COMPLEMENTARY MEDICINE JOURNAL
Volume 16, Issue 3, Autumn 2026
https://cmja.arakmu.ac.ir/

Original Article

The Simultaneous Effect of Endurance Training and Shilajit Supplementation on Oxidative Stress and Passive Avoidance Memory after Cerebral Ischemia in Male Rats

Ahmad Noah Karim[1], Nabi Shamsaei[2*], Aref Nooraei[3], Soheila Erfani[4]

1. MSc, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran
2. Associate Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran
3. Assistant Professor, Department of Histology, Faculty of Veterinary Sciences, Ilam University, Ilam, Iran
4. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran

*** Corresponding author:** Nabi Shamsaei, Associate Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Ilam University, Ilam, Iran. E-mail: n.shamsaei@ilam.ac.ir

DOI: 10.22034/cmja.16.3.230

How to Cite this Article:
Noah Karim A, Shamsaei N, Nooraei A, Erfani S. The Simultaneous Effect of Endurance Training and Shilajit Supplementation on Oxidative Stress and Passive Avoidance Memory after Cerebral Ischemia in Male Rats. *Complement Med J.* 2026;16(3): 230-241. DOI: 10.22034/cmja.16.3.230

Received: June 08, 2026
Accepted: September 06, 2026

Keywords:

Endurance training
Lipid peroxidation
Passive avoidance memory
Shilajit
Total antioxidant capacity

© 2026 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Cerebral ischemia-reperfusion injury is a major cause of neuronal damage and cognitive impairment and is closely associated with increased oxidative stress. The present study aimed to investigate the effects of eight weeks of endurance training combined with Shilajit supplementation on oxidative stress markers and passive avoidance memory following cerebral ischemia-reperfusion injury in male rats.

Materials and Methods: Thirty-five male Wistar rats (200–250 g) were randomly assigned to five groups: Control, Ischemia, Ischemia + Endurance Training, Ischemia + Shilajit, and Ischemia + Endurance Training + Shilajit. The endurance training protocol and Shilajit supplementation (150 mg/kg) were administered for eight weeks. Following the induction of cerebral ischemia-reperfusion, oxidative stress markers, including malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC), were measured. Passive avoidance memory was assessed using the shuttle box test. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test.

Results: Cerebral ischemia caused a significant increase in MDA (6.585±1.18) and a significant decrease in TAC (0.376±0.081) compared to the control group (1.081±0.406, 1.712±0.229; $p<0.0001$). Endurance training (4.99±1.032, $p<0.05$) and the combination of endurance training and shilajit supplementation (2.447±0.222, $p<0.001$) caused a significant decrease in MDA compared to the ischemic group. In addition, the combination of endurance training and shilajit supplementation caused a significant increase in TAC compared to the ischemic group (0.887±0.185; $p<0.05$). In the assessment of passive avoidance memory, the initial latency time to enter the dark chamber was significantly reduced in the ischemic group (27.5±23.231) compared to the control group (136.33±44.99; $p<0.05$), while this time increased in the endurance training group (159±42) and the combination of endurance training and shilajit supplementation group (140.8±53.844; $p<0.05$). Furthermore, the time spent in the dark chamber was significantly increased in the ischemic group (110.5±55.507) compared to the control group (8.5±14.053; $p<0.05$). This time decreased significantly in the endurance training group (0.5±1), the shilajit supplement group (17.67±31.207), and the combination of endurance training and shilajit supplement group (25±50.498; $p<0.05$).

Conclusion: The findings obtained revealed that the combination of endurance training and shilajit supplement consumption can significantly improve ischemia-induced memory impairment by reducing oxidative stress and improving antioxidant capacity.

Copyright © 2026 The Author(s); Published by Complementary Medicine Journal. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

INTRODUCTION

Cerebral ischemia is among the leading causes of mortality and long-term neurological disability worldwide. The interruption of cerebral blood flow followed by reperfusion initiates a complex cascade of pathological events characterized by excessive production of reactive oxygen species (ROS), mitochondrial dysfunction, neuroinflammation, and apoptotic neuronal death. Among the brain regions affected by ischemic injury, the hippocampus, particularly the CA1 subfield, exhibits remarkable vulnerability because of its high metabolic demand and sensitivity to oxidative stress. Consequently, ischemic damage to the hippocampus frequently results in learning and memory deficits, substantially reducing the quality of life of affected individuals. Increasing evidence suggests that non-pharmacological interventions, especially regular physical exercise, can induce neuroprotective adaptations before cerebral insults occur. Endurance training enhances endogenous antioxidant defenses, improves mitochondrial efficiency, promotes cerebral angiogenesis, and increases the expression of neurotrophic factors, such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), thereby improving neuronal survival and cognitive performance. In addition to exercise, natural compounds possessing antioxidant and anti-inflammatory properties have attracted considerable attention as potential therapeutic agents for ischemic brain injury. Shilajit is a mineral-rich natural phytocomplex containing fulvic acid, humic substances, dibenzo-α-pyrones, amino acids, and trace minerals. Previous experimental studies have demonstrated its antioxidant, anti-inflammatory, mitochondrial protective, and neuroprotective properties. Nevertheless, limited evidence exists regarding the combined effects of endurance exercise and Shilajit supplementation on oxidative stress and cognitive function following cerebral ischemia. Therefore, the present study aimed to investigate whether eight weeks of endurance training combined with Shilajit supplementation could attenuate oxidative stress and improve passive avoidance memory in a rat model of cerebral ischemia–reperfusion injury.

Materials and Methods

Thirty-five adult male Wistar rats (200–250 g) were randomly assigned to five experimental groups (n=7): Control, Ischemia, Ischemia + Endurance Training, Ischemia + Shilajit, and Ischemia + Endurance Training + Shilajit. Animals were maintained under standard laboratory conditions (22±2 °C, 12-h light/dark cycle) with free access to food and water throughout the experiment. The endurance training intervention consisted of an 8-week progressive treadmill-running program, performed 5 days per week. Training intensity and duration were gradually increased during the adaptation period until the animals completed 60 min of running per session at a moderate intensity (approximately 25 $m \cdot min^{-1}$, 0° inclination), a protocol designed to induce physiological adaptations without causing excessive fatigue. Rats in the supplementation groups received Shilajit orally at a dose of 150 $mg \cdot kg^{-1} \cdot day^{-1}$ throughout the eight-week intervention period. The supplement was freshly prepared before administration to ensure stability and consistency of dosing. After the last training session, transient global cerebral ischemia was induced under general anesthesia using the bilateral common carotid artery occlusion (BCCAO) model. Both common carotid arteries were carefully isolated and occluded with atraumatic vascular clips for 20 min, followed by clip removal to allow reperfusion. This experimental model closely reproduces the oxidative and neuronal damage associated with cerebral ischemia–reperfusion injury. Behavioral function was assessed using the passive avoidance shuttle-box test. Step-through latency (STL) and the total time spent in the dark compartment (TDC) were recorded as indicators of learning acquisition and memory retention. Oxidative stress was evaluated by measuring serum malondialdehyde (MDA) concentrations as an index of lipid peroxidation and total antioxidant capacity (TAC) as an indicator of systemic antioxidant defense. Statistical analyses were performed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test. A P-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Induction of cerebral ischemia produced marked oxidative stress and significant impairment of passive avoidance memory compared with healthy controls. Rats subjected to ischemia exhibited a substantial elevation in serum MDA concentrations accompanied by a pronounced reduction in TAC, confirming severe oxidative damage induced by ischemia-reperfusion. Endurance training significantly attenuated lipid peroxidation by reducing MDA levels compared with untreated ischemic animals. Although Shilajit supplementation alone also improved oxidative status, the greatest reduction in MDA was observed when endurance training and Shilajit supplementation were administered simultaneously. Similarly, TAC values increased significantly in the combined intervention group, indicating enhanced antioxidant defense capacity. Behavioral assessment demonstrated considerable cognitive impairment after cerebral ischemia.

The ischemic group showed significantly shorter latency to enter the dark compartment together with prolonged time spent inside the dark chamber, reflecting impaired memory retention. Endurance training markedly improved passive avoidance performance, whereas Shilajit supplementation also produced measurable cognitive benefits. The combination therapy produced the most pronounced improvements, restoring behavioral performance to levels comparable to those observed in healthy control animals. Collectively, these findings demonstrate that simultaneous endurance training and Shilajit supplementation reduced oxidative damage while preserving cognitive function following cerebral ischemia-reperfusion injury.

Conclusion

The present findings indicate that endurance exercise and Shilajit supplementation exert complementary neuroprotective actions against ischemia-induced oxidative stress and cognitive dysfunction. Excessive ROS production following cerebral ischemia disrupts cellular membranes through lipid peroxidation, damages mitochondrial integrity, and initiates apoptotic signaling pathways. Elevated MDA concentrations observed in the ischemic animals are consistent with these pathological mechanisms. Regular endurance exercise enhances endogenous antioxidant enzyme systems, improves cerebral circulation, stimulates mitochondrial biogenesis, and increases resistance to oxidative injury. These physiological adaptations likely contributed to the observed reduction in lipid peroxidation and improvement in antioxidant capacity. Shilajit supplementation appears to reinforce these protective effects through its potent antioxidant constituents, particularly fulvic acid and other bioactive compounds capable of scavenging free radicals, preserving mitochondrial function, and suppressing inflammatory responses. The synergistic interaction between endurance exercise and Shilajit may explain the superior biochemical and behavioral outcomes observed in the combined treatment group.

