



Ministry of Science, Research and Technology
Sport Sciences Research Institute

Sport Physiology

Journal homepage: <https://spj.ssric.ac.ir>



Original Article

Effects of Aerobic Interval Training and Ginkgo Biloba Supplementation on Long Non-Coding RNAs TUG1 and MEG3 in the Hippocampus of Wistar Rats with Experimental Alzheimer's Disease

Sepideh Basirat Dehkordi¹, Mehdi Mogharnasi*¹, Majid Vahidian-Rezazadeh², Mohsen Saravani³

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran
2. Department of Physical Education, Faculty of Humanities and Arts, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran
3. Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Received: 27-Sep-2025 | Accepted: 20-Apr-2026 | Available Online: 22-Apr-2026

*Corresponding Author: Mehdi Mogharnasi, E-mail: mogharnasi@birjand.ac.ir

How to Cite: Basirat Dehkordi, S; Mogharnasi, M; Vahidian-Rezazadeh, M; Saravani, M. (2026). Effects of Aerobic Interval Training and Ginkgo Biloba Supplementation on Long Non-Coding RNAs TUG1 and MEG3 in the Hippocampus of Wistar Rats with Experimental Alzheimer's Disease. *Sport Physiology*, 18(70):33-50. (In Persian). Doi: [10.22089/spj.2026.18387.2392](https://doi.org/10.22089/spj.2026.18387.2392)

Extended Abstract

Background and Purpose

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by severe cognitive decline and neuronal loss, primarily driven by the accumulation of amyloid-beta (A β) plaques and neurofibrillary tau tangles. These pathological hallmarks disrupt synaptic plasticity and memory formation, posing significant challenges for current therapeutic approaches. Recent evidence highlights the critical role of epigenetic regulators, particularly long non-coding RNAs (lncRNAs) such as TUG1 and MEG3, in AD pathogenesis. TUG1 is known to mitigate neuronal apoptosis by modulating specific molecular cascades, whereas MEG3 is essential for maintaining neuronal survival and cognitive integrity. Consequently, targeting these lncRNAs offers a promising avenue for neuroprotection. Non-pharmacological interventions, including aerobic interval training (AIT) and Ginkgo biloba (GB) supplementation, have gained attention for their multi-modal benefits. AIT enhances cerebral function by upregulating neurotrophic factors and attenuating oxidative stress, while GB exerts antioxidant and anti-inflammatory effects that counteract A β toxicity. However, the synergistic potential of combining these strategies to modulate hippocampal lncRNA expression remains underexplored. This study investigates the



Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

combined effects of AIT and GB on TUG1 and MEG3 expression in the hippocampus of a rat model of AD, aiming to elucidate their capacity to alleviate cognitive decline and provide a novel epigenetic perspective for AD management.

Materials and Methods

Forty-nine male Wistar rats, aged 8–10 weeks and weighing 250 ± 20 g, were housed in a controlled environment with a standard 12-hour light-dark cycle and free access to food and water. From an initial cohort of 56 animals, six were lost during the Alzheimer's disease (AD) induction phase, and one was excluded due to sample preparation issues, resulting in a final sample size distributed across seven groups: Healthy Control (HC, $n=7$), Alzheimer's Control (AC, $n=8$), Ginkgo Biloba (AD+GB, $n=8$), Ginkgo Biloba + Aerobic Interval Training (AD+GB+AIT, $n=8$), Aerobic Interval Training (AD+AIT, $n=8$), Sham ($n=5$), and Placebo ($n=5$). AD was induced via bilateral intracerebroventricular injection of A β 1-42 ($5\mu\text{g}/\mu\text{L}$, $2\mu\text{L}/\text{site}$) using a stereotaxic apparatus. Following a 4-week post-injection period to confirm pathology, interventions commenced. The AD+AIT and AD+GB+AIT groups underwent an 8-week progressive treadmill aerobic interval training program, 5 days per week, at intensities ranging from 40% to 55% of VO_2max . Concurrently, the AD+GB and AD+GB+AIT groups received Ginkgo biloba extract (100 mg/kg/day) via oral gavage. Cognitive performance was evaluated using the shuttle box passive avoidance test to assess memory retention. Upon completion, hippocampal tissues were extracted, and the expression levels of lncRNAs TUG1 and MEG3 were quantified using quantitative real-time PCR (qPCR), normalized to β -actin as a housekeeping gene. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by LSD post-hoc tests, with statistical significance set at $P \leq 0.05$.

Results

Evaluation of cognitive performance via the shuttle box passive avoidance test demonstrated that the Healthy Control (HC) group achieved the highest step-through latency (STLA), reflecting superior memory retention relative to all other groups ($P \leq 0.05$). In contrast, the Placebo group exhibited significantly reduced latency compared to the Ginkgo Biloba (AD+GB), Alzheimer's Control (AC), and Sham groups ($P \leq 0.05$), indicating negligible cognitive effects from the placebo procedure. Regarding hippocampal gene expression, no statistically significant differences were observed in TUG1 levels across the study cohorts ($P > 0.05$). Although the AC group presented a slight, non-significant increase in TUG1 expression (1.36 ± 0.76) compared to HC (1.27 ± 0.98), AD+AIT (1.08 ± 0.75), AD+GB+AIT (1.22 ± 0.82), AD+GB (1.06 ± 1.00), Sham (1.13 ± 0.54), and Placebo (1.22 ± 0.71), these variations were not meaningful. On the other hand, MEG3 expression was significantly amplified in the AD+GB+AIT group (2.19 ± 1.98) when compared to the AC (0.93 ± 0.12 , $P < 0.0001$), HC ($P = 0.002$), AD+AIT (0.83 ± 0.47 , $P < 0.0001$), Sham (1.00 ± 0.08 , $P < 0.0001$), and Placebo (0.95 ± 0.17 , $P = 0.001$) groups. While the AD+GB group showed elevated MEG3 levels (1.69 ± 0.27) versus the AC group, statistical significance was not reached ($P > 0.05$). Collectively, these data imply that the combined regimen of aerobic interval training and Ginkgo biloba selectively upregulates MEG3, suggesting a neuroprotective role, whereas TUG1 expression remains unaffected by these treatments.

Conclusion

In conclusion, this study demonstrates that the synergistic application of aerobic interval training and Ginkgo biloba supplementation exerts selective regulatory effects on hippocampal lncRNAs in a rat model of Alzheimer's disease. While the interventions did not alter TUG1 expression,

they significantly upregulated MEG3 levels in the combined group, surpassing even healthy control levels. This distinct upregulation suggests a robust neuroprotective mechanism, likely mediated by enhanced neurotrophic support, reduced oxidative stress, and the activation of survival pathways such as PI3K/Akt. These findings underscore the therapeutic potential of non-pharmacological strategies in modulating epigenetic markers to counteract neuronal apoptosis and cognitive decline. Consequently, MEG3 represents a promising target for AD management, whereas the role of TUG1 requires further investigation with extended intervention periods to fully elucidate its responsiveness and molecular interactions in AD pathology

Keywords: Aerobic Interval Training, Ginkgo Biloba, TUG1, MEG3, Alzheimer's Disease.

Article Message

This investigation highlights that the concurrent use of aerobic interval training and Ginkgo biloba supplementation induces selective neuroprotective outcomes by markedly enhancing hippocampal MEG3 expression, without modulating TUG1. The results indicate that integrating non-pharmacological approaches can effectively regulate epigenetic mechanisms to mitigate neuronal apoptosis and oxidative stress associated with Alzheimer's disease. Therefore, directing therapeutic strategies toward lncRNA MEG3 via combined lifestyle modifications presents a viable and cost-effective method for managing AD pathology, underscoring the significant role of physical activity and phytochemicals in promoting neuroprotection and cognitive resilience.

Ethical Considerations

All experimental procedures were approved by the Ethics Committee of the Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran (Ethical Code: [IR.SSRC.REC.1403.001](#)) and adhered to the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publication No. 85-23, revised 2011).

