

## The Effect of Ginkgo Biloba Supplementation and Intermittent Endurance Training on Serum TNF- $\alpha$ and BDNF Activity in Male Rats' Model of Alzheimer's Disease

Fatemeh Parsifarf<sup>1</sup>, Majid Vahidian-Rezazadeh<sup>2</sup>, Zahra Jahantigh<sup>3</sup>, Amirhossein Rakhshani<sup>4</sup>

1. Department of Physical Education, Faculty of Educational Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.  
E-mail: [fatemeparsifarf6769@gmail.com](mailto:fatemeparsifarf6769@gmail.com)
2. Corresponding Author, Department of Physical Education, National University of Skills (NUS), Tehran, Iran.  
E-mail: [m-vahidian@tvu.ac.ir](mailto:m-vahidian@tvu.ac.ir)
3. Department of Physical Education, Faculty of Educational Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.  
E-mail: [jahantigh1376@gmail.com](mailto:jahantigh1376@gmail.com)
4. Department of Physical Education, Faculty of Educational Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.  
E-mail: [amirhosseinrakhshani91@gmail.com](mailto:amirhosseinrakhshani91@gmail.com)

### Article Info

**Article type:** Research

**Article history:**

Received:

19 April 2024

Received in revised form:

1 July 2024

Accepted:

14 August 2024

Published online:

22 August 2024

**Keywords:**

*Alzheimer's Disease,  
Interval Endurance Training,  
Ginkgo Biloba  
Supplementation,  
Neuroprotection.*

### ABSTRACT

**Introduction:** Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease with reduced cognitive function and inflammation. As an antioxidant-rich herbal supplement, Ginkgo Biloba may help improve memory, attention, and mental clarity. This study aimed to investigate the effect of Ginkgo Biloba supplement and intermittent endurance training on serum TNF- $\alpha$  and BDNF activity in male rats' model of AD.

**Methods:** 50 male Wistar rats were divided into seven Control (n=8), Alzheimer's control (n=8), Placebo (n=5), Sham (n=8), Alzheimer + Exercise (n=8), Alzheimer's + Supplement (n=8), and Alzheimer's + Supplement + Exercise (n=8) groups. Intermittent endurance training was performed for eight weeks and five days a week for 15 minutes at a speed of five m/min up to 16 m/min at the end of the training period. Supplement group rats received 100 mg/kg Ginkgo Biloba five days a week by gavage. The Alzheimer's model was induced by beta-amyloid injection into both sides of rats' brain ventricles. Levene's test was used to check the homogeneity of the data, one-way ANOVA test was performed to check the difference between groups at a significance level of  $P < 0.05$  using SPSS22 software.

**Results:** The results showed no significant difference between serum BDNF and TNF- $\alpha$  levels in male rats model of AD ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Considering the presence of serum BDNF and TNF- $\alpha$  levels in the brain and peripheral nerves and the important role that they play in neuronal protection and neurogenesis, the implementation of intermittent endurance training did not affect serum BDNF and TNF- $\alpha$  levels in male rats' model of AD.

**Cite this article:** Parsifarf F., Vahidian-Rezazadeh M., Jahantigh Z., & Rakhshani A.H. The Effect of Ginkgo Biloba Supplementation and Intermittent Endurance Training on Serum TNF- $\alpha$  and BDNF Activity in Male Rats' Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Sport Biosciences*. 2023; 16 (2): 31-42.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jsb.2024.375361.1631>.



Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).  
| Web site: <https://jsb.ut.ac.ir/> | Email: [jsb@ut.ac.ir](mailto:jsb@ut.ac.ir).

## Extended Abstract

### Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a chronic neurological disorder in the elderly and the most common cause of dementia with progressive memory loss and severe cognitive decline. Several drug treatments have been proposed to prevent or slow down the progression of AD to increase the body's ability to protect itself against the destruction of the nervous system. Among these chemical and herbal medicines, there is an herbal medicine called Ginkgo biloba (EGb761) which has fewer side effects than chemical types. Also, EGb761 is rich in antioxidants and can help prevent and slow AD progress. Research in the scientific literature shows that the effects of EGb761 along with sports training have received less attention. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of Ginkgo biloba supplementation and intermittent endurance training on serum TNF- $\alpha$  and BDNF activity in male rats' model of AD.

### Methods

To conduct this experimental study, ethical approval was obtained and implemented with the ethical code SSRI.REC-2208-1810 from ethics in research committee of Sport Sciences and Research Institute. 50 male Wistar rats were divided into seven Control (n=8), Alzheimer's control (n=8), Placebo (n=5), Sham (n=8), Alzheimer + Exercise (n=8), Alzheimer's + Supplement (n=8) and Alzheimer's + Supplement + Exercise (n=8) groups. For induction of the AD model, amyloid-beta (A $\beta$ 1-42) peptide (made in GenScript company, USA and provided by Banian Safine Danesh company, Tehran, Iran.) was injected into the rats' brain ventricles through stereotaxic surgery. Then, four weeks after the surgery, the shuttle box test was taken to ensure the effect of A $\beta$ 1-42, and the recorded results showed the effect of A $\beta$ 1-42 and signs of amnesia in the rats. Rats in supplement groups received 100 mg/kg of Ginkgo Biloba solution by gavage five days a week. Serum BDNF and TNF- $\alpha$  levels were measured using an ELISA kit from ZellBio GmbH (Germany). Levene's test was used to check the homogeneity of the data, one-way ANOVA test was performed to check the difference between groups at a significance level of  $P < 0.05$  using SPSS22 software.

### Results

The one-way ANOVA test results showed no significant difference between serum BDNF and TNF- $\alpha$  levels in the male rats model of AD ( $P < 0.05$ ).

### Conclusion

Exercise inhibits the neuroinflammatory response, delays AD, and reduces AD's symptoms. It has been stated that the presence of serum BDNF in the brain and peripheral nerves plays an important role in neuronal protection and neurogenesis, therefore, intermittent endurance training could not affect the serum TNF- $\alpha$  and BDNF levels in rats' model of AD. Our results suggest that serum BDNF may be used as a biomarker for the early diagnosis of AD in clinical practice, as it may reflect A $\beta$  accumulation in the brain, however, no consensus has yet been reached.

### Ethical Considerations

**Compliance with ethical guidelines:** This study followed the ethical standards and was approved by the Ethics Committee of the Sport Sciences and Research Institute with the ethics code: SSRI.REC-2208-1810

**Funding:** No funding was received for this study.

**Authors' contribution:** all authors contributed equally to the study design.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments:** The authors thank all colleagues who supported us in this research.

