



اثر مصرف عصاره گانودرمالوسیدم و هشت هفته تمرینات استقامتی بر مقادیر پلاسمایی فاکتورهای نروتروفیک مشتق از مغز و رشد عصب در مردان مبتلا به پارکینسون

فرشید گنجی: دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

علیرضا براری: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران (* نویسنده مسئول) alireza54.barari@gmail.com

احمد عبدی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

گانودرما لوسیدم،

تمرینات استقامتی،

فاکتور رشد عصب،

فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز،

پارکینسون

زمینه و هدف: بیماری پارکینسون دومین بیماری نورودژنراتیو شایع در جهان است. مهم‌ترین جنبه پاتوژنز بیماری پارکینسون از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک ماده سیاه در مغز میانی می‌باشد که باعث از بین رفتن مهار در هسته‌های قاعده‌ای و علائم هیپرکینتیک و سفتی می‌شود. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر مصرف عصاره گانودرمالوسیدم و هشت هفته تمرینات استقامتی بر مقادیر پلاسمایی فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز و فاکتور رشد عصب در مردان مبتلا به پارکینسون بود.

روش کار: پژوهش حاضر یک کارآزمایی بالینی از نوع نیمه تجربی بود. در این تحقیق از بین ۸۶ بیمار مرد مبتلا به پارکینسون در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تعداد تعداد ۲۴ آزمودنی به صورت هدفمند انتخاب و به طور تصادفی در چهار گروه شش نفری (۱- دارونما، ۲- تمرین و دارونما، ۳- مکمل و ۴- تمرین و مکمل) تقسیم شدند. برنامه تمرینی به مدت ۸ هفته، هر هفته سه جلسه زیر نظر متخصص فیزیولوژی ورزشی و متخصص مغز و اعصاب با شدت ۵۰ الی ۶۵ درصد ضربان قلب بیشینه در باشگاه ورزشی انجام شد. نمونه خونی آزمودنی‌ها؛ ۲۴ ساعت قبل از اولین جلسه و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ورزشی و پس از گذراندن حدود ۱۰ ساعت ناشتایی شبانه، جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری سطوح پلاسمایی فاکتور NGF و BDNF به روش الایزا و از کیت‌های مخصوص استفاده شد. عصاره گانودرما لوسیدم ساخت شرکت بیژ و تأییدشده توسط سازمان غذا و دارو تهیه و به تناسب وزن افراد در اختیار آزمودنی‌ها قرار گرفت. از پودر نشاسته نیز به عنوان دارونما استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل آماری از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که برای مقادیر پلاسمایی فاکتور رشد عصب و فاکتور نروتروفیک مشتق از مغز در گروه‌های تمرین، مکمل و تمرین-مکمل اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همچنین بررسی تغییرات بین گروهی اختلاف معنی‌داری در پس‌آزمون نسبت به پیش‌آزمون نشان داد. **نتیجه‌گیری:** تمرین ترکیبی همراه با مصرف عصاره گانودرمالوسیدم منجر به تغییر غلظت BDNF و NGF در بیماران مبتلا به پارکینسون شد بنابراین به نظر می‌رسد انجام تمرین و مصرف عصاره گانودرمالوسیدم بتواند به عنوان مداخلات درمانی در راهبردهای پیش‌گیری و درمان بیماری پارکینسون، مورد استفاده قرار گیرد.

این مطالعه دارای کد اخلاق IR.IAU.M.REC.1399.016 از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و کد کارآزمایی بالینی (IRCT) IRCT20200708048053N1 می‌باشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۱۰

تاریخ چاپ: ۹۹/۱۲/۱۷

شیوه استناد به این مقاله:

Ganji F, Barari A, Abdi A. Effects of Ganoderma extraction and eight-week endurance exercises on plasma values neurotrophic factors based on brain and nerve growth in men with Parkinson's. Razi J Med Sci. 2021;27(12):120-130.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

Effects of Ganoderma extraction and eight-week endurance exercises on plasma values neurotrophic factors based on brain and nerve growth in men with Parkinson's

Farshid Ganji: PhD Student, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

Alireza Barari: Associate Professor, Department of Sports Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran (* Corresponding author) alireza54.barari@gmail.com

Ahmad Abdi: Associate Professor, Department of Sports Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

Abstract

Background & Aims: Parkinson's is the most common motor disease associated with neuronal damage that affects approximately 4 million elderly people worldwide. Neurotrophins are important factors in neuronal cell growth, synapse maturation, and synaptic plasticity (plasticity) and include brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF), glial cell-derived growth factor (GDNF), and conversion growth factor (TGF). α are insulin-like growth hormone (IGF-I) and neurotrophins 3 and 4. BDNF and NGF are believed to be involved in the protection of the central nervous system through conservation and neuronal regeneration (4). The aim of this study was to evaluate the effect of ganoderma extract and eight weeks of endurance training on plasma levels of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in men with Parkinson's disease.

Methods: The present study was a quasi-experimental clinical trial. In this study, out of 86 male patients with Parkinson's disease in Ardabil University of Medical Sciences, 24 subjects were purposefully selected and randomly divided into four groups of six (1 placebo, 2 exercises and placebo, 3 supplements and 4 exercises). Complement) were divided. Exercise program for 8 weeks, three sessions per week under the supervision of a physiologist, sports physician and neurologist with an intensity of 50 to 65% of the maximum heart rate in the gym. Blood samples of subjects; It was collected 24 hours before the first session and 24 hours after the last session of exercise and after spending about 10 hours of fasting at night. Special kits were used to measure plasma levels of NGF and BDNF factor by ELISA method. Ganoderma lucidum extract, manufactured by Bayes and approved by the Food and Drug Administration, was provided to the subjects according to their weight. Starch powder was also used as a placebo. One-way analysis of variance and Bonferroni post hoc test were used for statistical analysis.

Results: The results showed that there was a significant difference for plasma levels of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in exercise, supplement and supplement-exercise groups. Also, the study of intergroup changes showed a significant difference in post-test compared to pre-test.