Authors' Contributions

Conceptualization: Sepideh Basirat Dehkordi, Mehdi Mogharnasi, Majid Vahidian-Rezazadeh, Mohsen Saravani

Data curation: Sepideh Basirat Dehkordi

Formal analysis: Sepideh Basirat Dehkordi

Funding acquisition: Sepideh Basirat Dehkordi

Investigation: Sepideh Basirat Dehkordi

Methodology: Majid Vahidian-Rezazadeh

Project administration: Mehdi Mogharnasi

Resources: Sepideh Basirat Dehkordi

Software: Mohsen Saravani

Supervision: Majid Vahidian-Rezazadeh

Validation: Mohsen Saravani

Visualization: Mohsen Saravani

Writing—original draft: Sepideh Basirat Dehkordi

Writing—review & editing: Sepideh Basirat Dehkordi, Mohsen Saravani

Conflict of Interest

The authors declare no competing interests

Acknowledgments

This project was supported by Zahedan University of Medical Sciences and Imam Ali Hospital Research Center, Zahedan, Iran. The authors express their sincere gratitude for this support.



فیزیولوژی ورزشی

وبگاه نشریه: <https://spj.ssric.ac.ir>



مقاله پژوهشی

بررسی اثرات تمرین تناوبی هوازی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا بر بیان RNAهای غیر کدکننده بلند TUG1 و MEG3 در بافت هیپوکامپ موش‌های نر ویستار مبتلا به آلزایمر تجربی

سپیده بصیرت دهکردی^۱، مهدی مقرنسی*^۱، مجید وحیدیان رضازاده^۲، محسن سراوانی^۳

۱. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

۲. گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی و هنر، دانشگاه ملی مهارت، تهران، ایران

۳. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۵ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۳۱ | تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۵/۰۲/۰۲

*نویسنده مسئول: مهدی مقرنسی، ایمیل: mogharnasi@birjand.ac.ir

نحوه ارجاع دهی: بصیرت دهکردی، سپیده، مقرنسی، مهدی، وحیدیان رضازاده، مجید، سراوانی، محسن. (۱۴۰۵). بررسی اثرات تمرین تناوبی هوازی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا بر بیان RNAهای غیر کدکننده بلند TUG1 و MEG3 در بافت هیپوکامپ موش‌های نر ویستار مبتلا به آلزایمر تجربی. فیزیولوژی ورزشی، ۱۸ (۷۰): ۳۳-۵۰.

چکیده

هدف: این پژوهش با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی (AIT) همراه با مکمل جینکوبیلوبا (GB) بر بیان ژن‌های TUG1 و MEG3 در هیپوکامپ موش‌های نر ویستار مبتلا به آلزایمر القایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۴۹ موش نر ویستار (250 ± 20 گرم) به صورت تصادفی به هفت گروه کنترل سالم (HC، $n=7$)، کنترل آلزایمر (AC، $n=8$)، جینکوبیلوبا (AD+GB، $n=8$)، جینکوبیلوبا+تمرین تناوبی هوازی (AD+GB+AIT، $n=8$)، تمرین تناوبی هوازی (AD+AIT، $n=8$)، دارونما (N=5) و شام (N=5) تقسیم شدند. آلزایمر با تزریق ۴ میکرولیتر بتا آمیلوئید به بطن‌های مغز القا شد و بعد از گذشت چهار هفته از القا، بیماری با آزمون شاتل باکس تأیید شد. گروه‌های تمرینی پنج روز در هفته تمرین کردند و گروه‌های جینکوبیلوبا روزانه ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل دریافت کردند. بیان ژن‌های هیپوکامپ با روش qRT-PCR کمی‌سازی شد و تحلیل داده‌ها با تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD صورت گرفت ($P \leq 0.05$).

یافته‌ها: بیان ژن TUG1 در بین گروه‌های مطالعه تفاوت معناداری را نشان نداد ($P > 0.05$). بیان ژن MEG3 در گروه AD+GB+AIT به طور معناداری بالاتر از گروه‌های AC ($P < 0.001$)، HC ($P = 0.002$)، AD+AIT ($P < 0.001$)، شام ($P < 0.001$) و دارونما ($P = 0.001$) بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد، اعمال همزمان تمرین تناوبی هوازی و جینکوبیلوبا با بالا بردن بیان MEG3، از آپوپتوز نورونی جلوگیری می‌کند؛ اگرچه این مداخله تغییری در بیان TUG1 ایجاد نکرد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی هوازی، جینکوبیلوبا، TUG1، MEG3، بیماری آلزایمر.



مقدمه

بیماری آلزایمر (AD) اختلال عصبی تخریبی پیشرونده‌ای است که با تخریب نورون‌ها و نقص‌های شناختی در سیستم عصبی مرکزی مشخص می‌شود (۱، ۲). ویژگی‌های پاتولوژیک اصلی این بیماری شامل تشکیل پلاک‌های آمیلوئید-بتا ($A\beta$) و کلافه‌های نوروفیبریلاری از پروتئین تائوی بیش‌فسفریله‌شده است که عملکرد سیناپسی و یکپارچگی نورون‌ها را مختل می‌کنند (۱، ۲). عوامل ژنتیکی (مانند آلل ۴۴ آپولیپوپروتئین E)، عوامل محیطی (نظیر نوروتوکسین‌ها) و سبک زندگی (مانند کم‌ تحرکی و تغذیه نامناسب) در شروع و پیشرفت آلزایمر نقش دارند (۱، ۲). این عوامل چندگانه، نیاز به رویکردهای درمانی جامع را که مسیرهای پاتولوژیک متعددی را هدف قرار می‌دهند، ضروری می‌کند (۲).

RNAهای بلند غیرکدکننده (lncRNA)ها، رونوشت‌های غیرکدکننده پروتئین با طول بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید، نقش کلیدی در تنظیم اپیژنتیکی، رونویسی و پس‌رونویسی بیان ژن دارند (۳). این مولکول‌ها که در سیستم عصبی مرکزی بیان بالایی دارند، در رشد نورون‌ها، شکل‌پذیری سیناپسی و فرایندهای شناختی دخیل‌اند (۳). در بیماری آلزایمر، اختلال در تنظیم lncRNAها می‌تواند به آپوپتوز نورون‌ها و نقص شناختی منجر شود (۳). lncRNAها از طریق عملکرد به‌عنوان RNAهای رقابتی درون‌زا (ceRNA) یا داربست‌های پروتئینی در پاتوژنز آلزایمر نقش دارند (۴).

دو lncRNA خاص یعنی ژن تنظیم‌شده با تائورین ۱ (TUG1) و ژن بیان‌شده مادری ۳ (MEG3)، به‌طور ویژه با بیماری آلزایمر مرتبط‌اند (۴). TUG1 به‌عنوان یک ceRNA با مهار میکروRNAها (مانند miR-15a) و تنظیم پروتئین کیناز ۱ حاوی کویل-کویل وابسته به Rho (ROCK1)، آپوپتوز نورون‌های هیپوکامپ را کاهش می‌دهد و سمیت عصبی را در مدل‌های آلزایمر بهبود می‌بخشد (۴، ۵). درمقابل، افزایش تنظیم MEG3 اختلال شناختی را بهبود می‌بخشد، آسیب عصبی را کاهش می‌دهد و از طریق غیرفعال کردن مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt، فعال شدن آستروسیت‌ها را در بافت‌های هیپوکامپ در آلزایمر مهار می‌کند (۶). این ویژگی‌ها، TUG1 و MEG3 را به اهداف درمانی بالقوه در آلزایمر تبدیل کرده است (۳). با وجود نقش محافظتی TUG1، مطالعات نشان داده‌اند که بیان آن در آلزایمر افزایش می‌یابد و کاهش آن از طریق miR-15a با بهبود حافظه فضایی و کاهش آپوپتوز نورون‌های هیپوکامپ همراه است (۷). همچنین ورزش هوازی با افزایش بیان BDNF و کاهش TUG1، آپوپتوز عصبی را در مدل‌های زوال عقل مهار کرده است (۸)؛ هرچند پاسخ این ژن به ورزش ممکن است وابسته به جنسیت و مسیرهای میتوکندریایی باشد (۹). درباره MEG3، برخی مطالعات نقش محافظتی آن را گزارش کرده‌اند، اما شواهد جدید حاکی از آن است که القای آن در نورون‌های انسانی در معرض پلاک‌های آمیلوئید β به نکروپتوز و مرگ سلولی منجر می‌شود و این ژن به‌عنوان قوی‌ترین ژن تنظیم‌شده در آسیب‌شناسی آلزایمر شناخته می‌شود (۱۰). از سوی دیگر، ورزش استقامتی و مصرف مکمل‌هایی مانند لوسین می‌تواند با تعدیل شبکه lncRNAها از جمله افزایش بیان MEG3 در محور روده-مغز، اثرات هم‌افزایی بر بهبود عملکرد عصبی داشته باشد (۱۱). با توجه به اینکه تاکنون در مطالعه‌ای به بررسی اثر مکمل جینکوبیلوبا بر این دو فاکتور پرداخته نشده است، درک دقیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی ورزش و مکمل‌ها بر TUG1 و MEG3 می‌تواند راهبردهای درمانی جدیدی را برای آلزایمر آشکار کند.