## تأثیر مصرف مکمل جینکوبیلوبا و تمرینات استقامتی تناوبی بر فعالیت TNF- $\alpha$ و BDNF سرمی موش‌های نر مدل آلزایمری

فاطمه پارسی فر<sup>۱</sup>، مجید وحیدیان رضازاده<sup>۲</sup>، زهرا جهانتیغ<sup>۳</sup>، امیرحسین رخشانی<sup>۴</sup>

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران. رایانامه: [fatemeparsifar6769@gmail.com](mailto:fatemeparsifar6769@gmail.com)
۲. نویسنده مسئول، دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشگاه ملی مهارت، تهران، ایران. رایانامه: [m-vahidian@tvu.ac.ir](mailto:m-vahidian@tvu.ac.ir)
۳. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران. رایانامه: [jahantigh1376@gmail.com](mailto:jahantigh1376@gmail.com)
۴. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران. رایانامه: [amirhosseinrahshani91@gmail.com](mailto:amirhosseinrahshani91@gmail.com)

اطلاعات مقاله	چکیده
<b>نوع مقاله:</b> پژوهشی	<b>مقدمه:</b> بیماری آلزایمر (AD) یکی از بیماری‌های تخریب عصبی با کاهش عملکرد شناختی و التهابی است. جینکوبیلوبا به‌عنوان یک مکمل گیاهی سرشار از آنتی‌اکسیدان، ممکن است به بهبود حافظه، توجه و شفافیت ذهنی کمک کند. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر مصرف مکمل جینکوبیلوبا و تمرینات استقامتی تناوبی بر فعالیت TNF- $\alpha$ و BDNF سرمی موش‌های نر مدل آلزایمری بود.
<b>تاریخ دریافت:</b> ۱۴۰۳/۰۱/۳۱	<b>روش پژوهش:</b> ۵۰ سر رت نر نژاد ویستار به هفت گروه کنترل (هشت سر)، گروه کنترل آلزایمر (هشت سر)، گروه دارونما (پنج سر)، گروه شیم (پنج سر)، گروه آلزایمر+تمرین (هشت سر)، گروه آلزایمر+مکمل (هشت سر) و گروه آلزایمر+مکمل و تمرین (هشت سر) تقسیم شدند. تمرینات استقامتی تناوبی به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته، ۱۵ دقیقه و با سرعت پنج متر در دقیقه تا ۱۶ متر در دقیقه در انتهای دوره تمرین اجرا شد. حیوانات دریافت‌کننده مکمل، ۱۰۰ mg/kg به مدت پنج روز در هفته مکمل جینکوبیلوبا را به‌صورت گاواژ دریافت کردند. مدل آلزایمری از طریق تزریق آمیلوئید بتا در دو طرف بطن مغز حیوانات القا شد. آزمون لون به‌منظور بررسی همگنی داده‌ها، آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها در سطح معناداری $P < 0.05$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 انجام گرفت.
<b>تاریخ بازنگری:</b> ۱۴۰۳/۰۴/۱۱	<b>یافته‌ها:</b> نتایج نشان داد بین سطوح BDNF و TNF- $\alpha$ سرم رت‌های نر مدل آلزایمری تفاوت معناداری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ).
<b>تاریخ پذیرش:</b> ۱۴۰۳/۰۵/۲۴	<b>نتیجه‌گیری:</b> باتوجه‌به اینکه سطوح BDNF و TNF- $\alpha$ در مغز و اعصاب محیطی یافت می‌شود و نقش مهمی در حفاظت نورونی و نورون‌زایی دارند، اما اجرای تمرینات استقامتی تناوبی بر سطوح آنها در سرم موش‌های نر مدل آلزایمری تأثیرگذار نبود.
<b>تاریخ انتشار:</b> ۱۴۰۳/۰۶/۰۱	

### کلیدواژه‌ها:

بیماری آلزایمر،  
تمرینات استقامتی تناوبی،  
حفاظت نورونی،  
مکمل جینکوبیلوبا.

**استناد:** پارسی فر، فاطمه؛ وحیدیان رضازاده، مجید؛ جهانتیغ، زهرا؛ رخشانی، امیرحسین. تأثیر مصرف مکمل جینکوبیلوبا و تمرینات استقامتی تناوبی بر فعالیت TNF- $\alpha$  و BDNF سرمی موش‌های نر مدل آلزایمری. نشریه علوم زیستی ورزشی، (۲) ۱۶، ۳۱-۴۲.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jsb.2024.375361.1631>

دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کپی‌رایت کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است. آدرس نشریه: <https://jsb.ut.ac.ir/> | ایمیل: [jsb@ut.ac.ir](mailto:jsb@ut.ac.ir)



© نویسندگان.

ناشر: انشارات دانشگاه تهران.

## مقدمه

بیماری آلزایمر<sup>۱</sup> یک اختلال عصبی مزمن در افراد مسن و شایع‌ترین علت زوال عقل با از دست دادن پیش‌رونده حافظه و زوال شدید شناختی است [۱]. AD تقریباً ۶۰ تا ۸۰ درصد موارد زوال عقل را تشکیل می‌دهد. این بیماری عامل اصلی زوال عقل در دوران پیری است و با افزایش پیامدهای نامطلوب و مرگ‌ومیر در سالمندان همراه است. انجمن AD بیان می‌کند که تقریباً ۳۳ درصد از بزرگسالان بالای ۶۵ سال بر اثر بیماری AD یا زوال عقل می‌میرند؛ بنابراین AD چالش بزرگ سلامتی در پیری است و ۸۱ درصد افراد مبتلا به AD، ۷۵ سال یا بالاترند. تا سال ۲۰۵۰، تخمین زده می‌شود که هر ۳۳ ثانیه یک فرد جدید مبتلا به بیماری AD تشخیص داده می‌شود که به میزان نزدیک به یک میلیون مورد جدید در سال است [۲].

فعالیت بدنی مؤثرترین اقدام برای مبارزه با این بیماری است، زیرا به‌نظر می‌رسد فعالیت بدنی می‌تواند به‌طور غیرمستقیم سایر عوامل بیماری را تغییر دهد [۳]. یک پژوهش فراتحلیلی نشان داد که ورزش خطر ابتلا به زوال عقل و AD را به ترتیب ۲۸ و ۴۵ درصد کاهش می‌دهد و سطوح بالاتر ورزش روزانه با خطر کمتر AD همراه است [۴]. علاوه بر این، بر اساس نتایج پژوهش‌های جدید بی‌تحریکی از شایع‌ترین عوامل خطر برای افراد مبتلا به AD است [۵، ۶]. به‌نظر می‌رسد ورزش سبب افزایش جریان خون مغزی، افزایش حجم میتوکندری در مغز، افزایش حجم هیپوکامپ و بهبود نوروترنژن می‌شود [۷]. تخریب عصبی، کاهش عملکرد یادگیری، کاهش پیچیدگی درخت دندریتیک و اختلال در سیگنال‌دهی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز<sup>۲</sup> مشهود است [۸]. BDNF دارای خواص محافظت‌کننده عصبی و فعال‌کننده عصبی روی نورون‌های تحریک‌کننده و مهارکننده است و منحصراً در نورون‌های تحریک‌کننده تولید می‌شود [۹، ۱۰]. بیان ژن BDNF توسط محرک‌های درون‌زا و برون‌زا، برای مثال، استرس، آسیب مغزی، فعالیت بدنی، رژیم غذایی و داروها، تنظیم می‌شود [۱۱، ۱۲].

