

علوم زیستی ورزشی - بهار ۱۳۹۹
دوره ۱۲، شماره ۱، ص: ۶۷ - ۷۸
تاریخ دریافت: ۹۸ / ۰۹ / ۰۵
تاریخ پذیرش: ۹۸ / ۱۰ / ۱۷

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی بر میزان پروتئین‌های کلوتو، پروتئولپید پروتئین و فاکتور نکروز توموری آلفا در بافت مخچه موش‌های سالم

فتانه فرهنگ‌مندی^۱ - مریم نورشاهی*^۲ - مریم سلیمانی^۳ - حمید رجبی^۴ - کوین پاور^۵

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. ۲. دانشیار دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. ۳. استادیار دانشگاه بهزیستی و توانبخشی، تهران، ایران. ۴. دانشیار دانشکده تربیت بدنی و علم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران. ۵. استاد دانشگاه مموریال، سنت جانز، کانادا

چکیده

امروزه در تحقیقات بسیاری نشان داده شده است که تمرینات ورزشی به سلامت و بهبود عملکرد مغز منجر می‌شود. همچنین ممکن است مسیرهای عصبی و نورولوژیکی را در مغز افزایش دهند. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول تا ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه در هفته آخر بر میزان کلوتو، TNF- α و PLP بافت مخچه موش‌های سالم بود. بدین منظور، تعداد ۲۰ سر موش ماده به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین (n=۱۰) و کنترل (n=۱۰) تقسیم شدند. در گروه تمرین، حیوانات ۸ هفته تمرین تناوبی بر تردمیل را اجرا کردند. ابتدا به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۶ متر بر دقیقه دویدند و هر ۳ دقیقه یک‌بار، ۳ متر بر دقیقه به‌سرعت تردمیل اضافه شد تا زمانی‌که قادر به حفظ این شدت نباشند. آخرین تلاش هر موش به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد. در نهایت، پروتکل تمرینی به مدت ۸ هفته ۵ جلسه در هفته اجرا شد. از روش وسترن بلات به‌منظور اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون t مستقل در سطح معناداری $P \leq 0/05$ تجزیه تحلیل شدند. نتایج تحقیق نشان داد، تمرین تناوبی به افزایش میزان کلوتو ($P \leq 0/01$)، PLP ($P \leq 0/05$) و کاهش میزان TNF- α ($P \leq 0/05$) در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل منجر شد. در نهایت می‌توان گفت ۸ هفته تمرین تناوبی میزان پروتئین‌های میلیون‌ساز را افزایش و میزان TNF- α را کاهش داد. به‌نظر می‌رسد تمرین ورزشی با افزایش در بیومارکرهای میلیون‌ساز، نقش مهمی در حفاظت از سیستم اعصاب مرکزی دارد.

واژه‌های کلیدی

پروتئولپید پروتئین، تمرین تناوبی، فاکتور نکروز توموری آلفا، کلوتو.

مقدمه

امروزه در تحقیقات بسیاری نشان داده شده است که تمرینات ورزشی به سلامت و بهبود عملکرد مغز منجر می‌شود؛ همچنین ممکن است مسیرهای عصبی و نورولوژیکی را در مغز افزایش دهند. حفظ سلامت مغز برای پیشگیری از بسیاری از بیماری‌های سیستم اعصاب مرکزی امری ضروری به نظر می‌رسد (۱). بنابراین، مطالعات مختلف در پی کشف برخی فاکتورهایی هستند که بتوانند عملکرد سیستم عصبی را در افراد افزایش دهند. یکی از جدیدترین فاکتورها در این زمینه، پروتئینی به نام کلوتو است که نقش مهمی در سلامت میلین دارد و نقش درمانی مؤثری در بسیاری از بیماری‌های سیستم اعصاب مرکزی دارد (۲،۳).

پروتئین کلوتو به‌طور عمده در کلیه بیان می‌شود، اما بیان کلوتو در دو ناحیه متفاوت از مغز به نام سلول‌های اپن‌دیمال شبکه کرونید و نورون‌های پورکنز مخچه در بالاترین سطح است و به نظر می‌رسد در سایر نواحی مغز مانند هیپوکامپ و قشر مغز وجود دارد؛ اما بیان آن بسیار کم است. کلوتو بی‌شک نقش بسیار مهمی در عملکرد کلیه ایفا می‌کند، با وجود این عملکردهای عصبی کلوتو نیز بسیار مهم‌اند (۴، ۵) مطالعات نشان داده‌اند که با افزایش سن و همچنین در بیماران مبتلا به ام اس و آلزایمر، میزان آن کاهش می‌یابد (۶، ۷). همچنین به نظر می‌رسد کلوتو به مهار بیان فاکتور نکروزی توموری آلفا^۲ و کاهش در فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپا^۱ به‌عنوان فاکتورهای پیش‌التهابی در سیستم عصبی منجر می‌شود (۸، ۹).