Conclusion: The results showed that there was a significant difference between plasma NGF levels in the drug, exercise and drug-exercise groups compared with the control group. Chai et al. (2012) in a study of the protective effect of two types of exercise including swimming and running on a treadmill on the level of NGF in the brain of mice. Five days a week at 20 meters per minute can increase NGF levels and thus be a protective factor against neurological diseases. Yam Sun Love et al. (2011) investigated the protective effects of forced exercise on a treadmill on Parkinson's subjects. In this study, DA, TH and NGF levels in the exercise group had a significant increase compared to the control group. One of the mechanisms of effect of Ganoderma lucidum supplementation on Parkinson's disease was an increase in NGF levels, which is a protective factor for neurons. Parkinson's disease causes oxidative damage to dopaminergic cells. Ganoderma has been reported to stimulate

Keywords

Ganoderma lucidum,
Endurance training,
Nerve growth factor,
Brain-derived
neurotrophic factor,
Parkinson's

Received: 31/10/2020

Published: 07/03/2021

lipoxygenase, an ROS inhibitor. Ganoderma lucidum extract can also reduce ROS in the liver due to its ability to reduce lipid peroxidation (Sargazi, 2017). The combination of exercise effects with supplements can be explained by several mechanisms. First, exercise can facilitate the production of NGF by increasing the available energy of nerve cells and the maturation of NGF precursors. Second, supplementation of Ganoderma lucidum extract can affect the expression of NGF in nerve cells by nuclear or classical and non-nuclear or neoclassical pathways (Sargazi, 2017). It should be noted that exercise increases the effectiveness of this neurotrophic factor by increasing the expression of NGF receptors at the cell surface. On the other hand, supplementation with Ganoderma lucidum extract has the same role for the P75 receptor. Therefore, Ganoderma lucidum supplementation and exercise can also be complementary in the expression and effectiveness of NGF mechanisms of action in neurons.

The results also showed that there was a significant difference between plasma BDNF levels in the drug, exercise and drug-exercise groups compared with the control group. BDNF, which protects neurons from damage and disease. There are indications that BDNF also has antioxidant activity. Regulation of the additive activity of BDNF and TrkB has been shown to have an antioxidant effect in the brain (Tsi et al., 2012). In other words, one of the roles assigned to BDNF is its antioxidant role and increase resistance to oxidative stress (Clamp et al., 2015). BDNF increases with exercise and affects neurons in the central nervous system. This factor increases the excitability of synaptic transmission and decreases inhibitory synaptic transmission. Animal studies have shown that daily exercise triggers the release of various neurotransmitters in the brain, such as dopamine, norepinephrine, and especially BDNF. Johnson et al. (2013) in a study that examined the effect of voluntary running on BDNF in mice found that following the 7-night running pattern in the experimental group showed a significant increase in BDNF. The results of this study suggest that exercise-induced neural variability is potentially increased. Another therapeutic property and benefits of Ganoderma lucidum coffee is that when you drink this coffee, a substance called brain neurogenic factor (BDNF) is released in the brain, which strengthens muscle strength. If BDNF is not secreted, the muscles become weak. In this way, it prevents the reduction of force due to old age and disease, and thus reduces the risk of muscle wasting, especially in people with Parkinson's disease (Keypour et al., 2013).

The results of this study showed that exercise and consumption of Ganoderma extract cause a significant change in neurotransmitters in older men with Parkinson's disease. Of course, exercise alone did not have a significant effect on the values of these indicators. Therefore, it seems that exercise with the characteristics of the present study program alone has no effect on these indicators and should be accompanied by supplementation with Ganoderma lucidum extract to strengthen the neuroprotective effects. Therefore, to investigate the role of exercise on these variables in the plasma serum of Parkinson's patients, other studies are needed in which different intensities and periods are examined. As a result, it is possible that the protocol used in this study could be recommended to increase the neuroprotection of striated dopaminergic cells against Parkinson's disease predisposing factors and ultimately to improve brain health. Also, according to the results of this study, it is clear that the use of Ganoderma lucidum extract can be used as an uncomplicated and most effective pre-treatment tool compared to other chemical drugs.

This study has the code of ethics IR.IAU.M.REC.1399.016 from Islamic Azad University of Marvdasht and clinical trial code (IRCT) IRCT20200708048053N1.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Ganji F, Barari A, Abdi A. Effects of Ganoderma extraction and eight-week endurance exercises on plasma values neurotrophic factors based on brain and nerve growth in men with Parkinson's. Razi J Med Sci. 2021;27(12):120-130.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

پارکینسون معمول‌ترین بیماری حرکتی همراه با تخریب نورونی است که در سرتاسر جهان حدود ۴ میلیون سالمند را تحت تاثیر قرار داده است (۱). نوتروفین‌ها از عوامل مهم رشد سلول‌های عصبی، بلوغ سیناپس‌ها و پلاستیسیته (شکل‌پذیری) سیناپسی هستند و شامل فاکتور نوتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، فاکتور رشد عصب (NGF)، فاکتور رشد مشتق از سلول گلیال (CDNF)، فاکتور رشد تبدیلی آلفا (TGF- α)، هورمون رشد شبه‌انسولین (IGF-I) و نوروتروفین ۳ و ۴ می‌باشند (۳). اعتقاد بر این است که BDNF و NGF در حفاظت سیستم عصبی مرکزی از طریق محافظت و باززایی نورونی نقش دارد (۴). فاکتور رشد عصب (NGF) اولین عضو کشف شده از خانواده نوتروفین‌ها می‌باشد NGF در عملکردهای بیولوژیکی از قبیل محافظت نورونی، پلاستیسیته، بازسازی نورون‌ها و بهبود حافظه دخیل می‌باشد، ترشح آن به دنبال تمرینات ورزشی منظم تحت تاثیر قرار می‌گیرد. کاهش مرگ و دمیلینه شدن نورون‌ها پس از تزریق NGF داخل ماده سفید در نمونه‌های نخاعی گزارش شده است (۳). همچنین تزریق مزمن NGF به جسم مخطط موش می‌تواند فعالیت نرون‌های جسم مخطط را افزایش دهد (۵) BDNF و NGF که از پروتئین‌های بنیادی و عضوی از خانواده نوتروفین‌ها هستند، نقش حیاتی در تکامل و حفظ سلامت دستگاه عصبی مرکزی و محیطی، شکل‌پذیری سیناپس‌ها و نورون‌های مغزی، تکثیر و بقای سلول عصبی (۷) و نیز یادگیری، حافظه و تغییرات خلقی دارد (۶). بیماری پارکینسون به طور کامل قابل درمان نمی‌باشد اما کنترل عوارض آن تا حدود زیادی قابل دستیابی است و جلوی ناتوان کردن و از کارافتادگی بیمار را می‌گیرد، در این رساتا تمرینات ورزشی از اهمیت زیادی برخوردار بوده و نشان داده شده است که از مشکلات ارتوپدیک مرتبط با علایم اولیه پارکینسون جلوگیری می‌کند و همچنین یکی از درمان‌های مهم این بیماری می‌باشد (۷). تمرینات ورزشی بقاء سلول‌های عصبی را افزایش می‌دهد و برقراری عملکردهای مغز را بعد از آسیب تسهیل می‌کند (۸). پژوهشگران بر این باورند که افزایش ظرفیت ورزشی می‌تواند موجب افزایش دسترسی به

شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و فاکتورهای رشد و میانجی‌های عصبی از شود که می‌تواند در سیستم عصبی مرکزی اثرات محافظتی داشته باشد و در بیماری پارکینسون نیز اثرگذار باشند. در نتیجه افزایش غلظت فیزیولوژیکی این عوامل، غلظت گیرنده‌های این عوامل نیز افزایش می‌یابند که این گیرنده‌ها قادرند عوامل آنتی‌اکسیدانی و فاکتورهای رشد عصبی را وارد سلول کنند و در بیماری‌های عصبی مانند پارکینسون نیز تاثیر بگذارند (۹). یافته‌ها نشان داده است که ورزش نه تنها موجب نوروژنی و حفاظت عصبی می‌شود بلکه باعث افزایش فعالیت میتوکندریایی و افزایش سطوح BDNF، NGF، سروتونین، دوپامین و تیروزین هیدروکسیلاز در موش‌های پارکینسونی می‌شود. مکانیسم مولکولی اثرات سودمند ورزش کاملاً قابل فهم است (۱۰). همچنین مطالعات نشان می‌دهد اثرات ورزش از طریق تعدیل انتقال دهنده‌های نورونی، شکل‌گیری نورونی، نوروژنز، هموستاز و عامل‌های نوتروفیک صورت می‌گیرد (۱۱). با این حال با وجود مطالعات انجام شده روی فاکتورهای نوتروفیک مرتبط با پارکینسون، یافته‌های تحقیقات همچنان بسیار ضد و نقیض است، در این راستا فلاح محمدی و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیق خود نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین اختیاری روی نوار گردان باعث افزایش فاکتورهای نوتروفیک در قشر مخ موش‌های مبتلا به پارکینسون می‌شود (۱۲) تاجیری و همکاران (۲۰۱۰) تحقیقی با عنوان بررسی اثر ورزش بر فاکتورهای نوتروفیک مغز بر بیماری پارکینسون انجام دادند، نتایج آن‌ها نشان داد فاکتورهای نوتروفیک مشتق از مغز در گروه تمرین کرده افزایش داشت (۱۳) رادک و همکاران (۲۰۱۶) اظهار داشتند شنای منظم منجر به افزایش ترشح NGF در مغز می‌شود که این افزایش با بهبود حافظه افراد ارتباط مستقیم و با استرس اکسایشی رابطه معکوس داشت (۸). بانو و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی با عنوان «ورزش برای افراد مبتلا به پارکینسون: یک رویکرد عملی» به این نتیجه دست یافتند که برنامه‌های ورزشی به طور مطلوب ممکن است فرایندهای عصبی فیزیولوژیکی را تغییر دهد، و احتمالاً روند پیشرفت علامت‌ها را کند می‌کند (۹). برزگر و همکاران (۲۰۱۵)، در پژوهشی به مقایسه چهار نوع تمرین استقامتی با

پارکینسون و آلزایمر کاملاً موثرند و کمبود اکسیژن در مغز را رفع می‌کند (۲۰). رن و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای با عنوان «تاثیر عصاره گانودرمالوسیدم بر بهبود بیماران پارکینسونی به این نتیجه دست یافتند که مصرف عصاره گانودرمالوسیدم به طور قابل توجهی علائم پارکینسون را بهبود می‌بخشد. از آنجایی که پارکینسون یک بیماری تخریبی و پیشرونده مربوط به سیستم اعصاب مرکزی است که با عدم تعادل بدن همراه است در هر برنامه تمرین ورزشی باید توجهی خاص به آن شود (۲۱). با توجه به تحقیقات انجام شده، تاکنون در مورد تاثیر تمرین استقامتی و مکمل گانودرمالوسیدم بر سطوح نروتروفیکی مشتق از مغز و فاکتور رشد عصب در بیماران پارکینسونی پژوهشی صورت نگرفته است و با توجه تاثیراتی که تمرینات ورزشی و عصاره گانودرما ممکن است بر روی این فاکتورها داشته باشند لذا هدف از این پژوهش بررسی اثر مصرف عصاره گانودرمالوسیدم و هشت هفته تمرینات استقامتی بر مقادیر پلاسمایی فاکتورهای نروتروفیک مشتق از مغز و رشد عصب در مردان مبتلا به پارکینسون می‌باشد.