آسیب مغزی موجب تشدید محیط پیش‌تهابی و وضعیت التهابی پایدار می‌شود که با تغییر سایتوکاین‌های مرتبط با آن، از جمله افزایش سطوح فاکتور نکروز توموری آلفا همراه است [۱۳، ۱۴]. به‌طور کلی، این عناصر پیش‌تهابی به‌عنوان تشدیدکننده روند دژنراسیون در نظر گرفته می‌شوند. در بین این بخش‌های پیش‌تهابی، فاکتور نکروز تومور آلفا<sup>۳</sup> به‌طور متناوب رفتار می‌کند و اکنون به‌طور گسترده به‌عنوان یک تیغه دولبه شناخته می‌شود که دارای خواص محافظت‌کننده عصبی و نورودژنراتیو است [۱۵، ۱۶]. با وجود دوگانگی آن، به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان عامل مهم پیش‌شرطی عصبی شناخته می‌شود، جایی که چندین عامل مرتبط با بقا را در آنها تنظیم می‌کند و در نتیجه بقای عصبی را ارتقا می‌دهد [۱۷]. اخیراً پاسخ التهابی تمرینات شدید و مداوم با شدت متوسط نشان داده است هر دو پروتکل ورزشی با افزایش IL-10 و نسبت IL-10/TNF- $\alpha$ ، یک پاسخ ضدالتهابی را توسعه می‌دهد [۱۴]. در این زمینه، ممکن است اشاره شود که در طول بیماری‌های نورودژنراتیو، حضور کمی BDNF و سایر نوروتروفین‌ها با افزایش موازی در محصولات پیش‌تهابی کاهش [۱۸] و برخی دیگر نشان دادند افزایش می‌یابد [۱۶].

چندین درمان دارویی برای پیشگیری یا کاهش سرعت پیشرفت بیماری آلزایمر پیشنهاد شده است تا میزان توان بدن در محافظت از خود در برابر تخریب‌های سیستم عصبی را بالا ببرد. در بین انواع داروهای شیمیایی و گیاهی، داروی گیاهی جینکوبیلوبا (EGb761) وجود دارد که از طرفی با توجه به گیاهی بودن عوارض کمتری نسبت به انواع شیمیایی دارد و از طرف دیگر با توجه به اینکه سرشار از آنتی‌اکسیدان است، تصور می‌شود می‌تواند به پیشگیری و کاهش سرعت پیشرفت این بیماری کمک کند [۱۹]. برگ‌های درخت جینکو سابقه طولانی در استفاده برای اهداف دارویی دارند. عصاره برگ‌های EGb761 به صورت استاندارد شده است و حاوی ۲۴ درصد گلیکوزیدهای فلاونوئیدی<sup>۵</sup> و ترنوئیدها به‌عنوان ترکیبات فعال EGb761 پیشنهاد شده است. تاکنون پژوهش‌های پیش‌بالینی متعددی در

1. Alzheimer's disease (AD)

2. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

3. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )

4. Neuronal Preconditioning

5. Flavonoid Glycosides

زمینه ارزیابی تأثیر EGb761 انجام گرفته است و تأثیرات محافظت‌کننده عصبی این گیاه را نشان می‌دهد [۲۰-۲۲]؛ اما بررسی متون علمی نشان می‌دهد تأثیرات EGb761 به‌همراه تمرینات ورزشی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از این‌رو در تحقیق حاضر تأثیر مصرف مکمل جینکوبیلوبا و تمرینات استقامتی تناوبی بر فعالیت  $TNF-\alpha$  و  $BDNF$  سرمی موش‌های نر مدل آلزایمری بررسی شده است.

## روش‌شناسی پژوهش

مجوز انجام این تحقیق تجربی با کد اخلاق SSRI.REC-2208-1810 از پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تهران اخذ شد. در این پژوهش ۵۰ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین وزنی  $20 \pm 250$  گرم از دانشگاه علوم پزشکی زاهدان تهیه و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی زاهدان منتقل شد. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه، دو هفته برای سازگاری با محیط جدید در نظر گرفته شد. حیوانات در قفسه‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. طی دوره پژوهش، حیوانات به غذای ویژه حیوانات (پلت) ساخت شرکت بهپرور و آب دسترسی آزاد داشتند. پس از دو هفته آشنایی حیوانات با محیط، جراحی‌ها آغاز شد. رت‌ها به هفت گروه کنترل (هشت سر، عدم فعالیت ورزشی و سالم)، گروه کنترل آلزایمر (هشت سر، عدم فعالیت ورزشی و دریافت‌کننده مدل بیماری آلزایمر)، گروه دارونما (پنج سر، دریافت دارونما به‌صورت گاواژ)، گروه شم (پنج سر، تحت شرایط القای مدل بیماری بدون ابتلا به آلزایمر)، گروه آلزایمر + تمرین (هشت سر، دریافت‌کننده مدل بیماری آلزایمر و اجرای تمرینات استقامتی)، گروه آلزایمر + مکمل (هشت سر، دریافت‌کننده مدل بیماری آلزایمر و دریافت‌کننده مکمل) و گروه آلزایمر + مکمل و تمرین (هشت سر، دریافت‌کننده مدل بیماری آلزایمر، دریافت‌کننده مکمل و اجرای تمرینات استقامتی) تقسیم شدند. برای القای مدل AD، کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، حیوان به‌صورت داخل صفاقی بی‌هوش و سر حیوان در دستگاه استروتاکس بسته می‌شد. مختصات بطن‌های جانبی از خط برگما دو میلی‌متر به سمت پایین و بعد یک‌ونیم میلی‌متر سمت راست و یک‌ونیم میلی‌متر سمت چپ علامت‌گذاری شد. سپس با مته دو سوراخ در موقعیت‌های مربوط به جمجمه موش ایجاد شده و پپتید- $A\beta 1$  (تهیه‌شده از شرکت genscript ساخت آمریکا توسط شرکت بانیان سفینه دانش، تهران-ایران) در هر سوراخ با استفاده از میکرو سرنگ همپلتون در بطن‌های جانبی تزریق شد. سپس چهار هفته پس از جراحی تست شاتل باکس از حیوانات به‌دلیل اطمینان از تأثیر آمیلوئید بتا گرفته شد که نتایج مثبت‌شده نشان از تأثیر آمیلوئید بتا و ایجاد فراموشی در حیوانات می‌داد.

مکمل جینکوبیلوبا از شرکت داروسازی دینه (تهران-ایران) تهیه شد. در ابتدای هر هفته دو گرم پودر گیاه جینکوبیلوبا با پنج میلی‌لیتر الکل ۹۹ درصد و ۶/۱ میلی‌لیتر سوربیتول مخلوط شد و پس از آن با آب مقطر رقیق شد. حیوانات گروه دریافت‌کننده مکمل به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از محلول را به مدت پنج روز در هفته به‌صورت گاواژ دریافت کردند، همچنین گروه دارونما آب مقطر به‌تنهایی دریافت می‌کردند.