Improved passive avoidance memory further supports the hypothesis that attenuation of oxidative stress contributes directly to preservation of hippocampal neuronal integrity. Since hippocampal neurons are highly susceptible to ischemic injury, reducing oxidative damage likely facilitates maintenance of synaptic plasticity and memory consolidation. Although the present findings are promising, several limitations should be acknowledged. Histopathological evaluation of hippocampal neurons and direct measurements of cerebral blood flow were not performed. Future investigations should incorporate molecular biomarkers, neurotrophic factors, inflammatory cytokines, and histological analyses to clarify the precise mechanisms underlying the synergistic neuroprotective effects observed.

Ethical Considerations

The present study was conducted following approval by the Research Ethics Committee of the University of Ilam (Approval No. IR.ILAM.REC.1404.010). All experimental procedures involving animals were performed in strict accordance with the ethical principles and institutional guidelines for the care and use of laboratory animals. Every effort was made to minimize animal suffering, reduce stress during handling and experimental procedures, and use the minimum number of animals necessary to achieve scientifically valid results. Animal housing, husbandry, anesthesia, and all experimental interventions were carried out under standardized laboratory conditions in compliance with internationally accepted ethical standards for animal research.

Funding

The current research received no financial support.

Authors' Contributions

Ahmad Noah Karim: Conceptualization, study design, and project administration.
Nabi Shamsaei: Conceptualization, study design, manuscript writing, and manuscript revision.
Aref Nooraei: Experimental procedures, data collection, manuscript writing, and manuscript revision.
Soheila Erfani: Experimental procedures, statistical analysis, and data interpretation.

Conflict of Interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere gratitude to the University of Ilam for its support of this research. They also gratefully acknowledge all individuals whose valuable assistance, technical support, and cooperation contributed to the successful completion of this study.

مجله طب مکمل

دوره ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵

https://cmja.arakmu.ac.ir/

مقاله پژوهشی

تأثیر هم‌زمان تمرین استقامتی و مصرف مکمل شیلاجیت بر استرس اکسیداتیو و حافظهٔ احترازی غیرفعال در موش‌های صحرایی نر پس از ایسکمی مغزی

احمد نوح کریم[۱]، نبی شمسایی[۲*]، عارف نورایی[۳]، سهیلا عرفانی[۴]

۱. کارشناس ارشد، گروه علوم ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳. استادیار، گروه بافت‌شناسی، دانشکده پیرادامپزشکی ، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۴. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم ، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

* **نویسنده مسئول:** نبی شمسایی، گروه علوم ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. ایمیل: n.shamsaei@ilam.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۵

واژگان کلیدی:

تمرین استقامتی

شیلاجیت

پراکسیداسیون لیپیدی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

حافظهٔ احترازی غیرفعال

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.

چکیده

مقدمه: ایسکمی–ریپرفیوژن مغزی یکی از عوامل مهم آسیب‌های نورونی و اختلالات شناختی محسوب می‌شود که با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است. هدف از مطالعهٔ حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مکمل شیلاجیت در شاخص‌های استرس اکسیداتیو و حافظهٔ احترازی غیرفعال متعاقب ایسکمی–ریپرفیوژن مغزی در موش‌های صحرایی نر بود.

روش کار: در این مطالعه، ۳۵ سر موش صحرایی نر ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرمی تهیه و به پنج گروه کنترل، ایسکمی، ایسکمی+ورزش، ایسکمی+شیلاجیت و ایسکمی+ورزش+شیلاجیت تقسیم شدند. برنامهٔ تمرین استقامتی و مصرف مکمل شیلاجیت (۱۵۰ mg/kg) به‌مدت هشت هفته اجرا شد. پس از القای ایسکمی مغزی، شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) اندازه‌گیری شد. همچنین، عملکرد حافظهٔ احترازی غیرفعال با آزمون شاتل‌باکس ارزیابی شد. برای تجزیه‌وتحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p\leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته‌ها: ایسکمی مغزی موجب افزایش معنی‌دار سطح MDA (۱/۱۸±۶/۵۸۵) و کاهش معنی‌دار TAC (۰/۰۸۱±۰/۳۷۶) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۴۰۶±۱/۰۸۱، ۰/۲۲۹±۱/۷۱۲) شد ($p<۰/۰۰۰۱$). تمرین استقامتی (۱/۰۳۲±۴/۹۹، $p<۰/۰۵$) و ترکیب تمرین استقامتی و مکمل شیلاجیت (۰/۲۲۲±۲/۴۴۷، $p<۰/۰۰۱$) در مقایسه با گروه ایسکمی، سبب کاهش معنی‌دار MDA شد. همچنین، ترکیب تمرین استقامتی و مکمل شیلاجیت، در مقایسه با گروه ایسکمی، موجب افزایش معنی‌دار TACشد (۰/۱۸۵±۰/۸۸۷، $p<۰/۰۵$). در ارزیابی حافظهٔ احترازی غیرفعال، مدت‌زمان تأخیر اولیه در ورود اولیه به محفظهٔ تاریک در گروه ایسکمی (۲۳/۲۳۱±۲۷/۵) در مقایسه با گروه کنترل (۴۴/۹۹±۱۳۶/۳۳) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$)، درحالی‌که این زمان در گروه تمرین استقامتی (۴۲±۱۵۹) و گروه ترکیب تمرین استقامتی و مکمل شیلاجیت (۵۳/۸۴۴±۱۴۰/۸) افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). همچنین، زمان سپری‌شده در محفظهٔ تاریک در گروه ایسکمی (۵۵/۵۰۷±۱۱۰/۵) در مقایسه با گروه کنترل (۱۴/۰۵۳±۸/۵) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). این زمان در گروه تمرین استقامتی (۰/۵±۱)، گروه مکمل شیلاجیت (۳۱/۵۰۷±۱۷/۶۷) و گروه ترکیب تمرین استقامتی و مکمل شیلاجیت (۵۰/۴۹۸±۲۵) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که ترکیب تمرین استقامتی و مصرف مکمل شیلاجیت می‌تواند با کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، به‌طور معنی‌داری اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه را بهبود بخشد.

Copyright © 2026 The Author(s); Published by Complementary Medicine Journal. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

مقدمه

سکتهٔ مغزی نوعی اختلال عصبی حاد است که به‌دلیل قطع یا کاهش شدید خون‌رسانی به مغز ایجاد می‌شود و پیامد آن ایسکمی و آسیب به بافت مغز است (۱). ایسکمی مغزی با اختلالات الکتروفیزیولوژیکی و متابولیکی گسترده‌ای در سلول‌های عصبی همراه است (۲) و موجب مرگ سلولی تأخیری در نواحی آسیب‌پذیر مغز می‌شود (۳). شدت و میزان آسیب اولیه به هنگام ایسکمی مغزی، عامل اصلی و تعیین‌کنندهٔ نتایج پس از آسیب است. به‌علاوه، آسیب ثانویه پس از مراحل حاد آسیب، ازجمله در مرحلهٔ ریپرفیوژن (خون‌رسانی مجدد)، به‌طور معمول موجب تشدید آسیب اولیه می‌شود. ترکیب این دو، عامل نهایی تعیین‌کننده در شدت آسیب و نتایج پس از بروز آسیب مغزی ایسکمیک است (۴).

شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیماری‌های نورودژنراتیو و نورولوژیک، نظیر آلزایمر، پارکینسون، تروما و سکتهٔ مغزی، نقش محوری دارد (۵، ۶). مطالعات نشان داده‌اند که تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و متعاقب آن، پراکسیداسیون و تخریب لیپیدهای موجود در غشاهای سلولی، از وقایع کلیدی آسیب‌رسان در طول ایسکمی- ریپرفیوژن محسوب می‌شود (۷). به‌دنبال ایسکمی، غلظت اکسیژن و مواد متابولیکی به سرعت در نواحی ایسکمیک مغز کاهش یافته و در عرض چند دقیقه، به سطوح غیرقابل تشخیصی می‌رسند (۸). کاهش اکسیژن بافتی در ناحیهٔ ایسکمیک مغز، سبب اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها و تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود (۹).

مطالعات همچنین نشان می‌دهند که افراد دچار ایسکمی مغزی به‌دلیل آسیب به هیپوکامپ، دچار اختلال حافظه و یادگیری می‌شوند. هیپوکامپ یک منطقهٔ حیاتی در قشر مغز شناخته می‌شود که در فرایندهای یادگیری و حافظه نقش اساسی ایفا می‌کند و در شکل‌گیری حافظهٔ جدید و پردازش اطلاعات مکانی سهم بسزایی دارد (۱۰). هرگونه صدمه به نورون‌های این ناحیه می‌تواند به نارسایی‌های شناختی و اختلال در عملکرد حافظه و یادگیری منجر شود (۲). خون‌رسانی به هیپوکامپ عمدتاً از طریق شریان کوروئید قدامی، که شاخه‌ای از شریان کاروتید داخلی است، انجام می‌پذیرد. به‌دلیل ساختار طویل و ظریف این شریان، احتمال تشکیل لخته (ترومبوز) در آن زیاد است و افزون‌بر این، هیپوکامپ آسیب‌پذیری بسیار زیادی در برابر کم‌خونی (ایسکمی) دارد. این ناحیه از نخستین بخش‌های مغز است که در بیماری‌هایی همچون آلزایمر، هانتینگتون، صرع، سکتهٔ مغزی، ایسکمی و به‌ویژه آسیب‌های ناشی از ضربه (تروما) دچار تخریب می‌شود (۱۱). مطالعات نشان داده‌اند که ایسکمی گذرای مغزی ناشی از کاهش موقت جریان خون به مغز، به تخریب سلول‌های عصبی هیپوکامپ منجر خواهد شد (۱۲). میزان آسیب هیپوکامپ ناشی از ایسکمی مغزی به شدت، محل و مدت زمان ایسکمی بستگی دارد. برای مثال، تنها پنج دقیقه ایسکمی مغزی می‌تواند پس از چهار روز ایسکمی به مرگ سلول‌های هرمی در ناحیه CA1 هیپوکامپ منجر شود، درحالی‌که پانزده دقیقه ایسکمی، به مرگ سلول‌های عصبی هرمی در CA1-3 و DG به‌ترتیب پس از دو و پنج روز منجر می‌شود (۱۳).