روش کار

این پژوهش یک کارآزمایی بالینی از نوع نیمه‌تجربی بود که در آن از طرح پیش‌آزمون، پس‌آزمون استفاده گردید. از بین ۸۶ بیمار مرد مبتلا به پارکینسون در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تعداد تعداد ۳۶ بیمار با درجه بیماری ۲ تا ۳ مقیاس Yahr & Heohn (۲۲) انتخاب شدند. به وسیله فرم اطلاعاتی که به بیماران داده شد، افراد با مشکلات ارتوپدی، مشکلات قلبی و فشار خون، افراد با مصرف دخانیات و افرادی که قادر نبودند کارهای روزمره خود را انجام دهند از مطالعه حذف شدند. سپس بیماران واجد شرایط، فرم رضایت نامه شرکت در طرح تحقیقی را تکمیل کردند. بعد از انتخاب نمونه و پرکردن فرم رضایت نامه در طرح تحقیق پیش‌آزمون از همه افراد گرفته شد که با انصراف داوطلبانه و عدم تکمیل پیش‌آزمون در هر یک از گروه‌های مورد مطالعه از نرم افزار آماری MINITAB نسخه ۱۴ با توجه به تحقیقات پیشین و انتظار محقق از تفاوت عملی (یا بالینی) تعداد ۶ نفر

شدت کم، تمرین تناوبی شدید، تمرین پرشدت و تمرین روی سطح شیب دار به مدت هشت هفته پرداختند که نتایج نشان داد که در هیچ یک از این شدت‌ها، سطوح عوامل نروتروفیک نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری ندارد (۱۴).

همچنین گرایش عمومی به استفاده از داروهای گیاهی و به طور کلی فراورده‌های طبیعی در جهان را می‌توان به علت عوارض داروهای شیمیایی از یک طرف و ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی از سوی دیگر دانست. با توجه به استفاده روز افزون از گیاهان دارویی و رویکرد جهانی به طب سنتی، امروزه اثرات بسیاری از گیاهان دارویی روی بیماری‌های عصبی و حرکتی مورد مطالعه قرار گرفته اند که برخی نیز در کلینیک پذیرفته شده است (۱۵). تحقیقات نشان داده که عصاره قارچ گانودرمالوسیدم دارای ۴۰۰ ماده بیولوژیک فعال هستند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به تری‌ترپنوئیدها، پلی‌ساکاریدها، نوکلئوتیدها، استرول‌ها، استروئیدها، اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، پپتیدها و بسیاری از مواد کمیاب دیگر اشاره کرد (۱۶ و ۱۷). از مواد دیگر موجود در عصاره این قارچ، ملانین است. ملانین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تقویت سیستم ایمنی هستند، این ترکیبات همچنین می‌توانند التهاب و رادیکال‌های آزاد را از بین ببرند و تولید انرژی میتوکندری را افزایش دهند. همچنین این ترکیبات بعد از ایسکمی مغزی مانع از تخریب نورون‌ها و ناقل‌های عصبی در مغز می‌شوند. بنابراین به شکل خلاصه می‌توان گفت: گانودرما به دلیل دارا بودن خواص ضدالتهابی و باعث تاثیرات محافظت نوروئی و در نتیجه مانع تخریب انتقال دهنده‌های عصبی و افزایش سطوح فاکتورهای رشد عصب می‌شود (۱۸). در تحقیقی که در سال (۲۰۱۶) توسط ولف دیتر (Wolf-dieter Rausch) و همکاران انجام شد مصرف خوراکی عصاره قارچ گانودرما موجب توقف تخریب سلولی در جسم سیاه شد و اختلالات حرکتی را در موش‌های پارکینسونی شده کاهش داد (۱۹). کیوتان (Qi Tan) و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که عصاره حل شده در آب گرم گانودرما لوسیدم، درد اعصاب را در بیماران پارکینسونی کاهش داده است (۲۰). همچنین به این نتیجه دست یافتند که عصاره‌های این قارچ در درمان میگرن، سردرد،

تفاوتی از نظر آماری وجود ندارد. ملاحظه می‌شود که هر دو مفروضه آزمون تحلیل کوواریانس برقرار می‌باشد. یعنی استفاده از تحلیل کوواریانس بلا مانع است.

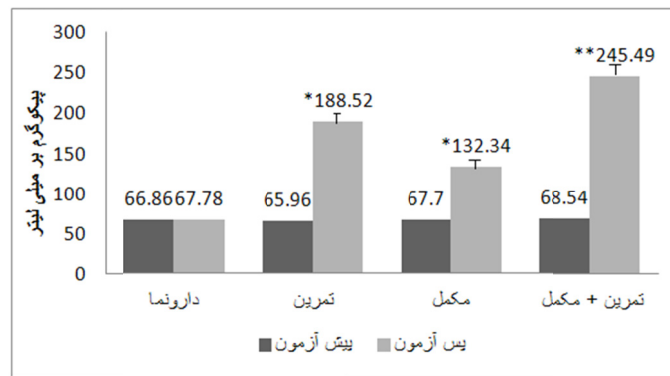
یافته‌ها

آزمودنی‌ها با میانگین سنی $55/60 \pm 5/29$ ، میانگین قد $172/57 \pm 3/22$ ، شاخص توده بدنی $26/12 \pm 3/75$ ، میانگین سطح بیماری $2/30 \pm 0/94$ مورد آزمون قرار گرفتند که پس از هشت هفته تمرین استقامتی و مصرف عصاره گانودرما لوسیدم؛ شاخص توده بدنی و توان هوازی در گروه تمرین و تمرین+مکمل تغییر معنی داری داشت.

بر اساس اطلاعات نمودار ۱ و ۲؛ میانگین سطوح سرمی NGF و BDNF در گروه‌های تمرین، مکمل و تمرین-مکمل، در پس‌آزمون نسبت به پیش‌آزمون، افزایش نشان می‌دهد، در حالی که این تغییرات در گروه دارونما محسوس نیست. نتایج آزمون تحلیل کوواریانس سنجش تاثیر مصرف گانودرما لوسیدم بر سطوح سرمی NGF و BDNF نشان داد که مصرف عصاره گانودرما لوسیدم بر سطوح NGF و BDNF در مردان مسن مبتلا به پارکینسون تاثیر مثبت دارد. همچنین نتایج تاثیر تمرین بر سطوح سرمی NGF و BDNF نشان داد تمرین ورزشی بر سطوح NGF و BDNF در مردان مبتلا به پارکینسون تاثیر مثبت دارد.