حیوانات گروه تمرین، هشت هفته به مدت پنج روز در هفته تمرینات استقامتی تناوبی روی تردمیل با شیب صفر درجه را اجرا کردند. در هفته اول، تمرین با دو جلسه پانزده‌دقیقه‌ای با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز شد و در هفته پایانی (هفته هشتم) به چهار جلسه پانزده‌دقیقه‌ای و سرعت ۱۶ متر بر دقیقه رسید (جدول ۱). شایان ذکر است در تمام مراحل تمرین، حیوانات پنج دقیقه گرم کردن و پنج دقیقه استراحت‌های فعال بین جلسات پانزده‌دقیقه‌ای تمرین و همچنین پنج دقیقه مرحله سرد کردن با سرعت پنج متر بر دقیقه داشتند. تمامی تمرینات و گاواژ به مدت پنج روز در هفته و هشت هفته متوالی انجام گرفت.

## تست اجتنابی غیرفعال (جعبه شاتل)

دستگاه شاتل باکس دارای دو محفظه روشن و محفظه تاریک است که به‌وسیله در گیوتینی خودکار به هم وصل است. شوک الکتریکی از طریق میله‌های استیل کف دستگاه به‌وسیله دستگاه استیمولاتور هدایت می‌شود. تمامی آزمایش‌ها در محدوده زمانی ۹ صبح تا ۱۲ و محیط

بدون صدا و رفت‌وآمد انجام گرفت. هشت هفته پس از القای بیماری تست شاتل باکس به‌منظور بررسی عملکرد حافظه انجام گرفت. در روزهای اول و دوم آزمون هریک از موش‌های صحرایی برای عادت کردن به مدت پنج دقیقه در درون دستگاه قرار داده شدند. روز سوم برای اکتساب یادگیری در نظر گرفته شد، به‌طوری‌که هریک از موش‌ها در محفظه روشن دستگاه پشت در قرار داده شدند و پس از باز شدن در به حیوان فرصت داده شد تا وارد محفظه تاریک شود و در به‌طور خودکار بسته و شوک الکتریکی با شدت یک میلی‌آمپر و به مدت سه ثانیه به کف محفظه تاریک اعمال شد. در این مرحله تأخیر اولیه (Initial Latency=IL) در جهت ورود موش‌های صحرایی به محفظه تاریک در نظر گرفته شد و نمونه‌هایی که تأخیر اولیه بالای ۶۰ ثانیه داشتند، از تست بیرون گذاشته شدند. کارآزمایی عادت (یادگیری) پس از ۳۰ دقیقه دوباره تکرار شد. تأخیر ورود به محفظه تاریک (تأخیر گام‌به‌گام، STLA) زمانی ثبت شد که حیوان هر چهار پنجه را در محفظه تاریک قرار داد. آزمون یادداری ۲۴ ساعت پس از مرحله یادگیری انجام گرفت. موش‌ها در محفظه روشن قرار گرفتند و پنج ثانیه بعد در گیوتین بلند شد [۲۳]. تأخیر در آزمون حفظ (STLr) و تا ۳۰۰ ثانیه ثبت شد [۲۴].

رت‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین به‌وسیله کتامین 100mg/kg و زایلازین 8mg/kg به خواب عمیق رفتند و کاملاً بی‌هوش شدند. نمونه خونی اخذشده از سیاهرگ تحتانی به‌دست آمد. بلافاصله پس از آن با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سرم جداشده به میکروتیوب‌های کوچک‌تر منتقل و شماره‌گذاری شد. اندازه‌گیری مقادیر فاکتور BDNF و TNF- $\alpha$  سرمی به‌وسیله کیت الیزا مربوط به شرکت ZellBio GmbH (Germany) انجام گرفت.

جدول ۱. زمان‌بندی پروتکل‌های تمرینی

زمان‌بندی (پنج روز در هفته)	دو هفته قبل	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
مدت تمرینات	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۵ دقیقه
تعداد جلسات در هرروز	یک جلسه آشنایی	دو جلسه	دو جلسه	سه جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه	چهار جلسه
سرعت تمرینات	۵ تا ۸ متر در دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۱۲ متر بر دقیقه	۱۴ متر بر دقیقه	۱۴ متر بر دقیقه	۱۶ متر بر دقیقه

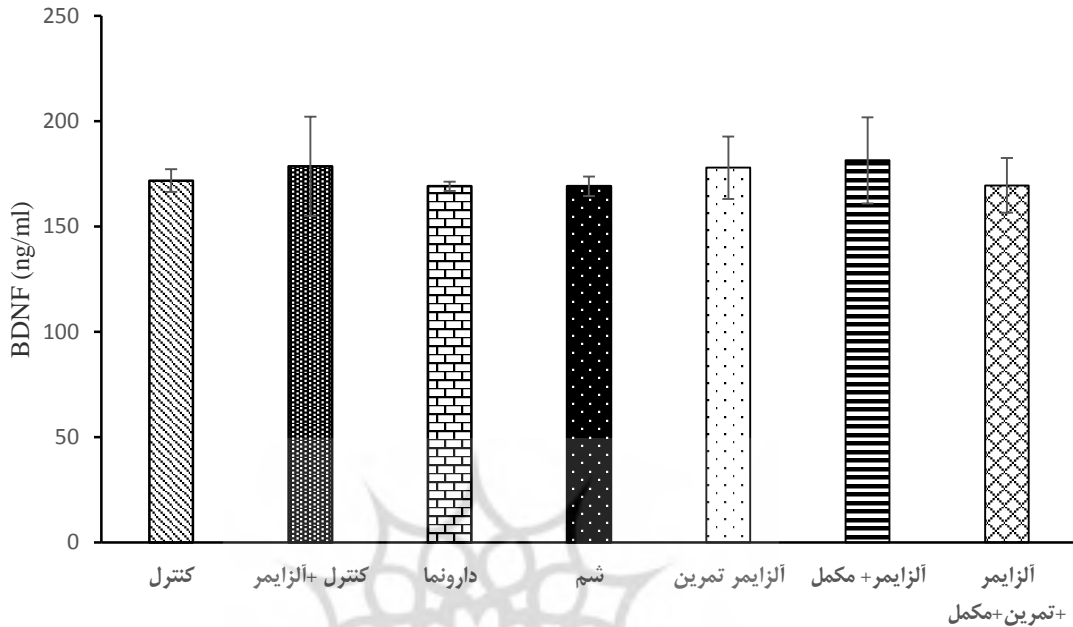
## روش آماری

برای بررسی و تجزیه و تحلیل داده‌ها، از آمار توصیفی و استنباطی و به‌منظور بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. همچنین برای مقایسه بین گروهی داده‌های پس از پایان مداخله، از تحلیل واریانس یکطرفه برای بررسی مقایسه بین گروهی شاخص BDNF ( $F=0/847$ )،  $P=0/05$ ) نشان می‌دهد بین گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری وجود ندارد. بررسی درصد تغییرات در مقایسه با گروه کنترل نشان داد سطوح BDNF در گروه تمرین آلزایمر ۳/۵۷ درصد، گروه مکمل آلزایمر ۵/۶۳ درصد، گروه کنترل آلزایمر ۳/۹۸ درصد افزایش و گروه آلزایمر + تمرین + مکمل ۱/۳۵ درصد، گروه دارونما ۱/۵۷ درصد و گروه شم ۱/۵۴ درصد کاهش یافت (شکل ۱).