بسیاری از مؤسسات در تحقیقات دارویی برای درمان آلزایمر سرمایه‌گذاری کرده‌اند، اما هدف اصلی دارودرمانی بهبود عملکرد شناختی و وضعیت روانی بیمار است. درمان دارویی فقط می‌تواند تسکین ایجاد کند، اما نمی‌تواند به‌طور مؤثر وخامت بیماری را کنترل کند و ممکن است با عوارض جانبی همراه باشد (۱۲)؛ بنابراین درمان‌های غیردارویی (NPTs) در درمان آلزایمر توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده‌اند. درمان‌های اصلی برای NPTs شامل مداخلات سبک زندگی، اصلاحات غذایی، ورزش و مداخلات ترکیبی چندوجهی است (۱۳). تمرینات تناوبی هوازی که شامل دوره‌های متناوب

فعالیت با شدت‌های زیاد و کم است، از طریق افزایش فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود جریان خون مغزی، عملکرد شناختی و ظرفیت عملکردی را در افراد مسن با اختلال شناختی خفیف بهبود می‌بخشد (۱۴). از سوی دیگر، توجه محققان به‌سوی مداخلات غذایی و مکمل‌های گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی سوق یافته است. در این میان، عصاره استاندارد شده برگ درخت جینکوبیلوبا به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین مکمل‌های گیاهی در جهان، جایگاه ویژه‌ای در تحقیقات علوم اعصاب یافته است. برخلاف بسیاری از مکمل‌های فلاونوئیدی عمومی، جینکوبیلوبا حاوی ترکیبی منحصربه‌فرد و متعادل از فلاونوئیدها (مانند کورستین و کامفرول) و ترپنوئیدها (مانند جینکگولایدها و بیلوبالاید) است که هم‌افزایی (سینرژی) خاصی با یکدیگر دارند. این ترکیبات فعال، اثرات نوروپروتکتیو قدرتمندی را از طریق مکانیسم‌های چندگانه اعمال می‌کنند؛ ازجمله کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد، مهار تجمع پپتید سمی آمیلوئید-بتا در مغز و نیز بهبود جریان خون مغزی و متابولیسم عصبی (۱۵). با توجه به نقش محوری هیپوکامپ در یادگیری و حافظه و تأثیر آن از پاتولوژی آلزایمر، بررسی اثرات ترکیبی تمرینات تناوبی هوازی و جینکوبیلوبا بر بیان lncRNAهای TUG1 و MEG3 در هیپوکامپ مدل موشی آلزایمر می‌تواند دیدگاه‌های جدیدی در درمان این بیماری ارائه دهد؛ بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیر هم‌افزایی این مداخلات بر مسیرهای مولکولی هیپوکامپ و عملکرد شناختی، درصدد تبیین پتانسیل درمانی آن‌ها در کاهش تخریب عصبی و بهبود کیفیت زندگی بیماران بود.

روش پژوهش

در این پژوهش، ۴۹ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 20 ± 250 گرم و سن هشت تا ده هفته، در قفس‌های شفاف (هر قفس حاوی دو موش) در شرایط محیطی کنترل شده نگهداری شدند. دمای محیط 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲ ساعته (روشنایی-تاریکی) بود و موش‌ها به آب و غذای استاندارد دسترسی آزاد داشتند. ابتدا انتخاب ۵۶ موش صورت گرفت، اما شش موش در فرایند القای بیماری آلزایمر تلف شدند و یک موش به دلیل خرابی نمونه در مرحله تحلیل ژن کنار گذاشته شد. موش‌ها به صورت تصادفی به هفت گروه تقسیم شدند: کنترل سالم ($HC, n=7$)، کنترل آلزایمر ($AC, n=8$)، جینکوبیلوبا ($AD+GB, n=8$)، جینکوبیلوبا+تمرین تناوبی هوازی ($AD+GB+AIT, n=8$)، تمرین تناوبی هوازی ($AD+AIT, n=8$)، شام ($Sham, n=5$) و دارونما ($Placebo, n=5$).

گروه‌های مطالعه شامل گروه‌های کنترل و گروه‌های مداخله بود. گروه‌های کنترل بر دو گروه شام و دارونما بود. گروه شام: این گروه محلول سالین استریل دریافت کرد تا اثرات استرس ناشی از جراحی بررسی شود؛ گروه دارونما: آب مقطر از طریق گاواژ خوراکی تجویز شد تا تأثیرات روش تجویز ارزیابی شود. همچنین گروه‌های مداخله شامل دو گروه تمرین و مکمل بود. گروه‌های تمرین: گروه‌های $AD+AIT$ و $AD+GB+AIT$ به مدت هشت هفته، پنج روز در هفته، تمرین تناوبی هوازی روی تردمیل انجام دادند. پروتکل شامل گرم کردن (۵ تا ۱۰ دقیقه، سرعت ۵ متر بر دقیقه)، فاز اصلی (دو تا چهار چرخه با شدت متوسط تا کم، معادل ۴۰ تا ۵۵ درصد حداکثر ظرفیت هوازی) و سرد کردن (۵ دقیقه) بود؛ گروه‌های مکمل: گروه‌های $AD+GB$ و $AD+GB+AIT$ عصاره جینکوبیلوبا (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، پنج روز در هفته) از طریق گاواژ خوراکی دریافت کردند. عصاره در آب مقطر حل و با سوند معده تجویز شد (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات گروه‌های مطالعه | Table 1- Characteristics of the study groups

وضعیت Condition	گروه Group	تعداد n	مداخله Intervention
گروه‌های آلزایمر Alzheimer's Disease Groups	AD+AIT	8	تمرین تناوبی هوازی Aerobic interval training
	AD+GB	8	مکمل جینکوبیلوبا Ginkgo biloba supplementation
	AIT+GB	8	تمرین تناوبی هوازی+مصرف مکمل جینکوبیلوبا Ginkgo biloba+Aerobic interval training
کنترل سالم Healthy Control	AC	8	القای بیماری بدون مداخله درمانی No therapeutic intervention
	HC	7	حیوانات سالم بدون مداخله Healthy animals with no intervention
	Sham	5	تزریق سالین استریل برای کنترل استرس جراحی Sterile saline injection (surgical stress control)
کنترل دارونما Placebo Control	Placebo	5	گاواژ آب مقطر برای کنترل استرس دریافت مکمل Distilled water gavage (control for administration-related stress)