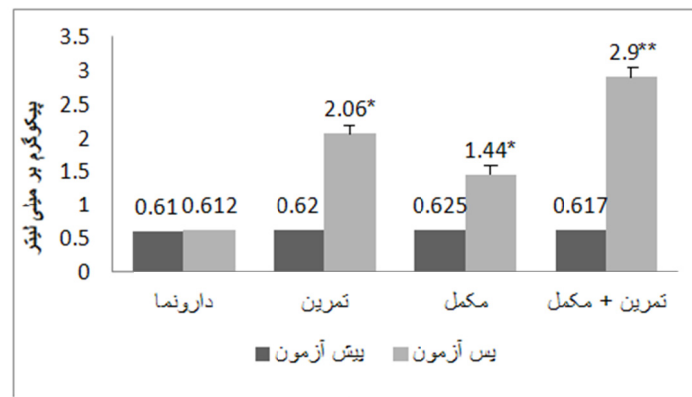
همچنین جهت مقایسه اثربخشی مکمل عصاره گانودرما لوسیدم، تمرین و تمرین + مکمل بر سطوح سرمی NGF و BDNF در گروه‌های تحقیق از آزمون مانوا استفاده گردید. شاخص همه آزمون‌ها، برای مثال لامبدای ویلکز در سطح $0/01$ معنی‌دار بدست آمد ($p=0.001$, $F=13.987$, $Wilks\ Lambda=0.004$) به عبارت دیگر می‌توان ادعا کرد که در مجموع، تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود دارد؛ بنابراین به منظور اطلاع از اینکه تفاوت بین گروه‌ها مربوط به کدامیک از متغیرهای وابسته است، از تحلیل تک متغیری با تصحیح خطای نوع اول به شیوه بونفرونی استفاده گردید، در این شیوه برای کنترل خطای نوع اول سطح معنی‌داری آزمون فرضیه‌ها برابر با $0/016$ در نظر گرفته شد. نتایج این آزمون نیز نشان داد با احتساب آلفای میزان شده بونفرونی ($0/016$) در هر دو متغیر وابسته

برای هر گروه انتخاب شدند (۲۳). سپس آزمودنی‌ها به طور تصادفی در چهار گروه شش نفری (۱- دارونما، ۲- تمرین و دارونما، ۳- مکمل و ۴- تمرین و مکمل) تقسیم شدند. برنامه تمرینی به مدت ۸ هفته، هر هفته سه جلسه زیر نظر متخصص فیزیولوژی ورزشی و متخصص مغز و اعصاب در باشگاه ورزشی انجام شد. تمرین استقامتی شامل راه رفتن با سرعت ۴ کیلومتر بر ساعت تا ۸ کیلومتر بر ساعت با شدت ۵۰ الی ۶۵ درصد ضربان قلب بیشینه بود که ۱۰ دقیقه اول شامل گرم کردن عضلات اصلی بدن و ۱۰ دقیقه آخر به عنوان ریکاوری در نظر گرفته شد. نمونه خونی آزمودنی‌ها؛ ۲۴ ساعت قبل از اولین جلسه و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ورزشی و پس از گذراندن حدود ۱۰ ساعت ناشتایی شبانه، جمع‌آوری شد. برای اندازه گیری سطوح پلاسمایی فاکتور NGF به روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص NGF Elisa Kit ساخت کشور چین و با حساسیت $2/48$ پیکوگرم بر میلی لیتر و به منظور تعیین سطوح پلاسمایی فاکتور BDNF به روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص (Human BDNF) ساخت کشور چین و با حساسیت ۲ پیکوگرم بر میلی لیتر استفاده شد. عصاره گانودرما لوسیدم ساخت شرکت بیز و تأیید شده توسط سازمان غذا و دارو تهیه و به تناسب وزن افراد (6 mg) پودر گانودرما لوسیدم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۲۴) در اختیار آزمودنی‌ها قرار گرفت. از پودر ناشسته نیز به عنوان دارونما استفاده گردید. برای تحلیل استنباطی از آزمون آماری تحلیل کوواریانس استفاده گردیده است. نتایج آزمون کولموگراف اسمیرنوف نشان داد که سطح معنی داری برای NGF؛ $0/272$ و برای BDNF؛ $0/207$ بدست آمد نتایج آزمون z اسمیرنوف برای بیماران در هیچ یک از متغیرها معنی‌دار نبود. عدم معنی‌داری این آزمون نشان دهنده این است که داده‌ها دارای توزیع پراکندگی نرمال می‌باشد. همچنین برای بررسی همسانی واریانس‌های خطا از آزمون لوین استفاده شد. در این آزمون سطح معنی داری برای NGF؛ $0/902$ و برای BDNF؛ $0/189$ بدست آمد همانطور که مشاهده می‌شود سطح معناداری تمامی متغیرهای پژوهش بالاتر از $0/05$ بدست آمده است. یعنی بین واریانس‌های خطا در متغیرهای پژوهش هیچ



**افزایش معنی دار نسبت به پیش آزمون، **افزایش معنی دار نسبت به گروه‌های پژوهش

نمودار ۱- مقایسه میانگین پیش آزمون، پس آزمون NGF در گروه‌های تحقیق



**افزایش معنی دار نسبت به پیش آزمون، **افزایش معنی دار نسبت به گروه‌های پژوهش

نمودار ۲- مقایسه میانگین پیش آزمون، پس آزمون BDNF در گروه‌های تحقیق

تمرینات ورزشی شامل شنا و دویدن روی نوار گردان بر روی سطح NGF در مغز موش‌ها پرداخته اند آنها عنوان کردند تمرین اجباری چه از نوع شنا و یا دویدن روی نوار گردان به مدت ۸ هفته و هفته ای پنج روز با شدت ۲۰ متر در دقیقه می‌تواند موجب افزایش سطوح NGF و در نتیجه یک عامل حفاظتی در برابر بیماری‌های عصبی باشد (۲۵). یان سان لاو (Lu) و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی به بررسی اثرات محافظتی ورزش اجباری روی ترمیل بر آزمودنی‌های پارکینسونی پرداخت. در این تحقیق سطوح TH، DA و NGF در گروه تمرین افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشته است (۲۶). یکی از مکانیزم‌های اثر مکمل گانودرمالوسیدیم بر روی بیماری پارکینسون، افزایش سطوح NGF بود که یک عامل حفاظتی برای

(NGF, BDNF) تفاوت معناداری بین گروه‌ها، وجود دارد.