## یافته‌های پژوهش

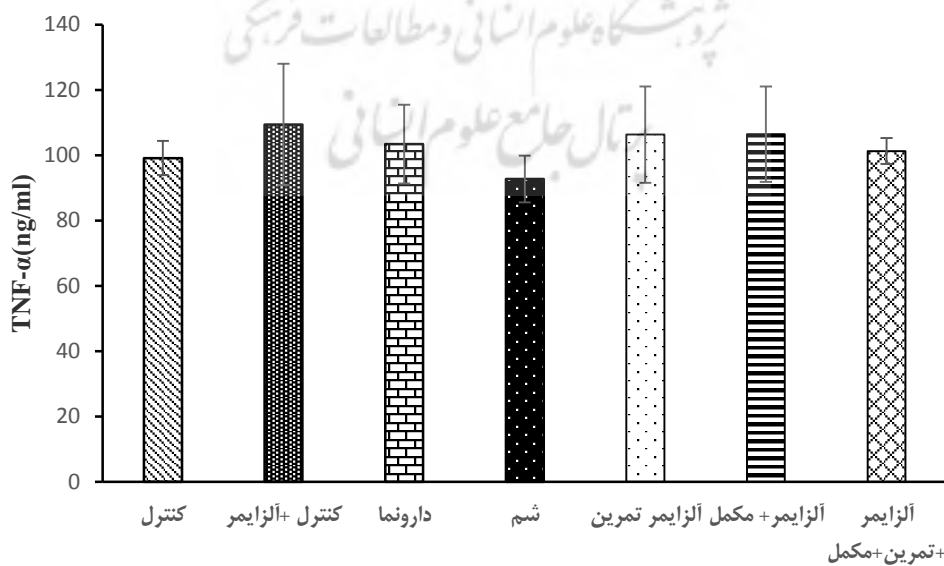
نتایج حاصل از آزمون شاپیروویلیک و آزمون لون به‌ترتیب نشان دادند داده‌های این تحقیق از توزیع طبیعی برخوردارند و همگنی واریانس‌ها حاکم است ( $P<0/05$ ). نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای بررسی مقایسه بین گروهی شاخص BDNF ( $F=0/847$ )،  $P=0/05$ ) نشان می‌دهد بین گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری وجود ندارد. بررسی درصد تغییرات در مقایسه با گروه کنترل نشان داد سطوح BDNF در گروه تمرین آلزایمر ۳/۵۷ درصد، گروه مکمل آلزایمر ۵/۶۳ درصد، گروه کنترل آلزایمر ۳/۹۸ درصد افزایش و گروه آلزایمر + تمرین + مکمل ۱/۳۵ درصد، گروه دارونما ۱/۵۷ درصد و گروه شم ۱/۵۴ درصد کاهش یافت (شکل ۱).

تأخیر ورود به محفظه تاریک (تأخیر گام‌به‌گام STLA) پس از هشت هفته نشان داد زمان تأخیر در گروه کنترل سالم در مقایسه با سایر گروه‌ها کمترین زمان بود ( $P < 0.05$ ). همچنین تأخیر ورود به محفظه تاریک در گروه دارونما در مقایسه با گروه مکمل، گروه کنترل آلزایمر و گروه شم کمترین زمان بود ( $P < 0.05$ ).



شکل ۱. تغییرات سطوح BDNF در گروه‌های پژوهش، تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش مشاهده نشد ( $P < 0.05$ )

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای بررسی مقایسه بین گروهی شاخص  $TNF-\alpha$  ( $F=1/297$ ,  $P=0/279$ ) نشان می‌دهد بین گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری وجود ندارد. در بررسی درصد تغییرات در مقایسه با گروه کنترل مشخص شد که سطوح  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین آلزایمر ۷/۶۲ درصد، گروه آلزایمر + تمرین + مکمل ۲/۱۶ درصد، گروه مکمل آلزایمر ۷/۳۶ درصد، گروه کنترل آلزایمر ۱۰/۳۹ درصد، گروه دارونما ۴/۳۲ درصد افزایش و گروه شم ۶/۴۴ درصد کاهش یافت (شکل ۲).



شکل ۲. تغییرات سطوح  $TNF-\alpha$  در گروه‌های پژوهش، تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش مشاهده نشد ( $P < 0.05$ )

جدول ۲. درصد تغییرات نسبت به گروه کنترل

متغیر	گروه آلزایمر + تمرین + مکمل	آلزایمر + مکمل	آلزایمر + تمرین	شم	دارونما	کنترل آلزایمر
BDNF	- ۱/۳۵	+ ۵/۶۳	+ ۳/۵۷	- ۱/۵۴	- ۱/۵۷	+ ۳/۹۸
TNF- $\alpha$	+ ۲/۱۶	+ ۷/۳۶	+ ۷/۶۲	- ۶/۴۴	+ ۴/۳۲	+ ۱۰/۳۹