باوجود پیشرفت‌های چشمگیر در علم پزشکی، هنوز درمان قطعی و اختصاصی برای بیماران مبتلا به سکتهٔ مغزی یافت نشده است. هرچند درمان‌هایی مانند ترومبولیتیک وجود دارد، این روش برای همه بیماران قابل‌استفاده نیست؛ زیرا اولاً اثربخشی این داروها تنها تا سه ساعت پس از وقوع ایسکمی است، درحالی‌که بیماران غالباً ساعات زیادی پس از سکته در بیمارستان بستری می‌شوند. ثانیاً این روش با عوارض قابل‌توجهی ازجمله خون‌ریزی داخل مغزی همراه است که استفاده از آن را محدود می‌کند. براساس بررسی‌ها، این روش تنها برای حدود ۳ درصد از بیماران مبتلابه سکتهٔ مغزی مؤثر واقع می‌شود. بنابراین، بهره‌گیری از مدل‌های حیوانی می‌تواند در بررسی مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک آسیب‌های ناشی از ایسکمی مغزی و احتمالاً یافتن راهکارهای درمانی مؤثر در آینده، نقش مهمی ایفا نماید. هرچند اجرای اقدامات پیشگیرانه درخصوص عوامل مؤثر در بروز ایسکمی‌های مغزی موجب شده است که در کشورهای پیشرفته طی دههٔ گذشته، نرخ ابتلا به این بیماری تا حدی ثابت و کنترل‌شده باقی بماند (۱۴).

با توجه به محدودیت‌های برخی درمان‌های رایج، توجه پژوهشگران در سال‌های اخیر به استفاده از رویکردهای ترکیبی، شامل مداخلات غیردارویی و ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی در کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن معطوف شده است. یکی از روش‌های امروزی استفاده از مکمل‌ها و ورزش در افراد پس از سکتهٔ مغزی است. از دیرباز مشخص شده است که فعالیت بدنی و ورزش با تعدیل عوامل خطرساز، نقش بسزایی در پیشگیری از سکتهٔ مغزی ایسکمیک ایفا می‌کند. با توجه به فواید متعدد فعالیت‌های ورزشی، گزارش‌های متعددی وجود دارد که حاکی از تأثیر مثبت ورزش در کاهش احتمال بروز سکتهٔ مغزی ایسکمیک و نیز بهبود پیامدهای بالینی پس از وقوع آن است. مطالعات بیانگر آن است که فعالیت بدنی می‌تواند با تعدیل عوامل خطرزا و تقویت عوامل محافظتی، مغز را در برابر آسیب‌های ایسکمیک حفظ کند (۱۵). براساس گزارش‌ها، ورزش منظم با شدت متوسط قادر است استرس اکسیداتیو را کاهش و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را افزایش دهد (۱۶). ورزش علاوه‌بر مکانیسم‌های دیگر، می‌تواند با افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و نیز از طریق تنظیم روبه‌افزایش فاکتور فعال‌کنندهٔ کمکی گیرندهٔ گامای فعال‌شده با تکثیرکنندهٔ پراکسی‌زوم-۱ آلفا (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha; PGC1α)، به بهبود عملکرد سلول‌های عصبی کمک کند (۱۷). یافته‌های علمی نشان می‌دهند که تمرین ورزشی به‌صورت انتخابی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در نواحی مختلف مغز تنظیم می‌کند. پاسخ این آنزیم‌ها به ورزش احتمالاً به عواملی مانند نوع، شدت و مدت فعالیت بدنی، سن، جنس و نژاد حیوانات مورد آزمایش بستگی دارد (۱۸).

در سال‌های اخیر، استفاده از مکمل‌های غذایی برای اهداف مختلف رواج بسیاری پیدا کرده است. شیلاجیت (مومنایی) محصولی طبیعی است که خواص درمانی متعددی دارد. این ترکیب طبیعی آثار ضداسترس، تقویت‌کنندهٔ حافظه و انرژی، ضدالتهاب، ضددیابت، بهبوددهندهٔ تولید اسپرم، محافظت‌کنندهٔ عصبی و ترمیم‌کنندهٔ زخم دارد. دلیل اصلی این ویژگی‌های دارویی، حضور ترکیبات مؤثری مانند اسید هیومیک، اسید فولویک، دی‌بنزوپیرون‌ها، کروموپروتئین‌ها و عناصر کمیاب در آن است. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهند که شیلاجیت فعالیت‌های زیستی متنوعی، ازجمله تنظیم سیستم ایمنی، خاصیت ضدالتهابی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی را بروز می‌دهد (۱۹). همچنین، این ماده در محافظت از معده، مهار سرطان، بهبود فرایندهای اسپرماتوژنز و اووژنز و نیز کاهش چربی خون مؤثر است. ایمنی و آثار درمانی شیلاجیت در مدل‌های حیوانی بررسی و تأیید شده است (۲۰). آثار آنتی‌اکسیدانی شیلاجیت عمدتاً ناشی از حضور ترکیباتی مانند دی‌بنزوپیرون‌ها و اسید فولویک است. اسید فولویک نه‌تنها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند، بلکه جذب مواد معدنی به درون سلول‌های هدف را بهبود می‌بخشد، پتانسیل

الکتریکی غشای سلولی را تثبیت و از آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی) جلوگیری می‌کند. گزارش شده است که این ترکیبات از طریق بهبود عملکرد میتوکندریایی، کاهش استرس اکسیداتیو و تأثیر در فرایندهای مرتبط با عملکرد شناختی و پلاستیسیته عصبی، می‌توانند در بهبود یادگیری و حافظه نقش داشته باشند. علاوه‌بر این، توانایی اسید فولویک در مهار تجمع پروتئین تاو به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های احتمالی آثار شناختی شیلاجیت مطرح شده است (۲۱).

با توجه به اینکه فعالیت ورزشی منظم و مکمل شیلاجیت هر دو خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارند و می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مختلف در کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی مغزی مؤثر باشند، تاکنون آثار هم‌زمان این دو مداخله در شاخص‌های استرس اکسیداتیو و عملکرد حافظه پس از ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی بررسی نشده است. ازاین‌رو، نوآوری پژوهش حاضر در ارزیابی آثار ترکیبی و احتمالی هم‌افزای تمرین استقامتی و مکمل‌یاری شیلاجیت در بهبود وضعیت اکسیداتیو و عملکرد حافظهٔ احترازی غیرفعال در مدل حیوانی ایسکمی مغزی نهفته است. بنابراین، هدف از مطالعهٔ حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی همراه با مکمل‌یاری شیلاجیت در شاخص‌های استرس اکسیداتیو و عملکرد حافظهٔ احترازی غیرفعال متعاقب ایسکمی–ریپرفیوژن مغزی در موش‌های صحرایی نر بود.

روش کار

حیوانات و گروه‌های تجربی

تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم) تهیه شد. حجم نمونه براساس مطالعات پیشین انتخاب شده است (۲۲). حیوانات در قفس‌های استاندارد و محیط کنترل‌شده (دمای ۲۲°c-۲۴، رطوبت ۴۵-۵۰ درصد و چرخهٔ دوازده‌ساعت روشنایی‌تاریکی)، با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. سپس به‌صورت تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی تقسیم شدند:

- **گروه کنترل (شم)**: حیوانات گروه شم، که به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند، تحت عمل جراحی مشابه قرار گرفتند. با این تفاوت که شریان کاروتید مشترک مسدود نمی‌شد؛
- **گروه ایسکمی**: در این گروه، حیوانات تحت ایسکمی ریپرفیوژن مغزی قرار گرفتند، اما هیچ‌گونهٔ برنامهٔ ورزشی نداشتند؛
- **گروه تمرین استقامتی+ایسکمی**: در این گروه، حیوانات قبل از القای ایسکمی، به‌مدت هشت هفته فعالیت استقامتی (دویدن روی تردمیل) داشتند؛
- **گروه شیلاجیت+ایسکمی**: در این گروه، موش‌ها قبل از القای ایسکمی، روزانه به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق گاواژ، شیلاجیت دریافت کردند؛
- **گروه تمرین استقامتی+شیلاجیت+ایسکمی**: در این گروه، حیوانات قبل از القای ایسکمی، به‌مدت هشت هفته فعالیت استقامتی داشتند و مکمل شیلاجیت دریافت کردند.

