده گل باعث افزایش BDNF می‌شود و اثر استرس اکسیداتیو آن را ثابت کرده‌اند (۳۰).

تأثیر ورزش بدنی بر فلزات سنگین اخیراً مورد بحث قرار گرفته است. در این رابطه در مطالعه‌ای بیان شده است که ورزشکاران غلظت پلاسمایی Cd و Pb کم‌تری نسبت به افراد با فعالیت بدنی کم‌تر دارند و هم‌چنین Maynar و همکاران در مطالعه‌ای با عنوان غلظت

سرم خونی گروهی از مردان کم‌تحرک در مقایسه با ورزشکاران سطح بالا در رشته‌های مختلف ورزشی گزارش کردند که آزمایشات، مقادیر بالاتری از Cd و Pb را در سرم خونی افراد کم‌تحرک در مقایسه با ورزشکاران نشان می‌دهند (۳۱) و هنگامی که گروهی از ورزشکاران سطح بالا در مقایسه با گروهی از افراد کم‌تحرک، تمرین تا رسیدن به خستگی را انجام دادند، میزان کادمیوم و سرب در خون کاهش یافت (۳۲). این مطالعات ما را به این فرضیه سوق می‌دهد که فعالیت بدنی منظم می‌تواند تغییرات سازگار را برای جلوگیری از سمیت ناشی از قرار گرفتن در معرض این فلزات ایجاد کند. با توجه به توضیحات فوق و اقدامات صورت گرفته در مقالات با پژوهش حاضر همسو می‌باشند و با توجه به کم بودن تعداد پژوهش‌های بین‌المللی لازم است که پژوهش‌های بیش‌تری در این زمینه صورت گیرد.

پژوهش حاضر نشان داد که کادمیوم باعث کاهش معنی‌داری در BDNF در هیپوکامپ موش‌ها می‌شود و گروه‌های کادمیوم + گرده گل و کادمیوم + تمرین تناوبی شدید تاثیر معنی‌داری بر سطح BDNF دارند، اما گروه کادمیوم + گرده گل + تمرین تناوبی شدید تاثیر معنی‌داری بر سطح BDNF هیپوکامپ موش‌ها ندارد که این مساله در وهله اول می‌تواند به دلیل افزایش BDNF به میزان زیاد در دو گروه دیگر باشد و ممکن است به دلیل مسمومیت کم توسط کادمیوم یا حتی تاثیر مکمل گرده گل توسط ورزش خنثی شده باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل گرده گل و تمرین HIIT هر کدام به تنهایی تاثیر معنی‌دار افزایش‌دهنده‌ای بر سطح BDNF هیپوکامپ موش‌ها دارند. اما تعامل این دو با هم تاثیر معنی‌داری بر سطح BDNF هیپوکامپ موش‌ها ندارد.

محدودیت‌های مطالعه

پژوهشگر نتوانست میزان مصرف آب توسط موش‌ها را کنترل کند که می‌تواند به علت تفاوت‌های فردی

سیاسگزاری

این مقاله از پایان نامه دوره دکتری تخصصی سام رحمانی چگنی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد استخراج شده است که دارای کد اخلاق از دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد واحد بروجرد به شماره IR.IAU.B.REC.1402.116 است که در تاریخ ۱۴۰۲/۱۲/۲۳ اخذ شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد و مسئولان پژوهشی آزمایشگاه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و هیئت داوران که ما را در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام نمایند.

باشد و با توجه به هزینه مالی زیاد، پژوهشگر نتوانست تمامی گروه‌های سالم و مسموم با کادمیوم را بررسی کند، اما بهتر می‌بود که گروه‌های سالم که کادمیوم مصرف نکرده‌اند را اضافه کرد و هم‌چنین دوره تمرینی و میزان و زمان مکمل دهی را افزایش داد.