- نشان دهنده کاهش، + نشان دهنده افزایش

## بحث و نتیجه گیری

هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر مصرف مکمل جینکوبیلوبا و تمرینات استقامتی تناوبی بر فعالیت TNF- $\alpha$  و BDNF سرم موش‌های نر مدل آلزایمری بود. نتایج نشان داد در پی مکمل‌گیری و اجرای تمرینات استقامتی تناوبی تغییر معناداری در سطوح BDNF ایجاد نکرد. به نظر می‌رسد نقش BDNF در توسعه AD چندجته باشد. مشخص است که کاهش BDNF با افزایش فسفوریلاسیون تاو، تجمع A $\beta$ ، التهاب عصبی و آپوپتوز عصبی همراه است [۲۵]. به طوری که بر اساس نتایج تحقیقات گذشته سطح BDNF سرم و پلاسما در نتیجه ورزش حاد یا منظم افزایش می‌یابد [۱۶، ۲۶، ۲۷]. BDNF محیطی که در جریان خون یافت می‌شود، توسط پلاکت‌ها محدود می‌شود [۲۸]، اگرچه افزایش BDNF سرم یا پلاسما پس از ورزش اغلب از پلاکت‌ها، نورون‌ها و سلول‌های اندوتلیال عروقی مشتق می‌شود که BDNF را هم به مغز و هم در جریان خون کمک می‌کند [۲۹]. یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم اندازه‌گیری سطوح BDNF در سرم آزمودنی‌ها بود. با این حال اینکه آیا BDNF آزاد می‌تواند به صورت دوطرفه از سد خونی-مغزی عبور کند و اینکه آیا سطوح BDNF محیطی منعکس‌کننده سطوح BDNF در مغز است، بحث‌برانگیز است. در حالی که برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که BDNF مشتق از مغز می‌تواند از سد خونی مغزی عبور کند و وارد گردش خون شود [۱۳، ۳۰، ۳۱]، بر اساس نتایج برخی پژوهش‌ها BDNF در گردش به مغز وارد نمی‌شود [۳۲]. تغییرات سطوح BDNF با مسیرهای سیگنال‌دهی پایین‌دستی مانند پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن/پروتئین کیناز تنظیم‌شده با سیگنال خارج سلولی (MAPK/ERK)، PI3K و فسفولیپاز C $\gamma$ /پروتئین کیناز C (PLC $\gamma$ /PKC) همراه است که با فعال شدن پروتئین اتصال دهنده فاکتور رونویسی پاسخ به cAMP که برای شکل‌پذیری سیناپسی حیاتی است، مرتبطاند [۲۵]. چندین پژوهش همبستگی مثبتی را بین سطوح BDNF مرکزی و محیطی در حیوانات گزارش کرده‌اند که نشان می‌دهد سطوح BDNF سرم و پلاسما ممکن است سطوح BDNF مغز را منعکس کند. همبستگی مثبتی بین سطوح BDNF هیپوکامپ و سطوح BDNF پلاسما در خوک‌ها و بین سطوح BDNF در هیپوکامپ و قشر جلوی مغز و سطوح BDNF در کل خون و سرم موش‌ها مشاهده شد [۳۳]. اگر این فرضیه در تحقیق حاضر نیز صدق کند، مصرف مکمل Egb761 نیز نتوانست بر سطوح BDNF اثرگذار باشد. ناهمسو با نتایج تحقیق حاضر لی و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند عصاره Egb761 بر سطوح سرمی BDNF و NGF بیماران مبتلا به AD اثر افزایشی داشت [۳۴]. به نظر می‌رسد یکی از دلایل ناهمسویی تفاوت آزمودنی‌ها باشد.

BDNF نقش اساسی در ارتقای بقای عصبی، نوروزن، نگهداری و رشد دندریت‌ها، انتقال سیناپسی، انعطاف‌پذیری و تحریک‌پذیری دارد [۳۵]؛ بنابراین نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه هیپوکامپ بازی می‌کند. BDNF در بروز و حفظ تقویت درازمدت (LTP) فاز اولیه و اواخر فاز نقش دارد که به ترتیب مربوط به حافظه کوتاه‌مدت و بلندمدت هیپوکامپ است [۳۳]. ورزش از سلول‌های عصبی در برابر انحطاط مرتبط با آلزایمر از طریق بهبود مسیرهای سیگنال‌دهی BDNF و پاکسازی A $\beta$  محافظت می‌کند [۸]. به نظر می‌رسد اثر سودمند دوییدن با سیگنال‌دهی BDNF/TrkB افزایش می‌یابد، زیرا BDNF یک تنظیم‌کننده مهم انعطاف‌پذیری سیناپسی است [۳۶]. از سوی دیگر، دوییدن (با سرعت ۵ تا ۱۱ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه و پنج روز در هفته) روی تردمیل به مدت پنج ماه به کاهش شدید رسوب

<sup>1</sup>. cAMP Response Element-Binding Protein (CREB)

<sup>2</sup>. Long-Term Potentiation (LTP)



$A\beta$  و فسفوریلاسیون تاو در هیپوکامپ موش‌های آلزایمر منجر می‌شود [۳۷]. نشان داده شده است که ورزش بیان  $BDNF$  را در هیپوکامپ تحریک می‌کند [۳۸]، حجم هیپوکامپ را افزایش می‌دهد و حافظه را بهبود می‌بخشد [۳۸، ۳۹]. موری و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند تغییرات در سطوح سرمی  $BDNF$  ممکن است تحت تأثیر میزان فعالیت بدنی فردی باشد. بی‌تفاوتی ناشی از آلزایمر که با زوال شناختی آشکار می‌شود، ممکن است به کاهش فعالیت بدنی و در نهایت کاهش سطح  $BDNF$  سرم منجر شود [۴۰]. در تحقیق حاضر نشان داده شد سطوح  $BDNF$  در سرم گروه مکمل آلزایمر در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش بیشتری داشت. مکمل جینکوبیلوبا به‌عنوان طب سنتی چینی دارای سابقه طولانی دارویی و حاوی بسیاری از مواد فعال مانند جینکولاید، بیلوبالید و فلاونوئیدهاست [۱۹]. این مواد سبب می‌شوند جینکو دارای آنتی‌اکسیدان قوی و پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد باشد. فرضیه بتا آمیلوئید، به‌عنوان پاتوژن اصلی  $AD$ ، نشان می‌دهد که رسوب  $A\beta$  و سمیت عصبی آن، علل اصلی اختلال عملکرد شناختی در بیماران است. چندین تحقیق نشان داده‌اند که  $EgB$  با انسداد رویدادهای ناشی از  $A\beta$ ، از جذب گلوکز و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در برابر سمیت عصبی ناشی از  $A\beta$  محافظت می‌کند. گزارش شده است که  $EgB$  با کاهش سطح کلسترول آزاد در گردش، از تولید  $A\beta$  در مغز جلوگیری می‌کند، زیرا پردازش  $A\beta PP$  و آمیلوئیدوژنیک تحت تأثیر سطح کلسترول آزاد و داخل‌سلولی قرار می‌گیرد [۲۱، ۳۴].

غلظت پایین  $BDNF$  می‌تواند نتیجه سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند  $TNF-\alpha$  باشد که مانع از تجزیه وابسته به فعال‌کننده پلاسمینوژن پرو- $BDNF$  به  $BDNF$  می‌شود، زیرا وقتی وزن بدن بازیابی می‌شود، روند التهابی آهسته می‌شود و غلظت  $BDNF$  دوباره افزایش می‌یابد [۱۱]. همسو با این سازوکار، یکی دیگر از نتایج تحقیق حاضر نشان داد سطوح  $TNF-\alpha$  در بین گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری نداشت. این در حالی است که مجموعه متنوعی از مایوکاین‌ها، سایتوکاین‌ها و پپتیدها در پاسخ به ورزش آزاد می‌شوند که در مجموع به آنها «اگزورکین» می‌گویند. بسیاری از مایوکاین‌هایی که پس از ورزش آزاد می‌شوند، مانند آیریزین، لاکتات، کاتسپین-B و اسید کینورینیک، بیان  $BDNF$  را در هیپوکامپ تنظیم می‌کنند و عملکرد شناختی را افزایش می‌دهند [۳۳].  $TNF-\alpha$  در داخل بدن محافظت‌کننده عصبی است؛ بنابراین به‌طور منطقی، بیان محصولات پیش‌التهابی باید با بیان عناصر نوروتروفیک متعادل شود تا  $TNF-\alpha$  بتواند از آسیب عصبی و مرگ در داخل بدن محافظت کند [۱۷]. در این پژوهش، نشان داده شد که اجرای تمرینات استقامتی تناوبی و مکمل  $EgB761$  سطوح  $TNF-\alpha$  را تغییر نداد.  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین آلزایمر و گروه مکمل آلزایمر در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت که به‌نظر می‌رسد نقش حفاظتی ورزش و مکمل  $EgB761$  از طریق  $TNF-\alpha$  باشد. با اینکه  $TNF-\alpha$  یک سایتوکاین پیش‌التهابی است،  $TNF-\alpha$  به‌عنوان یک عامل نوروتوکسیک و همچنین عامل محافظت‌کننده عصبی در نظر گرفته می‌شود. بیان شده است که این سایتوکاین به‌عنوان یک عامل تخریب‌کننده عصبی با خاموش کردن سیگنال‌های بقا در نورون‌ها عمل می‌کند [۱۷، ۴۰].