پروتکل فعالیت ورزشی

موش‌ها درگروه مداخلهٔ ورزشی به‌مدت هشت هفته، پنج روز در هفته روی نوارگردان (نوارگردان ده‌کاناله، ساخت شرکت برج صنعت، ایران) دویدند. ابتدا، قبل از تمرینات اصلی و به‌منظور عادت‌کردن، موش‌ها به‌مدت ده تا پانزده دقیقه با سرعت پنج تا هفت متر در دقیقه با شیب صفر درجه برای دو روز متوالی روی نوارگردان دویدند. دو روز پس از تمرینات سازشی، تمرینات اصلی آغاز شد و موش‌ها به‌مدت هشت هفته به اجرای فعالیت روی نوارگردان پرداختند. تمرین در هفتهٔ اول با سرعت دوازده متر در دقیقه برای پانزده دقیقه با شیب صفر درجه به‌مدت پنج روز در هفته اجرا شد. پس از آن، سرعت، مدت‌زمان و شیب نوارگردان به‌تدریج افزایش یافت، به‌طوری که حیوانات در هفتهٔ آخر با سرعت بیست متر در دقیقه به‌مدت پنجاه دقیقه با شیب ۱۰ درجه روی نوارگردان دویدند (۲۳).

مصرف مکمل شیلاجیت

کپسول‌های ۱۰۰۰ میلی‌گرمی شیلاجیت از شرکت آلمانی (اکسترا فیول) تهیه شد. روزانه به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن موش‌ها از پودر شیلاجیت جدا و در آب حل شد. سپس محلول به‌صورت گاواژ مستقیماً به داخل معدهٔ حیوان رسانده شد.

القای ایسکمی مغزی

به‌منظور القای ایسکمی مغزی، حیوانات با کتامین/ زایلازین (۳۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم زایلازین)، به‌صورت تزریق داخل‌صفاقی بیهوش شدند. سپس هر دو شریان کاروتید مشترک از صفحهٔ کاروتید خود آزاد شد. سپس عصب واگ به‌دقت از شریان کاروتید جدا و هر دو شریان کاروتید مشترک به‌مدت بیست دقیقه با استفاده از میکروکلیپ مسدود شدند. ایجاد ایسکمی به‌وضوح و با کمک دستگاه استریو میکروسکوپ تأیید شد. پس از آن، شریان‌های کاروتید آزاد و بلافاصله جریان خون برقرار شد. حیوانات پس از عمل جراحی با دسترسی آزاد به آب و غذا به قفس خانهٔ خود بازگردانده شدند (۲۴).

اندازه‌گیری حافظهٔ احترازی غیرفعال

حافظهٔ احترازی غیرفعال با استفاده از دستگاه شاتل‌باکس (برج صنعت، ایران) و براساس تمایل طبیعی موش‌ها به محیط تاریک ارزیابی شد. آزمون سه روز بعد از القای ایسکمی و به‌مدت دو روز انجام گرفت. دستگاه شامل دو محفظهٔ روشن و تاریک است که با درِ گیوتینی از یکدیگر جدا می‌شوند. کف محفظهٔ تاریک از میله‌های فلزی متصل به دستگاه الکتروشوک تشکیل شده است. آزمون در سه مرحله اجرا شد. در مرحلهٔ سازگاری، هر موش به‌مدت پنج دقیقه با دستگاه آشنا شد. یک ساعت بعد، مرحلهٔ آموزش انجام شد؛ به‌طوری که حیوان در محفظهٔ روشن قرار گرفت و پس از بازشدن در، زمان ورود آن به محفظهٔ تاریک ثبت شد. پس از ورود به محفظه تاریک، شوک الکتریکی (۰/۵ میلی‌آمپر، ۵۰ هرتز، ۳ ثانیه) اعمال شد و حیوان بیست ثانیه بعد به قفس خود بازگردانده شد. مرحلهٔ یادآوری ۲۴ ساعت بعد انجام گرفت. در این مرحله، زمان تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک به‌عنوان STLT (Step-Through Latency Time) ثبت شد. حداکثر زمان ثبت‌شده برای این شاخص ۱۸۰ ثانیه در نظر گرفته شد. همچنین، مدت‌زمان حضور حیوان در محفظهٔ تاریک نیز اندازه‌گیری و ثبت شد (۲۵).

تهیهٔ نمونه‌های بافتی

بیست‌وچهار ساعت بعد از اندازه‌گیری حافظهٔ احترازی غیرفعال، حیوانات قربانی شدند و بافت هیپوکامپ استخراج شد. نمونه‌های بافتی تا زمان انجام آزمایش در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی

مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde; MDA) یکی از مهم‌ترین شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو محسوب می‌شود که براثر تخریب اکسیداتیو اسیدهای چرب چندغیراشباع (Polyunsaturated Fatty Acids; PUFAs) موجود در غشای سلولی تولید می‌شود. افزایش سطح MDA نشان‌دهندهٔ آسیب اکسیداتیو به سلول‌ها و بافت‌هاست و با بروز و پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها، ازجمله آترواسکلروز، دیابت و بیماری آلزایمر، ارتباط دارد. در این مطالعه، میزان MDAبراساس واکنش آن با تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric Acid; TBA) اندازه‌گیری شد (شرکت کیازیست KMDA-96). در این واکنش، MDA با TBA کمپلکسی رنگی تشکیل می‌دهد که حداکثر جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر را دارد و به‌صورت اسپکتروفتومتری قابل‌اندازه‌گیری است. شدت رنگ ایجادشده متناسب با غلظت MDA موجود در نمونه است و به‌عنوان شاخصی از میزان پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو استفاده می‌شود (۲۶).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (Total antioxidant capacity; TAC) با استفاده از روش قدرت احیای آهن (Ferric reducing antioxidant power; FRAP) اندازه‌گیری شد. این روش براساس توانایی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در نمونه در احیای یون‌های فریک (Fe^{3+}) به یون‌های فروس (Fe^{2+}) و تشکیل کمپلکس آبی‌رنگ فروس TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) است که به‌صورت فتومتریک در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. معرف FRAP به‌صورت تازه و با مخلوط‌کردن بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار (pH=6/3)، محلول ۱۰ میلی‌مولار TPTZ در اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار و محلول ۲۰ میلی‌مولار کلرید آهن هگزاهیدرات ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) به نسبت ۱۰:۱:۱ تهیه شد. همچنین، از محلول‌های استاندارد اسید آسکوربیک با غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومولار برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. آزمایش در میکروپلیت انجام شد؛ به‌طوری که ۱۰ میکرولیتر از نمونه یا استاندارد به ۲۹۰ میکرولیتر از معرف FRAP تازه‌تهیه‌شده افزوده و جذب اولیه در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت پنج دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند و جذب نوری مجدداً در همان طول موج با دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت شد. در نهایت، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی براساس منحنی استاندارد محاسبه و به‌صورت معادل اسید آسکوربیک گزارش شد (۲۷).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام نمونه (FRAP، میکرومولار) با رابطه زیر محاسبه شد:

مقدار FRAP نمونه (µM) = (تغییر جذب نوری نمونه از دقیقهٔ ۰ تا ۵ ÷ تغییر جذب نوری استاندارد از دقیقه ۰ تا ۵)×مقدار FRAP استاندارد ویتامین C (1000 µM)

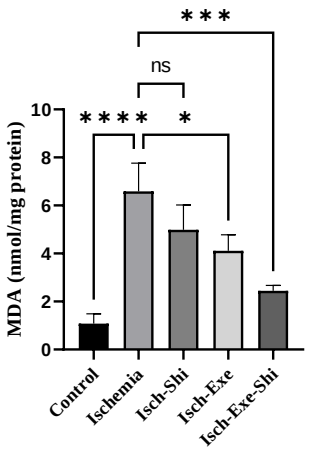
به‌منظور کاهش سوگیری در جمع‌آوری و تحلیل داده‌ها، تمامی ارزیابی‌ها و اندازه‌گیری‌های این مطالعه به‌صورت کور (Blinded) انجام شد. بدین منظور، افراد مسئول انجام آزمون‌های رفتاری، اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی (MDA) و (TAC) و تحلیل داده‌ها، از تخصیص حیوانات به گروه‌های آزمایشی بی‌اطلاع بودند و کدگذاری نمونه‌ها تا پایان فرایند تحلیل حفظ شد.

روش‌های تجزیه‌وتحلیل آماری

نتایج به‌دست‌آمده به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است. به‌منظور بررسی نرمال‌بودن توزیع از آزمون شاپیرویلک استفاده شد. همچنین، برای بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. پس از تعیین توزیع نرمال داده‌ها، برای مقایسهٔ تفاوت بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. هنگامی که تفاوت معناداری وجود داشت، برای تعیین اینکه تفاوت در کدام گروه‌ها رخ داده است، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری $p\leq$۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همهٔ داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخهٔ ۹) تجزیه‌وتحلیل شد.