روش‌های جراحی

پس از یک دوره سازگاری دوهفته‌ای، فرایند القای بیماری آلزایمر طی چهار روز انجام شد. پپتید آمیلوئید-بتا ۱-۴۲ ($A\beta_{1-42}$)، غلظت ۵ میکروگرم بر میکرولیتر، شرکت GenScript، آمریکا) به مدت یک هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس با سالین استریل رقیق شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. موش‌ها با کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زیلازین (۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و در دستگاه استریوتاکسیک ثابت شدند. پس از ایجاد برش میدلاین در پوست سر، ناحیه برگما مشخص شد و دو سوراخ ۱ میلی‌متری (۲ میلی‌متر خلفی و ۱/۴ میلی‌متر جانبی نسبت به برگما) ایجاد شد. آمیلوئید-بتا ۱-۴۲ (حجم ۲ میکرولیتر در هر نقطه) به صورت دوطرفه و طی ۵ دقیقه به بطن‌های جانبی تزریق شد (با استفاده از سرنگ همیلتون ۵ میکرولیتری) (۱۶). برای اطمینان از موفقیت‌آمیز بودن مدل‌سازی، ارزیابی‌های اولیه رفتاری در هفته دوم پس از القا انجام شد که با وجود شروع فرایندهای پاتولوژیک، اختلال شناختی درخور توجهی در این زمان‌بندی مشاهده نشد؛ از این‌رو آزمون جعبه شاتل، مجدداً در هفته چهارم تکرار شد. در این مرحله، با توجه به تکامل یافتن اختلالات عصبی و تثبیت نقص‌های عملکردی ناشی از تزریق $A\beta$ ، اختلال حافظه به طور معناداری تأیید شد و مداخلات درمانی به مدت هشت هفته آغاز شد (۱۷).

ارزیابی رفتاری

حافظه با استفاده از جعبه شاتل برای آزمون اجتناب غیرفعال در سه مرحله ارزیابی شد: پیش از تزریق؛ چهار هفته پس از تزریق؛ پس از مداخله. در روز اول، موش‌ها در محفظه روشن قرار داده شدند و پس از ۳۰ ثانیه، درب باز شد. ورود به محفظه تاریک موجب اعمال شوک الکتریکی خفیف (۵/۰ میلی‌آمپر به مدت ۲ ثانیه) شد. در روز دوم، تأخیر در ورود به

محفظه تاریک (STLA)^۱ (زمان عبور) ثبت شد که حداکثر زمان آزمون ۵ دقیقه در نظر گرفته شد تا میزان حفظ حافظه ارزیابی شود (۱۸).

پروتکل تمرین ورزشی

تمرینات تناوبی هوازی برای گروه‌های AD+AIT و AD+GB+AIT به مدت هشت هفته طراحی شد. این پروتکل شامل دو مرحله سازگاری و اصلی بود. دوره سازگاری (دو هفته): تمرینات روزانه به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۸ متر بر دقیقه، پنج روز در هفته انجام شد؛ دوره اصلی (هشت هفته): شامل پنج جلسه هفتگی با ساختار زیر بود:

- گرم کردن: ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه؛
- فاز اصلی: پروتکل تمرین هوازی به صورت تمرین تناوبی با شدت پیش‌رونده روی تردمیل طراحی شد. این برنامه که پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته اجرا شد، شامل افزایش تدریجی بار تمرینی از طریق ارتقای سرعت دویدن و تعداد تناوب‌ها بود. شدت تمرین طی دوره مطالعه از ۱۰ متر بر دقیقه در هفته ابتدایی به ۱۶ متر بر دقیقه در هفته پایانی افزایش یافت. این دامنه از شدت معادل ۴۰ تا ۵۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) بود (۱۹). جزئیات دقیق برنامه تمرینی به صورت هفتگی به این شرح بود: در هفته‌های اول و دوم، حیوانات دو تناوب ۱۵ دقیقه‌ای را با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه اجرا کردند. در هفته سوم، تعداد تناوب‌ها به سه بار افزایش یافت و سرعت به ۱۲ متر بر دقیقه ارتقا یافت. این روند افزایش تعداد تناوب در هفته چهارم ادامه یافت؛ به طوری که در این هفته چهار تناوب با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه انجام شد. در هفته‌های پنجم و ششم، سرعت دویدن به ۱۴ متر بر دقیقه افزایش یافت؛ در حالی که تعداد تناوب‌ها ثابت و برابر با چهار نوبت باقی ماند. سرعت در هفته‌های هفتم و هشتم به بالاترین سطح خود یعنی ۱۶ متر بر دقیقه رسید و چهار تناوب در هر جلسه اجرا شد. ساختار هر جلسه تمرینی شامل اجرای چرخه‌های تناوبی ۱۵ دقیقه‌ای بود. برای مدیریت خستگی و تسهیل ریکاوری، بین تناوب‌های اصلی دوره‌های استراحت فعال پنج دقیقه‌ای با سرعت ۵ متر بر دقیقه گنجانده شد؛
- سرد کردن: ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه (۲۰).

تجهیزات و شرایط محیطی

تمرینات روی تردمیل پنج خط ویژه جوندگان (شرکت فنی‌آزمای ایران) انجام شد. شرایط محیطی شامل دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50 ± 5 درصد بود. جزئیات بیشتر در جدول (۲) ذکر شده است.

روش تجویز جینکوبیلوبا

عصاره جینکوبیلوبا با خلوص ۶ درصد (شرکت دینه تهران، ایران) با دوز ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای گروه‌های AD+GB و AD+GB+AIT تجویز شد. محلول با این ترکیب تهیه شد: دو گرم پودر برگ جینکوبیلوبا؛ ۵ میلی لیتر اتانول؛ ۱/۶ میلی لیتر سوربیتول؛ آب مقطر تا حجم نهایی ۲۶/۶ میلی لیتر. محلول در هشت سری مجزا آماده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. تجویز روزانه از طریق گاوژ خوراکی (با استفاده از سوند معده) انجام گرفت. دوز مصرفی به صورت هفتگی براساس تغییرات وزن موش‌ها تنظیم شد (۲۱).

جدول ۲- زمان بندی پروتکل های تمرینی | Table 2- Training protocol schedule

هفته Week								
8	7	6	5	4	3	2	1	-2
15	15	15	15	15	15	15	15	15
مدت (دقیقه) Duration (min)								
4	4	4	4	4	3	2	2	1
تناوب در روز Interval/day								
16	16	14	14	12	12	10	10	5-8
سرعت (m/min) speed								
55%	55%	53%	53%	49%	49%	45%	45%	40%
% VO2max								

روش استخراج بافت هیپوکامپ

بیست و چهار ساعت پس از آخرین آزمون حافظه در دستگاه شاتل باکس، موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ترکیب کتامین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۸ میلی گرم بر کیلوگرم) بی هوش شدند. پس از اطمینان از عمق بی هوشی (با پاسخ ندادن به تحریک پا)، سر حیوانات در شرایط کاملاً استریل و با رعایت اصول اخلاقی آزمایشگاهی قطع شد. برای جداسازی دقیق هیپوکامپ، ابتدا مجموعه با ابزار استریل باز شد. سپس با استفاده از دستگاه استریوتاکسیک و براساس مختصات آناتومیک مشخص (نسبت به نقطه برگما)، هیپوکامپ با دقت میلی متری خارج شد. بلافاصله پس از جداسازی، نمونه‌ها در محلول سرد PBS حاوی ۰/۱ درصد DEPC (برای مهار RNase) شستشو داده شدند. برای حفظ یکپارچگی RNA، نمونه‌ها در محلول تثبیت کننده RNA (TRIZOL-based، ساخت شرکت پارس توس) غوطه ور شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش‌های مولکولی ذخیره شدند.