بحث

پارکینسون یکی از بیماری‌های شایع و پیشرونده‌ی سیستم اعصاب مرکزی است، که با علائمی مانند کندی حرکت، سفتی و سختی عضلات، لرزش، اختلال تعادل و کاهش پیشرونده در عملکرد حرکتی همراه است این بیماری که به طور عمده در افراد بالای ۵۰ سال بروز می‌نماید، یکی از علل شایع ناتوانی در سالمندان است. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین سطح پلاسمایی NGF در گروه‌های دارو، تمرین و دارو-تمرین در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد. چای (Chi) و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی اثر حفاظتی دو نوع

بهتر آن پس از یک دوره یک هفته ای مرتبط است (۳۰). جانسون (Johnson) و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیقی که تاثیر دوییدن اختیاری روی BDNF موش‌ها را مورد بررسی قرار دادند دریافتند که پیروی از الگوی ۷ شب دوییدن در گروه تجربی، افزایش معنی‌داری در BDNF نشان داد (۲۸). نتایج این تحقیق حاکی از آن است که تغییر پذیری عصبی ناشی از ورزش به طور بالقوه ای افزایش می‌یابد. گانودرمالوسیدم به عنوان داروی جایگزین برای تقویت سلامتی به مدت ۱۰۰۰ سال در چین مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات نشان داده اند که اجرای عصاره گانودرمالوسیدم دارای طیف گسترده‌ای از اقدامات دارویی از جمله ایمن سازی، سرکوب التهاب، ترویج تولید انرژی میتوکندری و اصلاح رادیکال‌های آزاد است (۳۱). به‌طور تجربی، عصاره‌های GL نشان داده شده است که دارای فعالیت‌های ضد ایمنی، ضد التهابی، ضد اکسید کننده و فعالیت‌های ضد توموری، و همچنین اثرات محافظت کننده عصبی هستند (۳۱ و ۳۲). شواهد در حال رشد نشان می‌دهد که طیف وسیعی از گیاهان چینی یا عصاره‌های گیاهی مانند پلی فنول‌های چای سبز (۳۳)، جینسنوزید (۳۴)، جینکو بیلوبا (۳۵) و پلی ساکاریدها پتانسیل محافظت در برابر دژنراسیون سلول‌های عصبی DA و جلوگیری از علائم پارکینسون را دارند (۳۶). علاوه بر این، مطالعات نشان داده اند که گیاهان چینی یا عصاره‌های گیاهی ممکن است باعث تقویت بقاء عصبی و رشد عصبی شوند و به دلیل توانایی آن‌ها به عنوان آنتی اکسیدان‌ها، مهار کننده حمل و نقل DA، مهار کننده مونوآمین اکسیداز، مهار کننده‌های رادیکال آزاد، شل کننده‌های مضر باعث بهبود عملکرد عصبی و مغزی مغز شوند. یون‌های فلزی، تعدیل ژن بقای سلول و سیگنالینگ، فعالیت ضد آپوپتوز و حتی بهبود گردش خون مغز شوند (۳۷). تحقیقات قبلی نشان می‌دهند که عصاره‌های گانودرما می‌توانند از افت عصبی بعد از ایسکمی مغزی جلوگیری کنند همچنین عصاره گانودرمالوسیدم می‌تواند در برابر انحطاط نورون‌های دوپامینرژیک محافظت کند و پاسخ التهابی سلول‌های میکروگلیال به محرک برون‌زا یا درون‌زا را کاهش دهد (۳۸). گانودرمالوسیدم به‌طور موثری از نورون‌های دوپامینرژیک در برابر آسیب‌های التهابی ناشی از فعال

نورون‌های عصبی محسوب می‌شود. بیماری پارکینسون یک آسیب اکسایشی در سلول‌های دوپامینرژیک ایجاد می‌کند. گزارش شده است که گانودرما می‌تواند باعث تحریک لیبوکسیژناز شود که یک عامل مهار ROS می‌باشد. همچنین عصاره گانودرمالوسیدم به واسطه توانایی در کاهش پراکسیداسیون لیپید می‌تواند موجب کاهش ROS در کبد شود (۲۷). ترکیب آثار ورزش با مکمل می‌تواند به صورت چند مکانیزم توضیح داده شود. اول، ورزش می‌تواند مسیر تولید NGF را به واسطه افزایش انرژی در دسترس سلول عصبی و بلوغ پیش سازهای NGF، تسهیل کند. دوم مکمل عصاره گانودرمالوسیدم می‌تواند به واسطه مسرهای هسته ای یا کلاسیک و غیرهسته ای یا نئوکلاسیک بر بیان NGF در سلول‌های عصبی اثرگذار باشد (۲۷). لازم به ذکر است که ورزش از راه افزایش بیان گیرنده‌های NGF در سطح سلول، اثربخشی این عامل نوروتروفیک را افزایش می‌دهد از طرفی دیگر مصرف مکمل عصاره گانودرمالوسیدم نیز همین نقش را در مورد گیرنده P75 دارد. بنابراین مصرف مکمل گانودرمالوسیدم و تمرینات ورزشی می‌توانند در بیان و اثربخشی مکانیزم‌های عمل NGF در سلول‌های عصبی مکمل هم باشند.