یافته‌ها

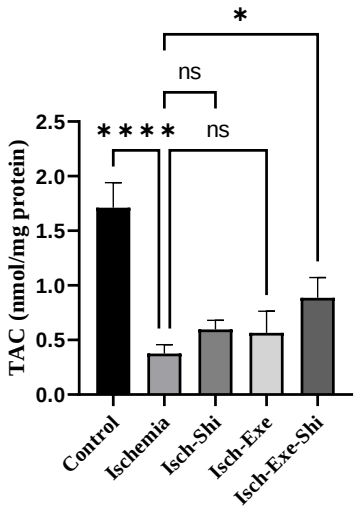
یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که القای ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی به افزایش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) (۶/۵۸۵±۱/۱۸) در مقایسه با گروه کنترل (۱/۰۸۱±۰/۴۰۶) منجر شد (p<۰/۰۰۰۱). همچنین، مداخله با تمرین استقامتی (۴/۹۹±۱/۰۳۲) و مکمل شیلاجیت (۴/۱۱±۰/۶۷) به‌صورت جداگانه، در مقایسه با گروه ایسکمی، موجب کاهش سطح MDA شد، به‌طوری که این کاهش در گروه تمرین استقامتی از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). علاوه‌بر این، ترکیب تمرین استقامتی و مکمل شیلاجیت بیشترین اثر را در کاهش سطح MDA در مقایسه با گروه ایسکمی نشان داد (۲/۴۴۷±۰/۲۲۲) (p<۰/۰۰۱) (شکل ۱).



شکل ۱. میزان MDA در گروه‌های مورد مطالعه؛ نتایج براساس میانگین و خطای استاندارد گزارش شده‌اند.

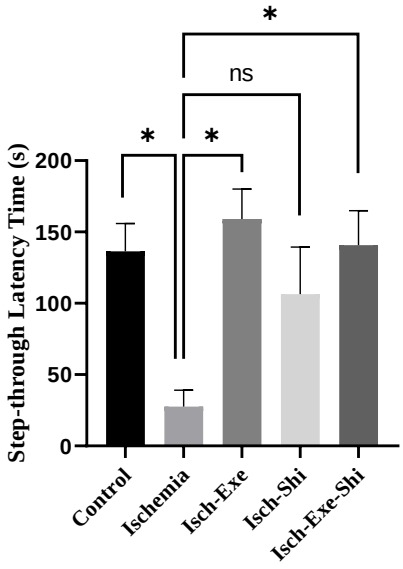
(Control: گروه کنترل، Ischemia: گروه ایسکمی، Isch-Sh: گروه ایسکمی+شیلاجیت، Isch-Exe: گروه ایسکمی+تمرین ورزشی، Isch-Exe-Sh: گروه ایسکمی+تمرین+شیلاجیت.
*: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵، ***: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۱، ****: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۰۱، ns: اختلاف آماری غیرمعنی‌دار).

نتایج اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) نشان داد که القای ایسکمی با کاهش معنی‌دار سطح TAC (۰/۳۷۶±۰/۰۸۱) در مقایسه با گروه کنترل (۱/۷۱۲±۰/۲۲۹) همراه بود (p<۰/۰۰۰۱). اگرچه مصرف مکمل شیلاجیت (۰/۵۹۶±۰/۰۸۴) و تمرین استقامتی (۰/۵۶۴±۰/۱۹۹) در مقایسه با گروه ایسکمی، به‌تنهایی موجب افزایش سطح TAC شدند، این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبودند. بااین‌حال، ترکیب مصرف مکمل شیلاجیت و تمرین استقامتی سبب افزایش معنی‌دار سطح TAC (۰/۸۸۷±۰/۱۸۵) پس از القای ایسکمی در مقایسه با گروه ایسکمی شد (p<۰/۰۵) (شکل ۲).



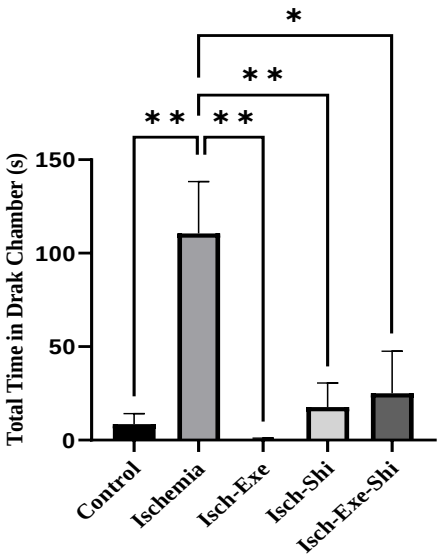
شکل ۲. میزان TAC در گروه‌های مورد مطالعه؛ نتایج براساس میانگین و خطای استاندارد گزارش شده‌اند.
(Control: گروه کنترل، Ischemia: گروه ایسکمی، Isch-Sh: گروه ایسکمی+شیلاجیت، Isch-Exe: گروه ایسکمی+تمرین ورزشی، Isch-Exe-Sh: گروه ایسکمی+تمرین+شیلاجیت
*: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵، ****: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۰۱، ns: اختلاف آماری غیرمعنی‌دار).

تجزیه‌وتحلیل داده‌های حاصل از آزمون حافظهٔ احترازی غیرفعال نشان داد که میزان تأخیر اولیه در ورود به محفظهٔ تاریک در بین گروه‌های مطالعه‌شده اختلاف معنی‌داری نداشت. در مرحلهٔ یادداری، تفاوت معنی‌داری در تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک بین گروه‌ها مشاهده شد. مدت‌زمان تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک در گروه ایسکمی (۲۳±/۲۳۱ ۲۷/۵ ثانیه) در مقایسه با گروه کنترل (۱۳۶/۳۳±۴۴/۹۹ ثانیه) کاهش قابل‌توجهی داشت (p<۰/۰۵). این میزان تأخیر در گروه تمرین استقامتی (۱۵۹±۴۲ ثانیه) و گروه تمرین استقامتی+مکمل شیلاجیت (۱۴۰/۸±۵۳/۸۴۴ ثانیه) در مقایسه با گروه ایسکمی، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵)، (شکل ۳).



شکل ۳. آزمون حافظهٔ احترازی غیرفعال؛ میانگین مدت‌زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک در مرحله یادداری در گروه‌های مورد مطالعه؛ نتایج براساس میانگین و خطای استاندارد گزارش شده‌اند. (Control: گروه کنترل، Ischemia: گروه ایسکمی، Isch-Sh: گروه ایسکمی+شیلاجیت، Isch-Exe: گروه ایسکمی+تمرین ورزشی، Isch-Exe-Sh: گروه ایسکمی+تمرین+شیلاجیت. *: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵، ns: اختلاف آماری غیرمعنی‌دار)

نتایج همچنین افزایش معنی‌دار زمان سپری‌شده در محفظهٔ تاریک در گروه ایسکمی (۵۵/۵۰۷±۱۱۰/۵ ثانیه) را در مقایسه با گروه کنترل (۸/۵±۱۴/۰۵۳ ثانیه) نشان داد (p<۰/۰۱). این زمان در گروه تمرین استقامتی (۰/۵±۱ ثانیه، p<۰/۰۱)، گروه مکمل شیلاجیت (۳۱/۵۰۷±۱۷/۶۷ ثانیه، p<۰/۰۱) و گروه تمرین استقامتی+مکمل شیلاجیت (۵۰/۴۹۸±۲۵ ثانیه، p<۰/۰۵) در مقایسه با گروه ایسکمی، کاهش قابل توجهی را نشان داد (شکل ۴).



شکل ۴. آزمون حافظهٔ احترازی غیرفعال؛ میانگین زمان سپری‌شده در محفظهٔ تاریک در مرحلهٔ یادداری در گروه‌های مورد مطالعه؛ نتایج براساس میانگین و خطای استاندارد گزارش شده‌اند. (Control: گروه کنترل، Ischemia: گروه ایسکمی، Isch-Sh: گروه ایسکمی+شیلاجیت، Isch-Exe: گروه ایسکمی+تمرین ورزشی، Isch-Exe-Sh: گروه ایسکمی+تمرین+شیلاجیت. *: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵، **: اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۱، ns: اختلاف آماری غیرمعنی‌دار).

بحث

در این پژوهش اثر هشت هفته تمرین ورزشی استقامتی همراه با مصرف مکمل شیلاجیت بر پراکسیداسیون لیپیدی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و حافظهٔ احترازی غیرفعال موش‌های صحرایی نر به‌دنبال ایسکمی ریپرفیوژن مغزی بررسی شد. نتایج نشان داد که ایسکمی ریپرفیوژن مغزی با افزایش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام همراه است. همچنین، ایسکمی مغزی موجب اختلال در حافظهٔ احترازی غیرفعال موش‌های صحرایی نر خواهد شد. انجام یک دوره تمرین هوازی همراه با مصرف مکمل شیلاجیت پیش از ایسکمی مغزی، موجب کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام خواهد شد و اختلال ناشی از ایسکمی در حافظه را بهبود می‌بخشد. جریان خون پایین در سکتهٔ مغزی ایسکمیک، اکسیژن و گلوکز را کاهش می‌دهد و باعث ایجاد مجموعه‌ای از واکنش‌ها می‌شود که رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند. رادیکال‌های آزاد می‌توانند غشاهای سلولی (پراکسیداسیون لیپید) را، که با افزایش مالون دی‌آلدئید (MDA) مشخص می‌شود، و آسیب اسید دئوکسی ریبونوکلئیک (DNA) را، که با افزایش ۸- هیدروکسی-۲-دئوکسی گوانوزین (8-OHdG) نشان داده می‌شود، از بین ببرند (۲۸). این گونه‌ها نه‌تنها به اجزای سلولی آسیب می‌رسانند، بلکه مسیرهای التهابی را، به‌ویژه مسیرهایی که با فاکتور رونویسی فاکتور هسته‌ای کاپا-B (NF-κB) واسطه می‌شوند، نیز فعال می‌کنند.