مطالعات نشان داده‌اند کلوتو در سلول‌های الیگودندروسیت به‌عنوان سلول‌های اصلی میلین‌ساز از طریق اتصال به گیرنده تیروزین کینازی خود که احتمالاً در الیگودندروسیت‌ها قرار دارد، به فسفوریله شدن مسیرهای پروتئین کیناز بی^۱ منجر می‌شود و در نهایت با افزایش در بیان پروتئین‌های پروتئولیبید پروتئین^۵ و پروتئین اساسی میلین^۶ به‌عنوان پروتئین‌های میلین‌ساز- همراه خواهد بود (۱۰، ۱۱).

PLP پنجاه درصد پروتئین اصلی میلین را که توسط الیگودندروسیت تولید می‌شود، در سیستم اعصاب مرکزی تشکیل می‌دهد و نقش ساختاری مهمی در غلاف میلین ایفا می‌کند. این پروتئین در رتیکولوم سارکوپلاسمیک سنتز و توسط دستگاه گلژی بسته‌بندی شده و در طی فرایند انتقال وزیکولی

1. Ependymal cells choroid plexus
2. TNF- α
3. Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
4. AKT
5. PLP
6. MBP

وارد غشای میلین می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که نقص ژنتیکی پروتئین PLP موش‌های آزمایشگاهی، به اختلالات حرکتی منجر می‌شود که نقش حیاتی در حفظ ساختار غشای میلین دارد (۱۳، ۱۲). در خصوص تأثیر فعالیت ورزشی بر میزان کلوتو و فاکتورهای مربوط به میلین، تحقیقات بسیار کمی انجام گرفته است. در تحقیقی مستفیدی^۱ و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که سطوح کلوتو در افراد تمرین‌کرده سالم در مقایسه با گروه غیرفعال بیشتر است و فعالیت ورزشی هوازی منظم از طریق افزایش در α -PGC1 به افزایش در میزان کلوتو در این ورزشکاران منجر می‌شود (۱۴). نیکون^۲ و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که سه ماه برنامه تمرین هوازی تناوبی و تداومی در موش‌ها از طریق کاهش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن^۳ به افزایش در میزان کلوتو در بافت مغز و کلیه منجر شد (۱۵).

در مورد اثر فعالیت ورزشی بر PLP، برناردز^۴ و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۱۶) نشان دادند ۶ هفته تمرین شنا در موش‌ها، قبل از القای بیماری ام اس به کاهش علائم بیماری از مرحله شروع تا اوج بیماری، کاهش $\text{TNF-}\alpha$ ، افزایش در فاکتور نروتروفیک مشتق مغز^۵ و افزایش در PLP و MBP به‌عنوان پروتئین‌های درگیر در میلین‌سازی منجر شد (۱۶، ۱۷). همان‌طور که مطرح شد، کلوتو به‌عنوان فاکتور مؤثر در میلین‌سازی نقش دارد و از آنجا که به‌نظر می‌رسد این فاکتور تحت تأثیر فعالیت ورزشی قرار دارد، محقق در پی پاسخگویی به این پرسش است که آیا تمرین تناوبی دوییدن در موش‌ها می‌تواند به افزایش در میزان کلوتو و پروتئین‌های درگیر در میلین‌سازی منجر شود؟