تحلیل بیان ژن

RNA با استفاده از کیت RNX-Plus ساخت ایران از بافت هیپوکامپ استخراج شد. نکته کلیدی تأیید نسبت جذب ۲۸۰/۲۶۰ nm بین ۱/۸-۲/۰ و غلظت RNA بالای ۲۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر بود تا از کیفیت نمونه‌ها اطمینان حاصل شود. برای تبدیل RNA به cDNA، یک مرحله مهم تیمار با DNase با کیت پارس توس (شماره کاتالوگ: A101161) انجام شد تا هرگونه آلودگی DNA ژنومی حذف شود. در طراحی پرایمرها دقت زیادی شد: طول محصولات ۱۵۰-۲۰۰ PCR جفت باز در نظر گرفته شد، دمای ذوب پرایمرها 60 ± 2 درجه سانتی گراد تنظیم شد و بازدهی واکنش ۹۵-۱۰۵

درصد کنترل شد. برای انجام qPCR، از دستگاه StepOne Applied Biosystems استفاده شد. نکات مهم در تنظیم شرایط واکنش عبارت بود از: استفاده از SYBR Green Master Mix؛ مقدار ۱۰۰ نانوگرم cDNA در هر واکنش؛ غلظت ۰/۵ میکرومولار برای هر پرایمر. برنامه دمایی به دقت تنظیم شد: ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه برای فعال سازی آنزیم و ۳۵ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه (دناتوراسیون)، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه (اتصال پرایمر) و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه (تکثیر). برای تحلیل نتایج، از ژن بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و نرمال سازی داده ها با روش Pfaffl صورت گرفت. این روش به محاسبه تغییرات بیان ژن ها با دقت زیاد کمک کرد (۲۰) (جدول ۳).

جدول ۳- توالی های پرایمر برای PCR کمی هم زمان

Table 3- The qRT-PCR primer sequences

Gene	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')	Product Length (bp)
TUG1	F: TGAAGAAGTGAAGTGGGAAT	R: GGGCAGTGGTTTCAAGCAGT	150-200
MEG3	F: CCTTTTGGGGTAGTGGGGAC	R: TGTGCTGAGGTTTCTGCC	150-200
ACTB	F: GATGGTGGGTATGGGTCAG	R: GCTCATTGTAGAAAGTGTGG	150-200

روش آماری

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک و به منظور ارزیابی همگنی واریانس ها از آزمون لون استفاده شد. مقایسه بین گروه ها با تحلیل واریانس یک طرفه (آنوا) و آزمون تعقیبی LSD انجام گرفت. سطح معناداری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش شد.

نتایج

تغییرات وزن بدن

در جدول (۴)، اطلاعات توصیفی مربوط به وزن بدن موش ها در ابتدا و پس از هشت هفته مداخله ارائه شده است. نتایج نشان داد که در گروه کنترل سالم، وزن بدن در پایان هفته هشتم در مقایسه با آغاز مطالعه افزایش معناداری داشت ($P < 0.05$)، اما در سایر گروه های آزمایشی، تغییرات وزن در طول زمان معنادار نبود. همچنین در پایان مطالعه، تفاوت معناداری از نظر وزن بدن بین گروه های مداخله و گروه کنترل آلزایمر مشاهده نشد.

ارزیابی رفتاری

تأخیر ورود به محفظه تاریک (STLA) برای تأیید القای بیماری ارزیابی شد. نتایج نشان داد که گروه های کنترل سالم (HC)، شم (Sham) و دارونما (Placebo) در مقایسه با سایر گروه ها زمان تأخیر کمتری داشتند ($P < 0.05$).

بیان ژن TUG1

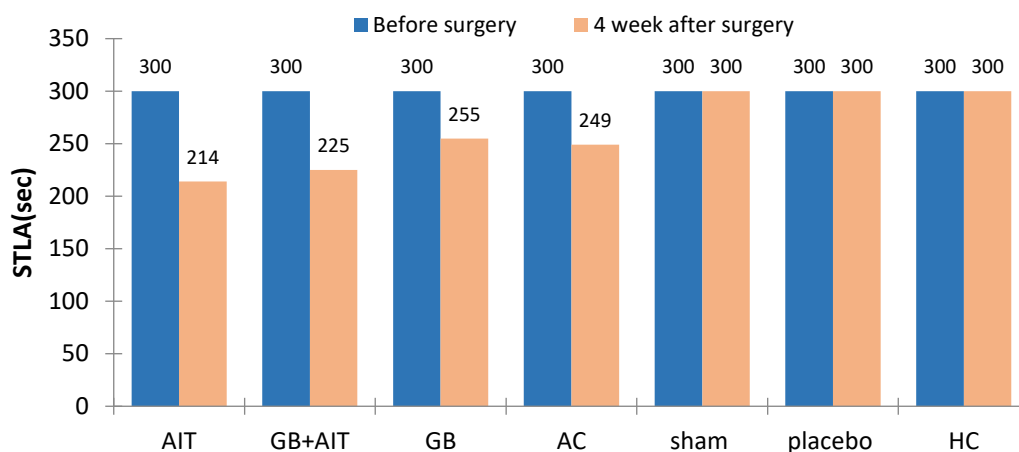
براساس نتایج، هیچ تفاوت معناداری در بیان ژن TUG1 بین گروه ها مشاهده نشد ($P > 0.05$). گروه کنترل آلزایمر (AC) بیان عددی بالاتری ($1/36 \pm 0/76$) در مقایسه با گروه های کنترل سالم ($1/27 \pm 0/98$)، تمرین تناوبی هوازی

($1/08 \pm 0/75$)، جینکوبیلوبا+تمرین تناوبی هوازی ($1/22 \pm 0/82$)، جینکوبیلوبا ($1/06 \pm 1/00$)، شم ($1/12 \pm 0/54$) و دارونما ($1/22 \pm 0/71$) نشان داد، اما این تفاوت‌ها از نظر آماری معنادار نبود (شکل ۲).

جدول ۴- میانگین و انحراف معیار وزن موش‌ها (برحسب گرم) در ابتدا و پس از هشت هفته مداخله

Table 4- Mean and standard deviation of mice weight (g) at baseline and after eight weeks of intervention

Post بعد	Pre قبل	n تعداد	Groups گروه‌ها
39.75±30.296	12.50±13.236	8	AD+AIT
07.00±36.297	73.50±14.235	8	AD+GB+AIT
55.00±26.299	63.12±13.247	8	AD+GB
355.62±14.83	249.50±8.34	7	HC
292.12±35.81	239.00±11.60	8	AC
304.50±25.63	276.00±53.36	5	Placebo
303.40±46.12	246.00±18.82	5	Sham

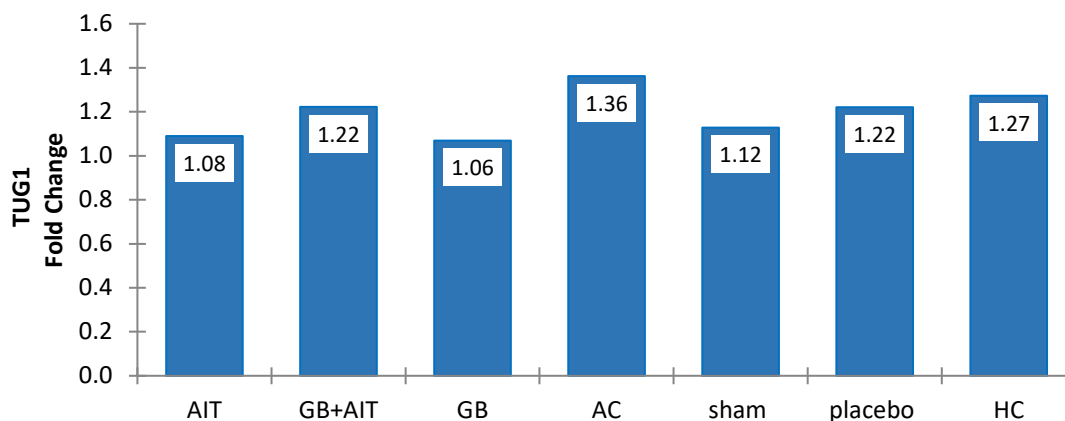


شکل ۱- نتایج آزمون اجتناب منفی در مراحل پیش و پس از جراحی در گروه‌های جراحی تزریق شده با Aβ

Figure 1- Results of the passive avoidance test in the pre-and post-surgery phases in Aβ-injected surgical groups