محیط پیش‌التهابی آسیب عصبی را تشدید می‌کند، یکپارچگی سد خونی-مغزی را به خطر می‌اندازد و آسیب ناشی از خون‌رسانی مجدد را تشدید می‌کند (۲۹). استرس اکسیداتیو (و نیتروزاتیو) به‌عنوان تناسب‌نداشتن بین پروآکسیدان‌ها (مانند رادیکال‌های آزاد) و آنتی‌اکسیدان‌ها توصیف می‌شود که با پاتوژنز چندین اختلال مزمن، مانند سکتهٔ مغزی ایسکمیک به‌دلیل اختلال در عملکرد سد خونی- مغزی (BBB) و دژنراسیون و آپوپتوز نورونی مرتبط است (۲۸). رادیکال آزاد نقش‌های مختلفی دارد؛ ازجمله به‌عنوان بخشی از سیستم تنظیم عروقی، نظارت بر فشار اکسیژن و تولید اریتروپویتین در سطوح کم، اما سطوح بالای رادیکال‌های آزاد ممکن است ماکرومولکول‌ها را اکسید کند و به آسیب سلولی کشنده (مرگ نورونی و ادم مغزی) منجر شود (۳۰). آسیب اکسایتوتوکسیک باعث تولید سوپراکسید و اکسید نیتریک (NO) می‌شود که باعث تولید محصولات بسیار واکنش‌پذیر، ازجمله رادیکال‌های پروکسی‌نیتریت و هیدروکسیل، می‌شود که می‌توانند لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA را از بین ببرند (۳۱).

مطالعهٔ حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین ورزشی استقامتی همراه با مصرف مکمل شیلاجیت پیش از ایسکمی ریپرفیوژن مغزی، تأثیر معناداری در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در موش‌های صحرایی نر دارد. همسو با یافته‌های ما، مشخص شده است که ورزش متوسط و سبک زندگی فعال نه‌تنها در پیشگیری از استرس اکسیداتیو، بلکه در محافظت اولیه و ثانویه در برابر اختلالات قلبی عروقی، دیابت نوع II، سندرم متابولیک و بیماری‌های نورودژنراتیو، مانند بیماری آلزایمر، نیز مفید نشان داده شده است (۳۲). آثار مفید ورزش همچنین در آزادسازی میوکاین‌ها منعکس می‌شود. این مولکول‌ها آثار اتو، پارا یا غدد درون‌ریز دارند و شامل سایتوکین‌ها، اینترلوکین‌هایی مانند IL-6 و پپتیدهای دیگری هستند که با فیبرهای عضلانی تولید، بیان و آزاد می‌شوند و در محافظت در برابر بیماری‌های مرتبط با التهاب خفیف مانند تصلب شرایین نقش دارند (۳۳، ۳۴).

از سوی دیگر، مطالعات نشان داده‌اند که محصولات طبیعی در پیشگیری از بیماری‌ها و افزایش سلامت در انسان و حیوانات نقش مهمی دارند. سکتهٔ مغزی بیماری‌ای با شیوع و بروز زیاد است و پاتوژنز آن واکنش آبشاری پیچیده‌ای است. در سال‌های اخیر، گزارش شده است که

تعداد زیادی از محصولات طبیعی آثار مفیدی بر سکتهٔ مغزی در سراسر جهان نشان داده‌اند. مشخص شده است که محصولات طبیعی با اهداف و مسیرهای سیگنالینگ متعدد، فعالیت‌ها را تعدیل می‌کنند تا از طریق آثار مستقیم یا غیرمستقیم در آنزیم‌ها، مانند کینازها، گیرنده‌های تنظیمی و پروتئین‌ها، محافظت عصبی را اعمال کنند (۳۵). سوراپانی و همکاران در مدل موش‌های مبتلا به سندرم خستگی مزمن گزارش کردند که مصرف شیلاجیت با بهبود عملکرد رفتاری، کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد میتوکندری همراه است. آنان پیشنهاد کردند که ترکیبات فعال شیلاجیت، به‌ویژه اسید فولویک، از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تنظیم محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–آدرنال موجب این آثار می‌شوند (۳۶).

تحقیقات به‌طور فزاینده‌ای از آثار هم‌افزایی محصولات طبیعی (ترکیبات زیست‌فعال مشتق‌شده از رژیم‌های غذایی گیاهی) و ورزش منظم در ارتقای سلامت مغز حمایت می‌کنند. محصولات طبیعی با تعدیل استرس اکسیداتیو، کاهش التهاب عصبی و افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی، آثار محافظت عصبی از خود نشان می‌دهند، درحالی‌که ورزش با بهبود نوروژنز، جریان خون مغزی و عملکرد میتوکندری، این مزایا را تکمیل می‌کند (۳۷). ازآنجاکه سلول‌های عصبی به‌دلیل مصرف زیاد اکسیژن، دفاع آنتی‌اکسیدانی ضعیف و محتوای زیاد اسیدهای چرب چند غیراشباع در غشاهای خود، به‌ویژه در برابر آسیب اکسیداتیو آسیب‌پذیرند، مولکول‌های آنتی‌اکسیدان در محدودکردن آسیب رادیکال‌های آزاد، به‌ویژه در سیستم عصبی مرکزی، اساسی هستند. به نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو روند بیماری‌های اختلالات سیستم عصبی، مانند ایسکمی، را بدتر می‌کند. کاراوغلو و همکاران در یک مدل آسیب تروماتیک مغز در موش‌ها نشان دادند که تجویز شیلاجیت موجب کاهش شاخص‌های استرس اکسیداتیو، کاهش آسیب بافت عصبی و بهبود شاخص‌های نورومحافظتی شد. این نتایج با یافته‌های مطالعهٔ حاضر مبنی‌بر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پس از مصرف شیلاجیت هم‌خوانی دارد و نشان می‌دهد که این مکمل می‌تواند از طریق تعدیل تعادل اکسیدان–آنتی‌اکسیدان در بافت عصبی، آثار محافظتی خود را اعمال کند (۳۸).

نتایج مطالعهٔ ما نشان داد که ایسکمی مغزی سبب اختلالات شناختی و حافظه می‌شود، آسیب به نورون‌های هیپوکامپ ناشی از ایسکمی برگشت‌ناپذیر است و به‌صورت اختلال حافظه، زوال شناختی، کاهش مهارت‌های حرکتی و اختلالات حسی بروز می‌کند (۳۹). به‌خوبی پذیرفته شده است که هیپوکامپ در حافظه و عملکرد شناختی نقش محوری ایفا می‌کند (۴۰، ۴۱). بنابراین، ایسکمی/ ریپرفیوژن در هیپوکامپ باعث آسیب یا مرگ نورونی می‌شود که با کاهش تراکم سیناپسی، دمیلیناسیون و آسیب آکسونی همراه است که می‌تواند به نقص حافظه و شناختی منجر شود. به‌خوبی ثابت شده است که در هیپوکامپ موش صحرایی، مرگ نورونی تأخیری در ناحیهٔ CA1، چهار تا پنج روز پس از ایسکمی گذرای (TI) پنج‌دقیقه‌ای در مغز پیشین القا می‌شود. به همین دلیل، بسیاری از مطالعات از این مدل برای ایجاد اختلال شناختی و به‌دنبال آن، مرگ نورونی تأخیری استفاده کرده‌اند (۴۲).

همچنین، کاراسکو-گایاردو و همکاران درمطالعه‌ای مروری نشان دادند که شیلاجیت خواص شناختی و نورومحافظتی قابل‌توجهی دارد و اسید فولویک موجود در آن می‌تواند از تجمع پروتئین‌های آسیب‌رسان عصبی جلوگیری کند و عملکرد شناختی و حافظه را بهبود بخشد. این پژوهشگران نقش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شیلاجیت را یکی از مکانیسم‌های اصلی آثار شناختی آن معرفی کردند (۲۱). گزارش شده است که ورزش هوازی در صورت سطح، مدت و فراوانی کافی، از پیشرفت زوال حافظه جلوگیری می‌کند. مکانیسم‌های مؤثر در آثار تمرین ورزشی بر عملکرد حافظه هنوز درک نشده‌اند. شواهد همگرا، چندین مکانیسم مستقیم و غیرمستقیم را در سطوح مولکولی و فرامولکولی نشان می‌دهند. سطح فرامولکولی شامل بهبود گردش خون، انعطاف‌پذیری سیناپسی و نوروژنز است که تحت کنترل سیگنالینگ مولکولی پیچیدهٔ انتقال‌دهنده‌های عصبی، عوامل نوروتروفیک و عوامل اپی‌ژنتیک هستند. در میان این عوامل مختلف، به نظر می‌رسد سیگنالینگ آیریزین/BDNF یکی از واسطه‌های مهم تداخل بین عضلات اسکلتی منقبض‌شده و مغز در طول تمرین ورزشی باشد (۴۳). ظرفیت هوازی و عملکرد شناختی بالا در افراد با جریان خون زیاد، حجم و عملکرد نوروپلاستی در هیپوکامپ و همچنین عملکرد بهتر حافظه مرتبط است. علاوه‌بر این، ورزش به نازک‌شدن مادهٔ خاکستری در قشر پیشانی، ناحیهٔ گیجگاهی فوقانی و قشر پس‌سری جانبی منجر می‌شود که با بهبود توانایی یادگیری مرتبط است. در اینجا مدیریت بیماری با پیش‌شرطی‌سازی با افزایش فعالیت بدنی و محصول طبیعی شیلاجیت با داشتن ترکیبات زیست‌فعال متعدد، آثار محافظت عصبی قابل‌توجهی را از طریق متابولیسم لیپید، استرس اکسیداتیو و بهبود حافظه نشان داده‌اند.