پیشنهاد می‌شود همکاران در مقالات آتی تعداد موش‌های بیش‌تر و تعداد گروه‌های بیش‌تری مدنظر قرار بدهند و هم‌زمان تاثیر سایر فلزات سنگین سنجدیده شود، تاثیر کادمیوم بر بخش‌های دیگر بدن موش‌ها مدنظر قرار گیرد و موش‌ها مدت زمان بیش‌تری در معرض کادمیوم قرار بگیرند.

References

1. Lu B, Nagappan G, Guan X, Nathan PJ, Wren P. BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2013; 14(6): 401-416. PMID: 23674053.
2. Yu T, Chang Y, Gao XL, Li H, Zhao P. Dynamic expression and the role of BDNF in exercise-induced skeletal muscle regeneration. *Int J Sports Med* 2017; 38(13): 959-966. PMID: 28965341.
3. Weinstein G, Beiser AS, Choi SH, Preis SR, Chen TC, Vorgas D, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor and the risk for dementia: the Framingham Heart Study. *JAMA Neurol* 2014; 71(1): 55-61. PMID: 24276217.
4. Bloom AJ. Metal regulation of metabolism. *Curr Opin Chem Biol* 2019; 49: 33-38. PMID: 30296690.
5. Rai NK, Ashok A, Rai A, Tripathi S, Nagar GK, Mitra K, et al. Exposure to As, Cd and Pb-mixture impairs myelin and axon development in rat brain, optic nerve and retina. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013; 273(2): 242-258. PMID: 23680456.
6. Wang T, Zhu Q, Cao B, Cai Y, Wen S, Bian J, et al. Ca²⁺ transfer via the ER-mitochondria tethering complex in neuronal cells contribute to cadmium-induced autophagy. *Cell Biol Toxicol* 2022; 38(3): 469-485. PMID: 34308505.
7. Treviño S, Pulido G, Fuentes E, Handal-Silva A, Moreno-Rodríguez A, Venegas B, et al. Effect of cadmium administration on the antioxidant system and neuronal death in the hippocampus of rats. *Synapse* 2022; 76(9-10): 1-16. PMID: 35709361.
8. El Shater A-ERA, Ali RA, R AF. Effect of Selenium and Bee Pollen Against Immunotoxicity and Hepatotoxicity Induced by Cadmium in Male Albino Rats. *Egypt Acad J Biolog Sci* 2019; 11(2): 1-19.
9. Shen J, Griffiths PT, Campbell SJ, Uttinger B, Kalberer M, Paulson SE. Ascorbate oxidation by iron, copper and reactive oxygen species:

- review, model development, and derivation of key rate constants. *Sci Rep* 2021; 11(1): 7417. PMID: 33795736.
10. HEGAZI AG. Medical importance of bee products. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2012; 12(4): 136-146.
 11. Eraslan G, Kanbur M, Silici S, Karabacak M. Beneficial effect of pine honey on trichlorfon induced some biochemical alterations in mice. *Ecotoxicol Environ Saf* 2010; 73(5): 1084-1091. PMID: 20303175.
 12. Thakur M, Nanda V. Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends Food Sci Technol* 2020; 98: 82-106.
 13. Hou Y, Yin Y, Wu G. Dietary essentiality of “nutritionally non-essential amino acids” for animals and humans. *Exp Biol Med* 2015; 240(8): 997-1007.
 14. Komosinska-Vassev K, Olczyk P, Kaźmierczak J, Mencner L, Olczyk K. Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evid Based Complement Alternat Med* 2015; 2015: 297425. PMID: 25861358.
 15. Forlenza OV, Miranda AS, Guimar I, Talib LL, Diniz BS, Gattaz WF, et al. Decreased neurotrophic support is associated with cognitive decline in non-demented subjects. *J Alzheimers Dis* 2015; 46(2): 423-429. PMID: 25737042.
 16. Álvarez A, Aleixandre M, Linares C, Masliah E, Moessler H. Apathy and APOE4 are associated with reduced BDNF levels in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2014; 42(4): 1347-1355. PMID: 25024337.
 17. Abdelaziz I, Elhabiby MI, Ashour AA. Toxicity of cadmium and protective effect of bee honey, vitamins C and B complex. *Hum Exp Toxicol* 2012; 32(4): 362-370. PMID: 23111883.
 18. Ojo OA, Rotimi DE, Ojo AB, Ogunlakin AD, Ajiboye BO. Gallic acid abates cadmium chloride toxicity via alteration of neurotransmitters and modulation of inflammatory markers in Wistar rats. *Sci Rep* 2023; 13(1): 1577. PMID: 36709339.
 19. Huang A, Jen C, Chen H, Yu L, Kuo Y, Chen H-I. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural Transm (Vienna)* 2006; 113(7): 803-811. PMID: 16252072.
 20. Freitas DA, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, Mendonça VA, et al. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiol Behav* 2018; 184: 6-11.
 21. Naseri L, Khazaei MR, Khazaei M. Synergic effect of bee pollen and metformin on proliferation and apoptosis of granulosa cells: Rat model of polycystic ovary syndrome. *J Food Biochem* 2022; 46(3): e13635 (Persian).
 22. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhas-De-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res* 2007; 21(3): 751-756. PMID: 17685693.
 23. Momeni L, Moghadam HF, Hosseini SA, Nikbakht M. Interactive Effects of Endurance Training and Selenium Consumption on the Intrinsic Apoptosis Pathway in the Liver Tissue of Cadmium-Exposed Rats. *J Nutr Sci Diet* 2019; 5(3/4): (Persian).
 24. Wilbur S, Wohlers D, Paikoff S, Keith L, Faroon O. ATSDR evaluation of health effects of benzene and relevance to public health. *Toxicol Ind Health* 2008; 24(5-6): 263-398. PMID: 19022880.
 25. Shafia S, Vafaei AA, RashidRy-Pour A. Effects of Moderate Treadmill Exercise and

- Fluoxetine on Spatial Memory and Serum BDNF Levels in an Animal Model of Post-traumatic Stress Disorder. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 29(179): 1-17 (Persian).
26. Karim Y, Siddique AE, Hossen F, Rahman M, Mondal V, Banna HU, et al. Dose-dependent relationships between chronic arsenic exposure and cognitive impairment and serum brain-derived neurotrophic factor. *Environ Int* 2019; 131: 105029. PMID: 31352261.
27. Zhou C-C, Gao Z-Y, He Y-Q, Wu M-Q, Chen F, Wang J, et al. Effects of lead, mercury, aluminium and manganese co-exposure on the serum BDNF concentration of pre-school children in Taizhou, China. *Chemosphere* 2019; 217: 158-165. PMID: 30415114.
28. Pyatha S, Kim H, Lee D, Kim K. Co-exposure to lead, mercury, and cadmium induces neurobehavioral impairments in mice by interfering with dopaminergic and serotonergic neurotransmission in the striatum. *Front Public Health* 2023; 11: PMID: 38026429.
29. Zakaria FH, Samhani I, Mustafa MZ, Shafin N. Pathophysiology of depression: stingless bee honey promising as an antidepressant. *Molecules* 2022; 27(16): 5091. PMID: 36014336.
30. Rodríguez-Pólit C, Gonzalez-Pastor R, Heredia-Moya J, Carrera-Pacheco SE, Castillo-Solis F, Vallejo-Imbaquingo R, et al. Chemical properties and biological activity of bee pollen. *Molecules* 2023; 28(23):7768. PMID: 38067498.
31. Maynar-Mariño M, Llerena F, Bartolomé I, Crespo C, Muñoz D, Robles M-C, et al. Effect of long-term aerobic, anaerobic and aerobic-anaerobic physical training in seric toxic minerals concentrations. *J Trace Elem Med Biol* 2018; 45: 136-141. PMID: 29173470.
32. Maynar M, Llerena F, Bartolomé I, Alves J, Grijota F, Robles M, et al. Influence of an exercise until exhaustion in serum and urinary concentrations of toxic minerals among professional athletes, a preliminary approach. *J Trace Elem Med Biol* 2018; 50: 312-319. PMID: 30262297.