ورزش پاسخ التهابی عصبی را مهار می‌کند و  $AD$  را به تأخیر می‌اندازد و علائم را کاهش می‌دهد. در نهایت مشخص شده است  $BDNF$ ، در مغز و اعصاب محیطی یافت می‌شود و نقش مهمی در حفاظت نورونی و نوروژن‌زایی دارد، از آنجا که ورزش استقامتی تناوبی نتوانست بر سطوح  $TNF-\alpha$  و  $BDNF$  سرم موش‌ها تأثیرگذار باشد. نتایج نشان داد که  $BDNF$  سرم که هنوز در خصوص آن اجماع حاصل نشده است، ممکن است به‌عنوان نشانگر زیستی برای تشخیص اولیه  $AD$  در عمل بالینی استفاده شود، زیرا ممکن است تجمع  $A\beta$  را در مغز منعکس کند. این پژوهش دارای چند محدودیت است؛ حجم نمونه کوچک و تجزیه و تحلیل بر اساس داده‌های مقطعی بود. پژوهش‌های آینده با گروه‌های بزرگ مورد نیاز است و مطالعات طولی برای آزمایش پتانسیل  $BDNF$  سرم به‌عنوان ی ابزار پیش‌آگهی برای  $AD$  ضروری است. به‌نظر می‌رسد مدت و شدت تمرینات از جمله عوامل تأثیرگذار بر میزان تغییرات در سرم باشد؛ اما از آنجایی که اجرای تمرینات استقامتی متناوب چالش‌برانگیز نیست و درگیری شناختی ایجاد نمی‌کند، به‌نظر می‌رسد از جمله دلایل عدم تغییرپذیری سطوح عوامل یادشده باشد. از این‌رو پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده در کنار اجرای تمرینات استقامتی تناوبی از چالش‌های ذهنی همچون محیط غنی و تمرینات چالش‌برانگیز استقامتی تناوبی استفاده شود.

1. Reactive Oxygen Species (ROS)

2. Exerkines

## تقدیر و تشکر

از همه عزیزان دانشگاه علوم پزشکی زاهدان و کارکنان محترم مرکز حیوانات این دانشگاه که در به سرانجام رساندن این پژوهش، گروه تحقیقاتی ما را یاری کردند، صمیمانه سپاسگزاریم.

## References

- [1]. Talebi V, Azali Alamdari K. Effect of Regular versus Complex Wheel Running on Hippocampal Interleukin-10 level and Histology, Spatial Memory Function and Depression level in Rat Model of Alzheimer Disease. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2023:-. (In Persian).
- [2]. Pahlavani HA. Exercise therapy to prevent and treat Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2023;15. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1243869>
- [3]. Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *The Lancet Neurology*. 2011;10(9):819-28. 10.1016/S1474-4422(11)70072-2.
- [4]. Lin T-W, Tsai S-F, Kuo Y-M. Physical exercise enhances neuroplasticity and delays Alzheimer's disease. *Brain plasticity*. 2018;4(1):95-110. 10.3233/BPL-180073
- [5]. Ghosh A, Jagtap T, Issac TG. Cognitive Benefits of Physical Activity in the Elderly: A Narrative Review. *Journal of Psychiatry Spectrum*. 2024;3(1):4-11. 10.4103/jopsys.jopsys\_40\_23
- [6]. Kantawala B, Ramadan N, Hassan Y, Fawaz V, Mugisha N, Nazir A, et al. Physical activity intervention for the prevention of neurological diseases. *Health Science Reports*. 2023;6(8). 10.1002/hsr2.1524
- [7]. Cass SP. Alzheimer's disease and exercise: a literature review. *Current sports medicine reports*. 2017;16(1):19-22. 10.1249/JSR.0000000000000332.
- [8]. Lin T-W, Shih Y-H, Chen S-J, Lien C-H, Chang C-Y, Huang T-Y, et al. Running exercise delays neurodegeneration in amygdala and hippocampus of Alzheimer's disease (APP/PS1) transgenic mice. *Neurobiology of learning and memory*. 2015;118:189-97. 10.1016/j.nlm.2014.12.005.
- [9]. Favalli G, Li J, Belmonte-de-Abreu P, Wong AH, Daskalakis ZJ. The role of BDNF in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Journal of psychiatric research*. 2012;46(1):1-11. 10.1016/j.jpsychires.2011.09.022.
- [10]. Xia M, Zhao T, Wang X, Li Y, Li Y, Zheng T, et al. Brain-derived neurotrophic factor and its applications through nanosystem delivery. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*. 2021;20(4):137. 10.22037/ijpr.2021.115705.15484
- [11]. Gliwińska A, Czubińska-Łada J, Więckiewicz G, Świętochowska E, Badeński A, Dworak M, et al. The role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in diagnosis and treatment of epilepsy, depression, schizophrenia, anorexia nervosa and Alzheimer's disease as highly drug-resistant diseases: a narrative review. *Brain Sciences*. 2023;13(2):163. 10.3390/brainsci13020163
- [12]. Hosseini SM, Fallahmohammadi Z, Talebi V, Mohammadi HF, Patel DI. Pretreatment

Effect of a 6-week Swimming Training protocol along with Vitamin D administration on the brain levels of BDNF, TNF- $\alpha$  and IL-10 in Rats Model of EAE. *International Journal of Applied Exercise Physiology*. 2019;8(1):51-8. 10.30472/ijaep.v8i1.359