مطالعات پیش‌بالینی طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف مرتبط با شیلاجیت، ازجمله آثار ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، تعدیل‌کنندهٔ سیستم ایمنی و محافظت‌کنندهٔ عصبی را نشان داده‌اند (۴۴). علاوه‌بر این، عصاره و ترکیبات فعال فیزیولوژیکی شیلاجیت، نویدبخش کاربردهای درمانی در بیماری‌های مختلف عصبی بوده‌اند (۴۵، ۴۶). سنجش‌های پیش‌بالینی، که فعالیت بیولوژیکی شیلاجیت را که از مناطق جغرافیایی مختلف تهیه می‌شوند بررسی می‌کنند، در زمینهٔ بیماری آلزایمر، شایع‌ترین شکل زوال عقل مرتبط با سن، فاقد آن هستند. با توجه به تنوع محصولات طبیعی، ترکیب شیمیایی شیلاجیت اساساً تحت‌تأثیر خواص خاصی مانند نوع گونه گیاهی درگیر، خواص زمین‌شناسی سنگ، دمای محیط و ارتفاع و رطوبت یک منطقه خاص قرار می‌گیرد. ازاین‌رو، اثربخشی شیلاجیت در مناطق مختلف، بسته به مکان یا روش استخراج آن، متفاوت خواهد بود (۴۵). براساس یافته‌های مطالعهٔ حاضر و شواهد موجود، می‌توان مدلی مفهومی برای تبیین آثار هم‌افزای تمرین استقامتی و مکمل شیلاجیت در آسیب ناشی از ایسکمی مغزی ارائه کرد. در این مدل، تمرین استقامتی از طریق افزایش ترشح مایوکاین‌هایی نظیر آیریزین (Irisin) و همچنین افزایش بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، موجب تقویت نوروژنز، افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی و بهبود عملکرد شناختی می‌شود.

علاوه‌بر این، تمرین ورزشی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد، ظرفیت دفاعی سلول‌های عصبی را در برابر استرس اکسیداتیو افزایش می‌دهد. از سوی دیگر، شیلاجیت به‌دلیل داشتن اسید فولویک و دیگر ترکیبات زیست‌فعال، می‌تواند با کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مهار پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، از آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی جلوگیری کند. همچنین، شواهد نشان می‌دهد که شیلاجیت از طریق تعدیل مسیرهای آپوپتوزی و کاهش فعال‌سازی کاسپازها، مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلول‌های عصبی را مهار می‌کند. بنابراین، به نظر می‌رسد آثار ترکیبی تمرین استقامتی و شیلاجیت از طریق دو مسیر مکمل اعمال می‌شود: نخست، تقویت فرایندهای نورومحافظتی و نوروپلاستیسیته وابسته به BDNF و آیریزین؛ دوم، کاهش استرس اکسیداتیو و مهار آپوپتوز با

ترکیبات فعال شیلاجیت. برهم‌کنش این مسیرها می‌تواند افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش آسیب عصبی ناشی از ایسکمی و در نهایت، بهبود عملکرد شناختی و حافظه را توجیه کند.

نتیجه‌گیری

هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی آثار ترکیبی تمرین استقامتی و مکمل شیلاجیت در شاخص‌های استرس اکسیداتیو و عملکرد حافظه پس از ایسکمی–ریپرفیوژن مغزی بود. نتایج نشان داد که مداخلهٔ هم‌زمان تمرین استقامتی و شیلاجیت با کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، موجب بهبود وضعیت اکسیداتیو و بهبود عملکرد حافظهٔ احترازی غیرفعال در موش‌های صحرایی مبتلا به ایسکمی مغزی شد. این یافته‌ها بیانگر آن است که آثار محافظت عصبی احتمالی این دو مداخله می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی اعمال شود. بااین‌حال، با توجه به ماهیت حیوانی این مطالعه، تعمیم نتایج به شرایط بالینی نیازمند انجام پژوهش‌های بیشتر است. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده اثر دوزهای مختلف شیلاجیت، زمان‌بندی‌های متفاوت مداخله با توجه به وقوع ایسکمی و همچنین تغییرات مسیرهای مولکولی مرتبط با استرس اکسیداتیو، التهاب و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی بررسی شود.

مطالعهٔ حاضر با محدودیت‌هایی ازجمله اندازه‌گیری‌نشدن سیتوکاین‌های التهابی و تنوع‌نداشتن دوز شیلاجیت روبه‌رو بود. یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های مطالعهٔ حاضر ارزیابی‌نشدن هیستوپاتولوژیک بافت مغز پس از ایسکمی-ریپرفیوژن بود. اگرچه تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو و عملکرد حافظهٔ احترازی غیرفعال بررسی شد، ارزیابی مستقیم آسیب نورونی، به‌ویژه در ناحیه CA1 هیپوکامپ، می‌توانست شواهد قوی‌تری در حمایت از آثار محافظت عصبی تمرین استقامتی و شیلاجیت فراهم کند. همچنین، در این مطالعه از روش‌های مانیتورینگ فیزیولوژیک، نظیر اندازه‌گیری مداوم دمای بدن یا پایش جریان خون مغزی با استفاده از Laser Doppler Flowmetry برای تأیید شدت و یکنواختی ایسکمی استفاده نشد. بنابراین، نمی‌توان میزان دقیق کاهش خون‌رسانی مغزی و تأثیر احتمالی تغییرات دمایی را در تمامی حیوانات به‌طور مستقیم ارزیابی کرد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، علاوه‌بر ارزیابی‌های رفتاری و بیوشیمیایی، بررسی‌های هیستولوژیک و اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک جریان خون مغزی و دمای بدن نیز انجام شود تا تفسیر دقیق‌تری از آثار مداخله‌ها ارائه شود.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه ایلام و تمامی کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش پس از تأییدیهٔ اخلاقی با شناسهٔ IR.ILAM.REC.1404.010 از کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشگاه ایلام انجام شد. تمام مسائل اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی در طول این مطالعه رعایت شده است.

سهم نویسندگان

احمد نوح کریم: مشارکت در طراحی مطالعه، اجرای پروتکل‌های پژوهش، جمع‌آوری داده‌ها و نگارش اولیهٔ دست‌نوشته؛

نبی شمسایی: مشارکت در ایده‌پردازی و طراحی پژوهش، نظارت علمی بر اجرای مطالعه، تحلیل و تفسیر داده‌ها، بازنگری تخصصی مقاله؛

عارف نورایی: مشارکت در اجرای مداخله‌ها، انجام آزمون‌های آزمایشگاهی و رفتاری و همکاری در جمع‌آوری و تنظیم داده‌ها؛

سهیلا عرفانی: مشارکت در تحلیل داده‌ها، تفسیر نتایج، ویرایش علمی و ادبی دست‌نوشته و تأیید نسخهٔ نهایی مقاله.

تعارض منافع

هیچ‌کدام از نویسندگان این مقاله تضاد منافعی برای انتشار آن ندارند.

حامی مالی

برای انجام این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی دریافت نشده است.

References

1. Noguchi KS, Moncion K, Wiley E, Morgan A, Huynh E, Balbim GM, et al. Prescribing strength training for stroke recovery: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. Br J Sports Med. 2025;59(3):185-97. doi: 10.1136/bjsports-2024-108476 pmid
2. Albasser MM, Amin E, Lin T-CE, Iordanova MD, Aggleton JP. Evidence that the rat hippocampus has contrasting roles in object recognition memory and object recency memory. Behav Neurosci. 2012;126(5):659-69. doi: 10.1037/a0029754 pmid
3. Einenkel AM, Salameh A. Selective vulnerability of hippocampal CA1 and CA3 pyramidal cells: what are possible pathomechanisms and should more attention be paid to the CA3 region in future studies? J Neurosci Res. 2024;102(1):e25276. doi: 10.1002/jnr.25276 pmid
4. Yokobori S, Mazzeo AT, Hosein K, Gajavelli S, Dietrich WD, Bullock MR. Preconditioning for traumatic brain injury. Transl Stroke Res. 2013;4(1):25-39. doi: 10.1007/s12975-012-0226-1 pmid
5. Lochhead JJ, Ronaldson PT, Davis TP. The role of oxidative stress in blood-brain barrier disruption during ischemic stroke: antioxidants in clinical trials. Biochem Pharmacol. 2024;228:116186. doi: 10.1016/j.bcp.2024.116186 pmid
6. Obrenovitch TP. Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia. Physiol Rev. 2008;88(1):211-47. doi: 10.1152/physrev.00039.2006 pmid
7. Pradillo JM, Hurtado O, Romera C, Cбrdenas A, Fernбndez-Tomй P, Alonso-Escolano D, et al. TNFR1 mediates increased neuronal membrane EAAT3 expression after in vivo cerebral ischemic preconditioning. Neuroscience. 2006;138(4):1171-8. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.12.010 pmid
8. Turner RC, Dodson SC, Rosen CL, Huber JD. The science of cerebral ischemia and the quest for neuroprotection: navigating past failure to future success: a review. J Neurosurg. 2013;118(5):1072-85. doi: 10.3171/2012.11.jns12408 pmid
9. Huang J, Chen L, Yao ZM, Sun XR, Tong XH, Dong SY. The role of mitochondrial dynamics in cerebral ischemia-reperfusion injury. Biomed Pharmacother. 2023;162:114671. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114671 pmid
10. Anand KS, Dhikav V. Hippocampus in health and disease: an overview. Ann Indian Acad Neurol. 2012;15(4):239-46. doi: 10.4103/0972-2327.104323 pmid
11. Johnson AC. Hippocampal vascular supply and its role in vascular cognitive impairment. Stroke. 2023;54(3):673-85. doi: 10.1161/strokeaha.122.038263 pmid
12. Pluta R, Januszewski S, Czuczwar SJ. Post-ischemic neurodegeneration of the hippocampus resembling