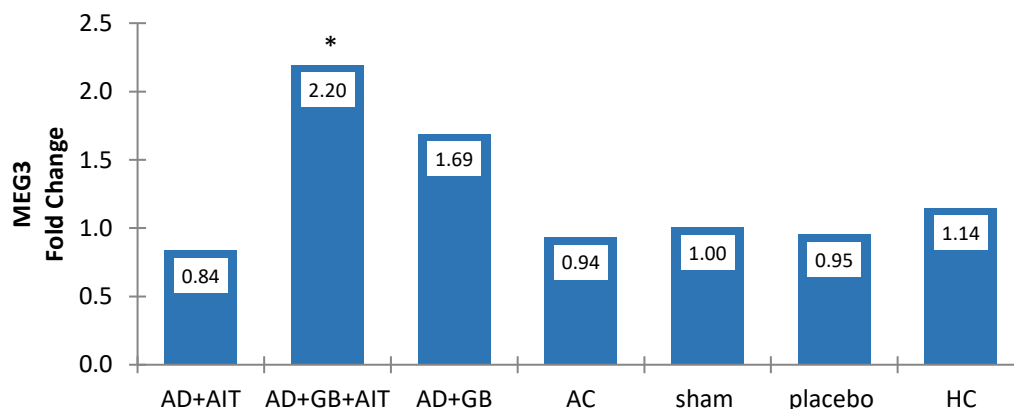
بیان ژن MEG3

گروه جینکوبیلوبا+تمرین تناوبی هوازی (AD+GB+AIT) بیان ژن MEG3 بالاتری ($2/20 \pm 1/98$) در مقایسه با گروه‌های کنترل آلزایمر ($0/94 \pm 0/12$)، کنترل سالم ($P=0/002$)، تمرین تناوبی هوازی ($0/84 \pm 0/47$)، شم ($P<0/001$)، $1/00 \pm 0/08$ و دارونما ($0/95 \pm 0/17$) نشان داد. گروه جینکوبیلوبا بیان بالاتری در مقایسه با گروه کنترل آلزایمر داشت، اما این تفاوت معنادار نبود ($P>0/05$) (شکل ۳).



شکل ۲- سطوح بیان نسبی ژن TUG1 در هیپوکامپ موش صحرایی

Figure 2- Relative TUG1 gene expression levels in rat hippocampus



شکل ۳- سطوح بیان نسبی ژن MEG3 در هیپوکامپ موش صحرایی

* تفاوت معنادار گروه جینکوبیلوبا+تمرین تناوبی هوازی با سایر گروه‌های مطالعه ($P < 0.05$)

Figure 3- Relative MEG3 gene expression levels in rat hippocampus

*Significant difference between the Ginkgo biloba+aerobic interval training group and other study groups ($P < 0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش به‌عنوان نخستین مطالعه‌ای که به بررسی اثرات هم‌افزایی تمرین تناوبی هوازی (AD+AIT) و مکمل‌یاری با جینکوبیلوبا (AD+GB) بر بیان lncRNAهای TUG1 و MEG3 در بافت هیپوکامپ مدل حیوانی بیماری آلزایمر (AD) پرداخته است، یافته‌های مهمی درباره تنظیم اپی‌ژنتیکی نورون‌ها ارائه می‌دهد. نتایج پژوهش نشان داد که القای بیماری در مدل مطالعه‌شده، برخلاف انتظارات اولیه، تغییرات معناداری را در سطح پایه بیان TUG1 و MEG3 ایجاد نکرد، اما مداخله درمانی به‌ویژه در گروه ترکیبی توانست تغییرات درخور توجهی را در پروفایل بیان MEG3 ایجاد کند. یکی از یافته‌های درخور تأمل این پژوهش، تغییر معنادار نکردن بیان TUG1 در گروه کنترل آلزایمر (AC) در مقایسه با گروه کنترل سالم (HC) بود. این نتیجه با فرضیه کلاسیک پژوهش که بر کاهش بیان TUG1 به‌عنوان مکانیزمی برای مهار آپوپتوز نورونی تمرکز داشت، مغایرت دارد. ثبات سطح بیان TUG1 با وجود القای بیماری می‌تواند نشان‌دهنده مقاومت نسبی این مسیر تنظیمی در مراحل اولیه مدل پاتوفیزیولوژیک مطالعه‌شده یا پیچیدگی‌های تنظیمی اپی‌ژنتیکی

این lncRNA در پاسخ به پپتید بتا آمیلوئید باشد؛ به عبارت دیگر، ممکن است مکانیسم‌های جبرانی سلولی در بازه زمانی بررسی شده مانع از نوسانات درخورتوجه در سطح این ژن شده باشند. علاوه بر این، پاسخ ندادن TUG1 به مداخلات ورزشی و مکملی نشان می‌دهد که این lncRNA خاص نسبت به پروتکل‌های درمانی اعمال شده در بازه زمانی هشت هفته حساسیت کمی دارد. این نتایج با یافته‌های پژوهش وانگ و همکاران که افزایش TUG1 را در مدل اختلال شناختی عروقی پس از ورزش گزارش کردند (۸)، در تضاد است. این تفاوت‌ها احتمالاً ناشی از تفاوت‌های بنیادین پاتوفیزیولوژیک بین مدل آلزایمر و اختلالات عروقی، تفاوت‌های جنسیتی (۲۲) یا کوتاه بودن دوره مداخله برای القای تغییرات اپی‌ژنتیکی پایدار در TUG1 است.

درمقابل، بیان ژن MEG3 پاسخ‌های متفاوتی را نشان داد. القای بیماری به‌تنهایی تغییر معناداری را در بیان پایه MEG3 ایجاد نکرد، اما نتایج نشان‌دهنده افزایش معنادار بیان این ژن در گروه ترکیبی AD+GB+AIT در مقایسه با تمامی گروه‌های دیگر از جمله AC، HC، AD+AIT، Sham و Placebo بود. این افزایش بیان که مستقل از وضعیت پایه در گروه بیماری روی داده است، با فرضیه پژوهش مینی‌بر نقش نوروپروتکتیو MEG3 در بهبود عملکرد شناختی همسوست. این یافته حاکی از آن است که ترکیب تمرین هوازی و جینکوبیلوبا می‌تواند به صورت انتخابی مسیرهای مولکولی مرتبط با MEG3 را فعال کند؛ فارغ از اینکه آیا بیماری آلزایمر به‌تنهایی این مسیر را سرکوب کرده بود یا خیر؛ به عبارت دیگر، مداخله درمانی موفق شد با ایجاد تغییر مثبت و فراتر از وضعیت طبیعی در بیان MEG3، اثرات نوروپروتکتیو خود را اعمال کند.

افزایش معنادار بیان MEG3 در گروه ترکیبی با شواهد پیشین همخوانی دارد. بالوسو و همکاران (۱۰) و فرهادیه و همکاران (۲۳) گزارش کردند که افزایش MEG3 با کاهش آپوپتوز نورونی از طریق فعال‌سازی مسیر PI3K/Akt مرتبط است که به کاهش آسیب‌های نورونی در مدل‌های آلزایمر منجر می‌شود. همچنین عابدپور و همکاران افزایش بیان MEG3 را پس از ترکیب تمرین مقاومتی و مکمل لوسین مشاهده کردند (۱۱) که پتانسیل ترکیب مداخلات ورزشی و ترکیبات زیست‌فعال را در تقویت مکانیسم‌های دفاعی عصبی تأیید می‌کند؛ بنابراین مدل آلزایمر به‌کاررفته در این مطالعه به کاهش پایه MEG3 منجر نشد، اما ظرفیت مداخلات ترکیبی برای بالا بردن سطح این ژن فراتر از مقادیر نرمال (گروه HC) و بیماری (گروه AC)، اهمیت بالینی بالقوه‌ای را برای پیشگیری یا درمان نشان می‌دهد (۲۳).