همچنین نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین سطح پلاسمایی BDNF در گروه‌های دارو، تمرین و دارو-تمرین در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد. BDNF که از نورون‌ها در برابر آسیب و بیماری‌ها دفاع می‌کند نشانه‌هایی وجود دارد که BDNF فعالیت آنتی اکسیدانی نیز دارد. تنظیم فعالیت افزایشی BDNF و TrkB1 یک اثر آنتی اکسیدانی در مغز نشان داده است (۲۸). به عبارت دیگر، یکی از نقش‌هایی که برای BDNF قائل شده اند نقش آنتی اکسیدانی آن و افزایش مقاومت در برابر استرس اکسایشی می‌باشد (۲۹). BDNF با ورزش افزایش می‌یابد و نورون‌های سیستم عصبی مرکزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد این فاکتور تحریک پذیری انتقال سیناپسی را افزایش داده و انتقال سیناپسی مهارتی را کاهش می‌دهد. مطالعات حیوانی نشان داده اند که ورزش روزانه باعث رهاسازی نوروترنسمیترهای مختلف در مغز مانند دوپامین، نوراپی نفرین و بخصوص BDNF می‌شود که میزان رهایی فاکتور نوروتروپیم با افزایش سرعت یادگیری و حفظ

شود و تاثیر دراز مدت تمرین استقامتی و مصرف عصاره گانودرما لوسیدم بر این فاکتورها مقایسه شوند.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل رساله دکتری دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی با کد کارآزمایی بالینی IRCT20200708048053N1 و کد اخلاق IR.IAU.M.REC.1399.016 از دانشگاه آزاد اسلامی مرودشت می باشد. از کلیه افرادی که در این تحقیق با ما همکاری داشتند تشکر می نمایم.

References

1. Dias V, Junn E, Mouradian MM. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *J Parkinson's Dis.* 2013;3(4):461-491.
2. Reuter I, Leone P, Kaps M, Oechsner M, Engelhardt M. Effects of a Flexibility and Relaxation Programme, Walking, and Nordic Walking on Parkinson's Disease. *J Aging Res.* 2011;232473.
3. White LJ, Castellano V. Exercise and Brain Health—Implications for Multiple Sclerosis. *Sports Med.* 2008;38(2):91-100.
4. Vaynman S, Gomez-Pinilla F. License to run: exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins. *Neurorehabil Neural Repair.* 2005;19(4):283-95.
5. Forander P, Soderstrom S, Humpel C, Stromberg I. Chronic infusion of nerve growth factor into Rat striatum increases cholinergic markers and inhibits striatal neuronal discharge rate. *Eur J Neurosci.* 2010; 8: 1822-32.
6. Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Ya L, Kuo YM, Chen HI. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *Behav Brain Res.* 2013;197:246-249.
7. Hyman C, Hofer M, Barde YA, Juhasz M, Yancopoulos GD, Squinto SP. BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantianigra. *Lind Inc Tar.* 2002;23:10591-7.
8. Radak Z, Toldy A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int.* 2006;49(4):387-92.
9. Bhanu R, Julie J, Camille C. Exercise for people with Parkinson's: A practical approach. *J Pract Neurol Practneuro.* 2018;18(5):001930.
10. Wu SY, Wang TF, Yu L, Jen CJ, Chuang JI, Wu FS, et al. Running exercise protects the substantianigra dopaminergic neurons against

سازی میکروگلیا پس از قرار گرفتن در معرض MPP + و LPS محافظت می کند. همچنین یکی دیگر خواص و فواید درمانی عصاره گانودرمالوسیدم این است که در زمان مصرف این عصاره ماده‌ای به نام عامل نرون‌زای مغزی (BDNF) در مغز ترشح می‌شود که باعث تقویت نیروی عضلانی می‌شود. در صورت عدم ترشح BDNF ماهیچه‌ها تحلیل می‌روند. به این ترتیب از کاهش نیرو بر اثر کهولت سن و بیماری پیشگیری می‌کند و از این طریق خطر تحلیل ماهیچه‌ها به خصوص در افراد پارکینسونی را کاهش می‌دهد (۳۹).

نتیجه‌گیری

به طور کلی یافته‌های این تحقیق نشان داد تمرینات استقامتی همسو با مصرف عصاره گانودرما می تواند آثار مطلوبی برافزایش سطوح خونی BDNF و NGF و در نتیجه کاهش علائم پارکینسونی داشته باشد و باعث بهبود و ارتقاء سلامتی آنان شود. بنابراین تجویز تمرینات ورزشی به ویژه از نوع استقامتی، به دلیل اثرگذاری آن بر کاهش علائم پارکینسون، فقدان عوارض جانبی و تأثیر آن بر ارگان‌های دیگر، می تواند به عنوان یک راهکار سازنده در جهت بهبود سلامت این افراد در جامعه به کار گرفته شود. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق این نتیجه روشن می‌شود که مصرف عصاره گانودرمالوسیدم می‌تواند به عنوان یک ابزار پیش درمان بدون عارضه و دارای بیشترین اثربخشی در مقایسه با داروهای شیمیایی دیگر مورد استفاده قرار گیرد که با شناسایی مواد موثره و ترکیبات ارزشمند گیاهان چینی و عصاره‌های گیاهی که با اثر بر شاخص‌های عصبی پلاسمای افراد پارکینسونی به بهبود این بیماران کمک می‌کند، استراتژی‌های جدید دارویی در برابر PD کشف شود. امید است در آینده نزدیک درمان‌های بهتری از این مطالعات حاصل شود. محدودیت عمده پژوهش حاضر کوتاه بودن دوره تمرینی و همچنین کوچک بودن حجم نمونه بود که می‌تواند بر اعتبار بیرونی تحقیق تاثیرگذار باشد. در تحقیق حاضر اندازه گیری پیگیری انجام نشد، در نتیجه اثر دراز مدت این نوع تمرینات مشخص نمی‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی از آزمون پیگیری نیز استفاده

inflammation- induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. *Brain Behav Immun*. 2011;25(1):135-146.