Alzheimer's disease proteinopathy. Int J Mol Sci. 2021;23(1):306. doi: 10.3390/ijms23010306 pmid
13. Lee TK, Kim H, Song M, Lee JC, Park JH, Ahn JH, et al. Time-course pattern of neuronal loss and gliosis in gerbil hippocampi following mild, severe, or lethal transient global cerebral ischemia. Neural Regen Res. 2019;14(8):1394. doi: 10.4103/1673-5374.253524 pmid
14. Casals JB, Pieri NC, Feitosa ML, Ercolin AC, Roballo KC, Barreto RS, et al. The use of animal models for stroke research: a review. Comp Med. 2011;61(4):305. Link
15. Zhang P, Zhang Q, Pu H, Wu Y, Bai Y, Vosler PS, et al. Very early-initiated physical rehabilitation protects against ischemic brain injury. Front Biosci (Elite Ed). 2012;4(7):2476-89. doi: 10.2741/e559 pmid
16. Simioni C, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, Sacchetti G, Gonelli A, et al. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. Oncotarget. 2018;9(24):17181. doi: 10.18632/oncotarget.24729 pmid
17. Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1α in inflammation and chronic disease. Nature. 2008;454(7203):463-9. doi: 10.1038/nature07206 pmid
18. Radak Z, Marton O, Nagy E, Koltai E, Goto S. The complex role of physical exercise and reactive oxygen species on the brain. J Sport Health Sci. 2013;2(2):87-93. Link
19. Guler R, Ozden E, Asır F, Gulsun B. High-dose shilajit enhances xenograft-mediated bone regeneration in a rat tibial defect model: an in vivo experimental study. Life (Basel). 2025;15(10):1528. doi: 10.3390/life15101528 pmid
20. Guler R, Ozden E, Asır F, Gulsun B. High-dose shilajit enhances xenograft-mediated bone regeneration in a rat tibial defect model: an in vivo experimental study. Life. 2025;15(10):1528.
21. Carrasco-Gallardo C, Guzm6n L, Maccioni RB. Shilajit: a natural phytocomplex with potential procognitive activity. Int J Alzheimers Dis. 2012;2012:674142.doi: 10.1155/2012/674142 pmid
22. Fereshtian S, Peeri M, Agha Alinejad H, Delfan M. Effect of 4 weeks of high-intensity interval training with curcumin supplementation on COL-I, COL-II, SMAD3 gene expression in the myocardium of obese male rats with type 2 diabetes. JSSU. 2022;30(8):5166-78. Link
23. Akbari F, Moghadasi M, Farsi SF, Edalatmanesh MA. The effect of eight weeks of moderate-intensity endurance training on hippocampal brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor gene expression in the rats with hippocampal degeneration model. Meta Exe. 2019;9(2):137-47. Link
24. Shamsaei N, Khaksari M, Erfani S, Rajabi H, Aboutaleb N. Exercise preconditioning exhibits neuroprotective effects on hippocampal CA1 neuronal damage after cerebral ischemia. Neural Regen Res. 2015;10(8):1245-50. doi: 10.4103/1673-5374.162756 pmid
25. Khoshnazar SM, Erfani S, Sinaei R. The effect of S-ketamine administration on improving memory and learning following cerebral ischemia and reperfusion in male Wistar rats. JSSU. 2025;32(12):8549-61. Link
26. Ayala A, Mucoz MF, Argьelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid Med Cell Longev. 2014;2014:360438. doi: 10.1155/2014/360438 pmid
27. Gulcin İ. Antioxidants: a comprehensive review. Arch Toxicol. 2025;99(5):1893-97. doi: 10.1007/s00204-025-03997-2 pmid
28. Tugasworo D, Prasetyo A, Kurnianto A, Retnaningsih R, Andhitara Y, Ardhini R, et al. Malondialdehyde (MDA) and 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG) in ischemic stroke: a systematic review. Egypt J Neurol Psychiatr Neurosurg. 2023;59(1):87. Link
29. Golenia A, Olejnik P. The role of oxidative stress in ischaemic stroke and the influence of gut microbiota. Antioxidants (Basel). 2025;14(5):542. doi: 10.3390/antiox14050542 pmid
30. Syafrita Y, Amir D, Susanti R, Fadhilah I. Relationship of brain-derived neurotrophic factor with stroke depression. Dement Neuropsychol. 2020;14(1):41-6. doi: 10.1590/1980-57642020dn14-010007 pmid
31. Aygul R, Kotan D, Demirbas F, Ulvi H, Deniz O. Plasma oxidants and antioxidants in acute ischaemic stroke. J Int Med Res. 2006;34:413-8. doi: 10.1177/147323000603400411 pmid
32. Baltaci SB, Mogulkoc R, Baltaci AK. Resveratrol and exercise. Biomed Rep. 2016;5:525-30. doi: 10.3892/br.2016.777 pmid
33. Pedersen BK. Muscles and their myokines. J Exp Biol. 2011;214:337-46. doi: 10.1242/jeb.048074 pmid
34. Golbidi S, Badran M, Laher I. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. Exp Diabetes Res. 2012;2012:941868. doi: 10.1155/2012/941868 pmid
35. Xie Q, Li H, Lu D, Yuan J, Ma R, Li J, et al. Neuroprotective effect of natural products on cerebral ischemia: a review. Front Pharmacol. 2021;12:607412. doi: 10.3389/fphar.2021.607412 pmid
36. Surapaneni DK, Adapa SR, Preeti K, Teja GR, Veeraragavan M, Krishnamurthy S. Shilajit attenuates behavioral symptoms of chronic fatigue syndrome by modulating the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and mitochondrial bioenergetics in rats. J Ethnopharmacol. 2012;143(1):91-9. doi: 10.1016/j.jep.2012.06.002 pmid
37. Chen L, Wang X, Zheng Q, Wang H. Natural products and exercise synergy: unraveling molecular mechanisms to enhance brain function in Alzheimer's disease. Phytother Res. 2025;39(8):3800-12. doi: 10.1002/ptr.70005 pmid
38. Karaoglu AC, Atci IB, Demirel N, Turk O, Hurdag C, Baran O, et al. Investigation of the neuroprotective effect of shilajit extract in experimental head trauma model created in rats. Turk Neurosurg. 2023;33(6):976-81. doi: 10.5137/1019-5149.jtn.37599-22.2 pmid
39. Kim DY, Park MK, Yang HW, Woo SY, Jung HH, Son DS, et al. Effects of microplastic accumulation on neuronal death after global cerebral ischemia. Cells. 2025;14(4):241. doi: 10.3390/cells14040241 pmid
40. Sweatt JD. Hippocampal function in cognition. Psychopharmacology (Berl). 2004;174:99-110. doi: 10.1007/s00213-004-1795-9 pmid
41. Bird CM, Burgess N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. Nat Rev Neurosci. 2008;9:182-94. doi: 10.1038/nrn2335 pmid
42. Lee TK, Hong J, Lee JW, Kim SS, Sim H, Lee JC, et al. Ischemia-induced cognitive impairment is improved via remyelination and restoration of synaptic density in the hippocampus after treatment with COG-Up® in a gerbil model of ischemic stroke. Vet Sci. 2021;8(12):321. doi: 10.3390/vetsci8120321 pmid
43. Babaei P, Azari HB. Exercise training improves memory performance in older adults: a narrative review of evidence and possible mechanisms. Front Hum Neurosci. 2022;15:771553. doi: 10.3389/fnhum.2021.771553 pmid
44. Mishra T, Dhaliwal HS, Singh K, Singh N. Shilajit (Mumie): current status of biochemical, therapeutic and clinical advances. Curr Nutr Food Sci. 2019;15(2):104-20. Link
45. Seoyoung K, Changon S, HyeJin P, Jin GK, Jin KK, Hyoun JM. Shilajit: neuroprotective powers of a legendary folk remedy. Perspect Integr Med. 2024;3(2):114-22. Link
46. Carrasco-Gallardo C, Guzm6n L, Maccioni RB. Shilajit: a natural phytocomplex with potential procognitive activity. Int J Alzheimers Dis. 2012;2012:674142.