- [13]. Hoseini SM, Falah Mohammadi Z, Talebi V. Preventive Effect six Weeks of Swimming Training on the Levels of Cytokines and Brain-Derived Neurotrophic Rat Model of EAE. *Journal of Sport Biosciences*. 2020;12(1):53-65. <https://doi.org/10.22059/jsb.2019.246687.1223>. (In Persian).
- [14]. Maharaj A, Slusher AL, Zourdos MC, Whitehurst M, Fico BG, Huang C-J. Association of calprotectin with leukocyte chemotactic and inflammatory mediators following acute aerobic exercise. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2016;41(1):83-7. 10.1139/apnm-2015-0385. <https://link.springer.com/article/10.1080/13550280290101021#citeas>
- [15]. Hosseini SM, Fallahmohammadi Z, Talebi V. The effect of regular interval training on histochemical symptoms and cytokine and neurotrophic levels of brain tissue of the Lewis rats in experimental model of multiple sclerosis. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2018;22(5):450-7. (In Persian).
- [16]. Saha RN, Liu X, Pahan K. Up-regulation of BDNF in astrocytes by TNF- $\alpha$ : a case for the neuroprotective role of cytokine. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2006;1:212-22. 10.1007/s11481-006-9020-8.
- [17]. Nagatsu T, Sawada M. Inflammatory process in Parkinson's disease: role for cytokines. *Current pharmaceutical design*. 2005;11(8):999-1016. 10.2174/1381612053381620.
- [18]. Singh SK, Srivastav S, Castellani RJ, Plascencia-Villa G, Perry G. Neuroprotective and antioxidant effect of Ginkgo biloba extract against AD and other neurological disorders. *Neurotherapeutics*. 2019;16:666-74. 10.1007/s13311-019-00767-8.
- [19]. Le Bars P. Magnitude of effect and special approach to Ginkgo biloba extract EGb 761® in cognitive disorders. *Pharmacopsychiatry*. 2003;36(S 1):44-9. 10.1055/s-2003-40458.
- [20]. Nowak A, Kojder K, Zielonka-Brzezicka J, Wróbel J, Bosiacki M, Fabiańska M, et al. The use of Ginkgo biloba L. as a neuroprotective agent in the Alzheimer's disease. *Frontiers in pharmacology*. 2021;12:775034. 10.3389/fphar.2021.775034
- [21]. Liu H, Ye M, Guo H. An updated review of randomized clinical trials testing the improvement of cognitive function of Ginkgo biloba extract in healthy people and Alzheimer's patients. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;10:1688. 10.3389/fphar.2019.01688.
- [22]. Keymoradzadeh A, Hedayati Ch M, Abedinzade M, Khakpour-Taleghani B. Enriched environment restores passive avoidance memory impairment in a rat model of neuroinflammation. *Physiology and Pharmacology*. 2022;26(2):127-37. 10.52547/phypha.26.3.4
- [23]. Pourrabie SR, Mohajjel Naebi A. Role of the Testosterone in memory impairment of Alzheimer disease induced with streptozocin in mature male Rats. *Experimental animal Biology*. 2020;8(4):85-96. 10.1186/2008-2231-20-98
- [24]. Gao L, Zhang Y, Sterling K, Song W. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. *Translational Neurodegeneration*.

2022;11(1):1-34. <https://doi.org/10.1186/s40035-022-00279-0>

- [25]. Szuhany KL, Bugatti M, Otto MW. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *Journal of psychiatric research*. 2015;60:56-64. 10.1016/j.jpsychires.2014.10.003
- [26]. Nicolini C, Michalski B, Toepp SL, Turco CV, D'Hoine T, Harasym D, et al. A single bout of high-intensity interval exercise increases corticospinal excitability, brain-derived neurotrophic factor, and uncarboxylated osteocalcin in sedentary, healthy males. *Neuroscience*. 2020;437:242-55. 10.1016/j.neuroscience.2020.03.042.
- [27]. Levi-Montalcini L, Cohen S, Leibrock J, Lottspeich F, Hohn A, Hofer M, et al. Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thrombosis and haemostasis*. 2002;87(04):728-34. 10.1055/s-0037-1613072
- [28]. Walsh JJ, Tschakovsky ME. Exercise and circulating BDNF: Mechanisms of release and implications for the design of exercise interventions. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2018;43(11):1095-104. 10.1139/apnm-2018-0192.
- [29]. Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology*. 1998;37(12):1553-61. 10.1016/s0028-3908(98)00141-5. 10.1016/s0028-3908(98)00141-5.
- [30]. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Experimental physiology*. 2009;94(10):1062-9. 10.1113/expphysiol.2009.048512.
- [31]. Pardridge WM, Kang Y-S, Buciak JL. Transport of human recombinant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) through the rat blood-brain barrier in vivo using vector-mediated peptide drug delivery. *Pharmaceutical research*. 1994;11:738-46. 10.1023/a:1018940732550.
- [32]. Jaberi S, Fahnstock M. Mechanisms of the Beneficial Effects of Exercise on Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in Alzheimer's Disease. *Biomolecules*. 2023;13(11):1577. <https://doi.org/10.3390/biom13111577>
- [33]. Li D, Ma J, Wei B, Gao S, Lang Y, Wan X. Effectiveness and safety of ginkgo biloba preparations in the treatment of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2023;15:1124710. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1124710>.
- [34]. Lu B, Nagappan G, Lu Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. *Neurotrophic factors*. 2014:223-50. 10.1007/978-3-642-45106-5\_9.
- [35]. Liu H-l, Zhao G, Cai K, Zhao H-h. Treadmill exercise prevents decline in spatial learning and memory in APP/PS1 transgenic mice through improvement of hippocampal long-term potentiation. *Behavioural brain research*. 2011;218(2):308-14. 10.1016/j.bbr.2010.12.030.
- [36]. Liu H-l, Zhao G, Zhang H. Long-term treadmill exercise inhibits the progression of Alzheimer's disease-like neuropathology in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice. *Behavioural brain research*. 2013;256:261-72. 10.1016/j.bbr.2013.08.008.
- [37]. Xie B, Zhou H, Liu W, Yu W, Liu Z, Jiang L, et al. Evaluation of the diagnostic value of

- peripheral BDNF levels for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: results of a meta-analysis. *International Journal of Neuroscience*. 2020;130(3):218-30. 10.1080/00207454.2019.1667794.
- [38]. Nikolac Perkovic M, Borovecki F, Filipcic I, Vuic B, Milos T, Nedic Erjavec G, et al. Relationship between Brain-Derived Neurotrophic Factor and Cognitive Decline in Patients with Mild Cognitive Impairment and Dementia. *Biomolecules*. 2023;13(3):570. 10.3390/biom13030570.
- [39]. Mori Y, Tsuji M, Oguchi T, Kasuga K, Kimura A, Futamura A, et al. Serum BDNF as a potential biomarker of Alzheimer's disease: verification through assessment of serum, cerebrospinal fluid, and medial temporal lobe atrophy. *Frontiers in Neurology*. 2021;12:653267. 10.3389/fneur.2021.653267. eCollection 2021.
- [40]. Subedi L, Lee SE, Madiha S, Gaire BP, Jin M, Yumnam S, et al. Phytochemicals against  $TNF \alpha$ -mediated neuroinflammatory diseases. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(3):764. 10.3390/ijms21030764