11. Farooqui AA. *Inflammation and Oxidative Stress in Neurological Disorders*. Springer International Publishing Switzerland. 2014;978-3-319-04111-7-5:160-4.

12. Fallahmohammadi Z, Cheraghian M, Nejadvazirichatroudi A. Effect of exercise on Mesencephalic astrocyte derived neurotrophic factor levels in the striatum of Rats suffering from Parkinsons. *J Shahrekord Uni Med Sci*. 2016;18:55-62. (Persian).

13. Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, Kondo A, Yuan W, Kadota T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinsons diseases model of rats. *Brain Res*. 2010;15:1310.

14. Barzegar H, Wassadi E, Bargayanfard M. Effect of different exercise exercises on the Rat neutropic-derived agent. *Sport Physiol J*. 2015;24:99-108. (Persian)

15. Abrishamdar M. The effect of hydroalcoholic extract of lavender on locomotion in Parkinson's disease-like male rats. (2012). Master Thesis in Biology, Shahid Chamran University, Ahvaz, Faculty of Science (Persian).

16. Gao JJ, Min BS, Ahn EM, Nakamura N, Lee HK and Hattori M. New triterpene aldehydes, Lucialdehydes A-C from *G. lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 2012;50:837- 40.

17. Smith J, Rowan N, Sullivan R. *Medicinal mushrooms. Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer research UK, The University of Strathclyde in Glasgow*. 2012, 256 p.

18. Badalyan SM, Gharibyan NG and Kocharyan AE. Perspective in usage of bioactive substances of medicinal mushrooms in Pharmaceutical and cosmetic 129nstitut. *Int J Med Mushr*. 2017;9(3, 4):275.

19. Wolf-dieter Rausch S, Gabriele Gille. Neuroprotective effect of ginsenosides. *Neurobiol experiment*. 2016;66:369-75.

20. Qi Tan, Mushroom biology and mushroom product. Jiangcong Zhang, Mingji chen, Hui Cao 129ns J. A. Buswell. *Edibe Fungi 129nstitute*. 2015, Shanghi.

21. Ren ZL, Wang CD, Wang T, Ding H, Zhou M, Yang N, Liu YY, Chan P. Ganoderma lucidum extract ameliorates MPTP-induced parkinsonism and protects dopaminergic neurons from oxidative stress via regulating mitochondrial function, autophagy, and apoptosis. *Acta Pharmacol Sin*. 2018 Jul 10.

22. Goetz CG, Fahn S, Martinez-Martin P, Poewe W, Sampaio C, Stebbins GT, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS):

Process, format, and clinimetric testing plan. *Mov Disord*. 2007;22(1):41-7

23. White L, McCoy S, Castellano V, Gutierrez G, Stevens J, Walter G, et al. Resistance training improves strength and functional capacity in persons with multiple sclerosis. *Multiple Scleros* 2004;10(6):668-74.

24. Ren ZL, Wang CD, Wang T, Ding H, Zhou M, Yang N, Liu YY, Chan P. (2018). Ganoderma lucidum extract ameliorates MPTP-induced parkinsonism and protects dopaminergic neurons from oxidative stress via regulating mitochondrial function, autophagy, and apoptosis. *Acta Pharmacol Sin*. 2018 Jul 10.

25. Chi YH, Paeng SK, Kim MJ, Hwang GY, Melencion SMB, Oh HT, et al. Redox-dependent functional switching of plant proteins accompanying with their structural changes. *Frontiers Plant Sci*. 2013;4.

26. Yuen-Sum Lau GP, Kaberi Das-Panja, Wei-Dong Le and S. Omar Ahmad. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *Eur J Neurosci*. 2011;33:1264-74.

27. Sargzi F. Investigation of biological properties and some chemical properties of Ganoderma lucidum, (2015). Master Thesis in Plant Ecology, Biosystematic, Shahid Beheshti University (Persian).

28. Johnson RA, Rhodes JS, Jeffrey SL, Garland Jr T, Mitchell GS. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin- 3 increase more in mice selected for increased voluntary wheel running. *Neuroscience*. 2013;121:1-7.

29. Ooyama K, Wu J, Nosaka N, Aoyama T, Kasai M. Combined intervention of Medium-chain Triacylglycerol Diet and Exercise Reduces body fat mass and enhances energy expenditure in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2018:239-0832.

30. Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A., High impact ruuning improves learning. *Neurobiol Learn Memory*. 2017;87:597-609.

31. Lai KN, Chan LYY, Tang SCW, Leung JCK. Ganoderma extract prevents albumin-induced oxidative damage and chemokines synthesis in cultured human proximal tubular epithelial cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;21:1188-1197.

32. Lindequist U, Niedermeyer THJ, Julich WD. The pharmacological potential of mushrooms. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005;2(3):285-299, 2015.

33. Pan T, Jankovic J, Le W. Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. *Drugs Aging*. 2003;20(10):711-721.

34. Van Kampen J, Robertson H, Hagg T, Drobitch R. Neuroprotective actions of the ginseng extract G115 in two rodent models of Parkinson's disease.

Experim Neurol. 2003;184(1):521–529.

35. Kim MS, Lee JI, Lee WY, Kim SE. Neuroprotective effect of Ginkgo biloba L. extract in a rat model of Parkinson's disease. *Phytother Res.* 2004;18:663–666.

36. Ebadi M, Srinivasan SK, Baxi MD. Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease, *Progress Neurobiol.* 2006;48(1):1–19.

37. Radad K, Gille G, Moldzio R, Saito H, Ishige K, Rausch WD. Ginsenosides Rb1 and Rg1 effects on survival and neurite growth of MPP +-affected mesencephalic dopaminergic cells. *J Neural Trans.* 2014;111(1):37–45.

38. Xiu-shu D, De-ming A. Protective effect of lingzhizongdai against nerve cell damnification. *Modern Med Hyg.* 2014;20:1576–1577.

39. Keypour S, Riahi H, Rafati H. A review of the biologically active compounds and therapeutic properties of *Ganoderma lucidum*. *Q J Med Plants.* 2012;2(46):13-24.