از منظر مکانیسمی، به نظر می‌رسد تمرین تناوبی هوازی و جینکوبیلوبا از طریق مسیرهای مکمل و هم‌افزا بر بیان MEG3 تأثیر می‌گذارند. تمرین تناوبی هوازی با افزایش فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) نورون‌ها را تقویت می‌کند و انعطاف‌پذیری سیناپسی و بقای نورون‌ها را بهبود می‌بخشد (۹، ۱۲). این نوروپلاستیسته احتمالاً از طریق تنظیم اپی‌ژنتیکی به افزایش بیان MEG3 منجر می‌شود (۲۰). از سوی دیگر، ورزش با مهار مسیر NF-κB التهاب عصبی را کاهش می‌دهد که می‌تواند زمینه را برای اثرات نوروپروتکتیو MEG3 فراهم آورد (۲۴). جینکوبیلوبا نیز با ترکیبات فلاونوئیدی و ترپنوئیدی خود، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) را افزایش می‌دهد و استرس اکسیداتیو را تعدیل می‌کند (۲۴، ۱۰). در گروه ترکیبی AD+GB+AIT، اثرات سینرژیک کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، احتمالاً با تثبیت هموستاز سلولی و فعال‌سازی مسیر PI3K/Akt، بیان MEG3 را به طور چشمگیری تقویت کرده است (۲۵، ۶). درمقابل، تغییر نیافتن TUG1 نشان‌دهنده تأثیر نداشتن این مداخلات بر مسیر miR-15a/ROCK1 است که توسط TUG1 تنظیم می‌شود (۷، ۵).

علاوه بر تغییرات مولکولی، بررسی شاخص‌های فیزیولوژیک و تأیید مدل حیوانی نیز نتایج درخورتوجهی را به همراه داشت. ارزیابی تغییرات وزن بدن نشان داد که در گروه کنترل سالم، افزایش وزن طی هشت هفته به طور طبیعی و

معناداری رخ داد؛ در حالی که در سایر گروه‌های آزمایشی تغییرات وزن در طول زمان معنادار نبود. این ثبات وزنی در گروه‌های بیماری می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر پاتولوژی عصبی بر متابولیسم باشد (۲۶)، اما نبود تفاوت معنادار نهایی وزن بین گروه‌های مداخله و گروه کنترل آلزایمر تأیید می‌کند که پروتکل‌های ورزشی و مصرف مکمل جینکوبیلوبا عوارض کاتابولیک شدید یا سمیت سیستمیک ایجاد نکرده‌اند و تحمل خوبی توسط حیوانات داشته‌اند. درخصوص ارزیابی رفتاری، آزمون جعبه شاتل برای تأیید القای بیماری انجام شد که نتایج نشان‌دهنده عملکرد شناختی مطلوب‌تر در گروه‌های کنترل سالم، شم و دارونما در مقایسه با سایر گروه‌ها بود (۲۷). این یافته صحت مدل‌سازی القای آلزایمر و ایجاد اختلال حافظه در گروه‌های بیماری را تأیید کرد و پایه لازم برای تفسیر تغییرات مولکولی ناشی از مداخلات درمانی فراهم نمود. درنهایت، داده‌های حاضر نشان می‌دهند که القای آلزایمر در مدل مطالعه‌شده تغییرات چشمگیری در بیان پایه TUG1 و MEG3 ایجاد نکرد، اما مداخله ترکیبی (AD+GB+AIT) توانست با موفقیت بیان MEG3 را به طور معناداری افزایش دهد. این یافته‌ها بر این نکته تأکید دارند که ارزش درمانی مداخلات ورزشی و دارویی لزوماً محدود به بازگرداندن تغییرات ایجادشده توسط بیماری نیست؛ بلکه این مداخلات می‌توانند با فعال‌سازی مسیرهای محافظتی (مانند MEG3/PI3K/Akt) و هدف‌گیری استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و اختلال سیناپسی، اثرات ترمیمی و پیشگیرانه مستقیمی داشته باشند؛ با این حال، تفسیر این نتایج باید با در نظر گرفتن محدودیت‌هایی همراه باشد. بررسی نشدن مسیرهای پایین‌دستی مانند پروتئین‌های PI3K/Akt یا ROCK1 با تکنیک وسترن‌بلات، درک مکانیسم‌های دقیق تنظیم این lncRNA را محدود کرده است. همچنین استفاده از مدل موش صحرایی تعمیم‌پذیری نتایج به انسان را با چالش مواجه می‌کند؛ زیرا پاسخ lncRNA ممکن است بین گونه‌ها متفاوت باشد (۳). علاوه بر این، مدت‌زمان هشت‌هفته‌ای مداخله و حجم نمونه محدود ممکن است توانایی شناسایی تغییرات ظریف‌تر در بیان TUG1 را کاهش داده باشد.

با وجود این محدودیت‌ها، نتایج مطالعه حاضر بستری برای پژوهش‌های آینده فراهم می‌آورد. بررسی رابطه دوز-پاسخ جینکوبیلوبا و شدت‌های مختلف تمرین تناوبی هوازی می‌تواند به بهینه‌سازی تنظیم lncRNA کمک کند. همچنین انجام مطالعات بلندمدت روی بیماران انسانی برای ارزیابی تأثیر این مداخلات بر بیان lncRNA و پیامدهای شناختی و نیز بررسی lncRNAهای دیگر مانند BACE1-AS و NEAT1 به‌عنوان اهداف درمانی جدید، پیشنهاد می‌شود. درمجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که ترکیب تمرین تناوبی هوازی و جینکوبیلوبا به صورت انتخابی بیان ژن MEG3 را افزایش می‌دهد، اما بر بیان TUG1 تأثیر معناداری ندارد. افزایش معنادار MEG3 در گروه ترکیبی AD+GB+AIT، پتانسیل درمانی این lncRNA را به‌عنوان هدف نوروپروتکتیو در آلزایمر تأیید می‌کند. این نتایج بر اهمیت ترکیب مداخلات ورزشی و ترکیبات زیست‌فعال برای تنظیم lncRNAها در کاهش زوال شناختی ناشی از آلزایمر تأکید دارد و راهبردی نوین برای توسعه درمان‌های مبتنی بر اپی‌ژنتیک ارائه می‌دهد.

پیام مقاله

این پژوهش نشان می‌دهد که کاربرد هم‌زمان تمرین تناوبی هوازی و مکمل جینکوبیلوبا از طریق افزایش چشمگیر بیان MEG3 هیپوکامپ و تغییر نیافتن در TUG1، اثرات نوروپروتکتیو انتخابی ایجاد می‌کند. یافته‌ها حاکی از آن است که مداخلات غیردارویی ترکیبی می‌توانند به طور مؤثر مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی را تعدیل کرده و با آپوپتوز نورونی و استرس اکسیداتیو مرتبط با بیماری آلزایمر مقابله کنند؛ از این‌رو هدف‌گیری MEG3 lncRNA از طریق اصلاح سبک زندگی یکپارچه، رویکردی کارآمد و مقرون‌به‌صرفه برای مدیریت پاتولوژی بیماری آلزایمر محسوب می‌شود که اهمیت نقش فعالیت بدنی و فیتوکمیکال‌ها را در ارتقای تاب‌آوری شناختی و محافظت عصبی برجسته می‌کند.

ملاحظات اخلاقی

تمامی روش‌های آزمایشی به‌کاررفته در این پژوهش با کسب کد اخلاقی [IR.SSRC.REC.1403.001](https://doi.org/10.1039/d4md00660g) از کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی تهران تأیید شده است. این مطالعه براساس راهنمای مؤسسات ملی سلامت آمریکا برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (انتشار شماره ۸۵-۲۳، نسخه بازبینی شده ۲۰۱۱) انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

طراحی مطالعه: سپیده بصیرت دهکردی، مهدی مقرنسی، مجید وحیدیان رضازاده و محسن سراوانی
گردآوری داده‌ها: سپیده بصیرت دهکردی
تحلیل داده‌ها: سپیده بصیرت دهکردی
حمایت مالی: سپیده بصیرت دهکردی
اجرای پژوهش: سپیده بصیرت دهکردی
روش‌شناسی: مجید وحیدیان رضازاده
مدیریت پروژه: مهدی مقرنسی
تهیه منابع: سپیده بصیرت دهکردی
پردازش داده‌ها: محسن سراوانی
سرپرستی علمی: مجید وحیدیان رضازاده
اعتبارسنجی نتایج: محسن سراوانی
تهیه تصاویر و نمودارها: محسن سراوانی
نگارش نسخه اولیه: سپیده بصیرت دهکردی
بازبینی و ویرایش نهایی: سپیده بصیرت دهکردی و محسن سراوانی

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با حمایت دانشگاه علوم پزشکی زاهدان و مرکز تحقیقات بیمارستان امام علی (ع) زاهدان انجام شد. نویسندگان صمیمانه از این حمایت قدردانی می‌کنند.

منابع

1. Li S, Yang J. Pathogenesis of Alzheimer's disease and therapeutic strategies involving traditional Chinese medicine. RSC Med Chem. 2024;15(12):3950-69. <https://doi.org/10.1039/d4md00660g>
2. Tolar M, Hey JA, Power A, Abushakra S. The single toxin origin of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders enables targeted approach to treatment and prevention. Int J Mol Sci. 2024;25(5):2727. <https://doi.org/10.3390/ijms25052727>
3. Olufunmilayo EO, Holsinger RMD. Long non-coding RNAs in Alzheimer's disease. Noncoding RNA. 2023;9(1):12. <https://doi.org/10.3390/ijms241512498>.

4. Black CM, Braden AA, Nasim S, Tripathi M, Xiao J, Khan MM. The association between long non-coding RNAs and Alzheimer's disease. *Brain Sci.* 2024;14(8):818. <https://doi.org/10.3390/brainsci14080818>
5. Cao C, Zhang Y, Zhang Z, Chen Q. Small interfering lncRNA-TUG1 (siTUG1) decreases ketamine-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons. *Int J Neurosci.* 2019;129(10):937-944. <https://doi.org/10.1080/00207454.2019.1594805>
6. Yi J, Chen B, Yao X, Lei Y, Ou F, Huang F. Upregulation of the lncRNA MEG3 improves cognitive impairment, alleviates neuronal damage, and inhibits activation of astrocytes in hippocampus tissues in Alzheimer's disease through inactivating the PI3K/Akt signaling pathway. *J Cell Biochem.* 2019;120(10):18053-65. <https://doi.org/10.1002/jcb.29108>
7. Li X, Wang SW, Li XL, Yu FY, Cong HM. Knockdown of long non-coding RNA TUG1 depresses apoptosis of hippocampal neurons in Alzheimer's disease by elevating microRNA-15a and repressing ROCK1 expression. *Inflamm Res.* 2020;69(9):897-910. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01364-8>
8. Wang J, Niu Y, Tao H, Xue M, Wan C. Knockdown of lncRNA TUG1 inhibits hippocampal neuronal apoptosis and participates in aerobic exercise-alleviated vascular cognitive impairment. *Biol Res.* 2020;53(1):53. <https://doi.org/10.1186/s40659-020-00320-4>
9. Trewin AJ, Silver J, Dillon HT, Della Gatta PA, Parker L, Hiam DS, et al. Long non-coding RNA Tug1 modulates mitochondrial and myogenic responses to exercise in skeletal muscle. *BMC Biol.* 2022;20(1):164. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01366-4>
10. Balusu S, Horré K, Thrupp N, Craessaerts K, Snellinx A, Serneels L, et al. MEG3 activates necroptosis in human neuron xenografts modeling Alzheimer's disease. *Science.* 2023;381(6663):1176-82. <https://doi.org/10.1126/science.abp9556>
11. Abedpoor N, Taghian F, Hajibabae F. Cross brain-gut analysis highlighted hub genes and lncRNA networks differentially modified during leucine consumption and endurance exercise in mice with depression-like behaviors. *Mol Neurobiol.* 2022;59(7):4106-23. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-02835-1>
12. Cummings JL, Tong G, Ballard C. Treatment combinations for Alzheimer's disease: current and future pharmacotherapy options. *J Alzheimer's Dis.* 2019;67:779-94. <https://doi.org/10.3233/JAD-180766>
13. Sikkes SA, Tang Y, Jutten RJ, Wesselman LM, Turkstra LS, Brodaty H, et al. Toward a theory-based specification of non-pharmacological treatments in aging and dementia: focused reviews and methodological recommendations. *Alzheimer's Dement.* 2020;17:255-70. <https://doi.org/10.1002/alz.12188>
14. Zhang S, Zhen K, Su Q, Chen Y, Lv Y, Yu L. The effect of aerobic exercise on cognitive function in people with Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(23):15700. <https://doi.org/10.3390/ijerph192315700>
15. 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. *CNS Drugs.* 2019;33(8):735-48. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00767-8>
16. Jadhav R, Kulkarni YA. The combination of baicalein and memantine reduces oxidative stress and protects against β -amyloid-induced Alzheimer's disease in rat model. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(3):707. <https://doi.org/10.3390/antiox12030707>
17. Naghibi S, Joneydi MS, Barzegari A, Davoodabadi A, Ebrahimi A, Eghdami E, et al. Treadmill exercise sex-dependently alters susceptibility to depression-like behavior, cytokines, and BDNF in the hippocampus and prefrontal cortex of rats with sporadic Alzheimer-like disease. *Physiology & Behavior.* 2021;241:113595. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113595>
18. Naderi S, Habibi A, Kesmati M, Rezaie A, Ghanbarzadeh M. The effects of six weeks high intensity interval training on amyloid Beta1-42 Peptide in hippocampus of rat model of Alzheimer's disease

- induced with STZ. *Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences*. 2018;7(2). <https://doi.org/10.5812/jcrps.86866>
19. Asad M, Torabi Z, Barzegari A, Amouzad Mahdirejei H. Comparison of four exercise training protocol for eight weeks on expression of some antioxidant enzymes in heart tissue of rats. *J Sport Biosci*. 2021;12(4):473-92. <https://sid.ir/paper/412280/fa>
 20. Shamsipour S, Sharifi G, Taghian F. Impact of interval training with probiotic (*L. plantarum* / *Bifidobacterium bifidum*) on passive avoidance test, ChAT and BDNF in the hippocampus of rats with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2021;756:135949. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135949>
 21. Sadeghinejad M, Soltani Z, Afzalpour ME, Khaksari M, Pourranjbar M. What is the combined effect of intense intermittent exercise and Ginkgo biloba plant on the brain neurotrophic factors levels, and learning and memory in young rats? *Pharmacol Rep*. 2019;71(3):503-8. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.02.006>
 22. Kennedy G, Hardman RJ, Macpherson H, Scholey AB, Pipingas A. How does exercise reduce the rate of age-associated cognitive decline? A review of potential mechanisms. *J Alzheimers Dis*. 2017;55(1):1-18. <https://doi.org/10.3233/JAD-160665>
 23. Farhadieh ME, Ghaedi K. Analyzing alternative splicing in Alzheimer's disease postmortem brain: a cell-level perspective. *Front Mol Neurosci*. 2023;16:1237874. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1237874>.
 24. Zou X, Liu S, Zou H, Zhou W, Fu H, Wei J, et al. Inflammatory mechanisms of Ginkgo Biloba extract in improving memory functions through lncRNA-COX2/NF-κB pathway in mice with status epilepticus. *CNS Neurosci Ther*. 2023;29(1):471-82. <https://doi.org/10.1111/cns.14019>
 25. Villegas C, Perez R, Lintzmaier Petiz L, Glaser T, Ulrich H, Paz C. Ginkgolides and huperzine a for complementary treatment of Alzheimer's disease. *IUBMB Life*. 2022;74(8):763-79. <https://doi.org/10.1002/iub.2613>
 26. Pillai JA, Bena J, Bekris L, Kodur N, Kasumov T, Leverenz JB, et al. Metabolic syndrome biomarkers relate to rate of cognitive decline in MCI and dementia stages of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2023;15(1):1-14. <https://doi.org/10.1186/s13195-023-01214-6>
 27. Basirat-Dehkordi S, Mogharnasi M, Vahidian-Rezazadeh M, Saravani M. Effects of aerobic interval training along with ginkgo biloba supplementation on passive avoidance memory and GDNF gene expression in Alzheimer rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*. 2024;19(2):e144050. <https://doi.org/10.5812/jjnpp-144050>