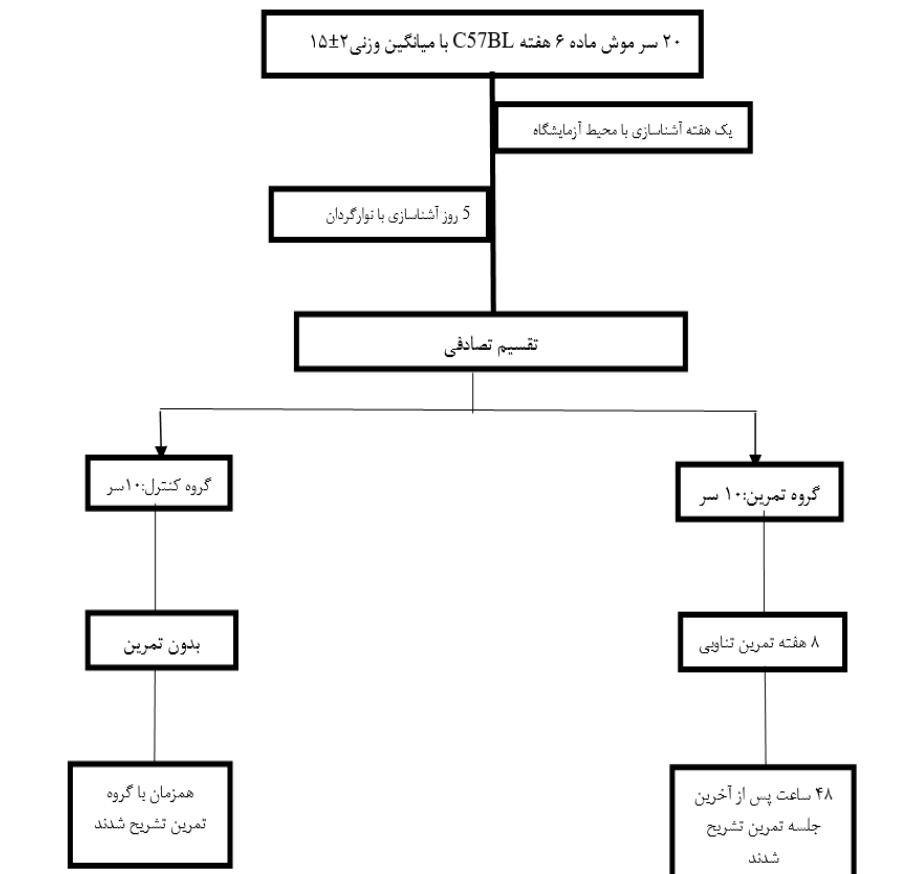
روش تحقیق

نمونه‌ها

در این پژوهش که از نوع بنیادی و به روش تجربی اجرا شد، ۲۰ سر موش ماده شش‌هفته‌ای C57BL/6 با میانگین 2 ± 15 گرم از انستیتو رازی کرج خریداری و در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند.

-
1. Mostafidi
 2. Naichun
 3. ROS
 4. Bernardis
 5. BDNF

تمامی حیوانات به آب و غذای مخصوص موش دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و تشریح موش‌ها براساس نظر کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفت. حیوانات پس از آشناسازی با محیط آزمایشگاه، به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین (EX, n=10) و گروه کنترل (Cont., n=10) تقسیم شدند. در گروه EX موش‌ها ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول تا ۱۱۰ درصد سرعت بیشینه در هفته آخر را بر تردمیل اجرا کردند (شکل ۱).



شکل ۱. طرح شماتیک از گروه‌بندی تحقیق

پروتکل تمرین

در ابتدا در مرحله آشناسازی، موش‌ها دو بار در روز و به مدت ۵ روز و هر روز ۱۰ دقیقه با شیب صفر و سرعت ۸ متر بر دقیقه روی تردمیل راه رفتند. پس از پایان دوره آشناسازی، موش‌ها تست فزاینده

پلکانی را اجرا کردند که به‌منظور به‌دست آوردن حداکثر سرعت موش‌ها در نظر گرفته شد. ابتدا به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۶ متر بر دقیقه دویدند و هر ۳ دقیقه یک‌بار، ۳ متر بر دقیقه به‌سرعت تردمیل اضافه شد تا زمانی که قادر به حفظ این شدت نبودند. آخرین تلاش هر موش به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد. در نهایت، پروتکل تمرینی به مدت ۸ هفته ۵ جلسه در هفته اجرا شد. در ابتدا به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد سرعت بیشینه، برای گرم کردن و پس از آن با شدت ۴۰-۵۰ درصد حداکثر سرعت، برای سرد کردن روی نوار گردان دویدند (۱۸، ۱۹) (جدول ۱).

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی شدید

روز	سرعت ریکاوری	سرعت حداکثر سرعت دویدن (V max)	زمان (min)	هفته	HIIT
۵-۱	۹متر بر دقیقه	۲۲متر بر دقیقه	۱۶	۱	2interval-2min80% Vmax/ 40% Vmax
۵-۱	۱۰متر بر دقیقه	۲۴متر بر دقیقه	۲۴	۲	4interval-2min90% Vmax/ 40% Vmax
۵-۱	۱۱متر بر دقیقه	۲۶متر بر دقیقه	۳۲	۳،۴،۵	6interval-2min100% Vmax/ 40% Vmax
۵-۱	۹متر بر دقیقه	۲۹متر بر دقیقه	۳۸	۶،۷،۸	8interval-2min110% Vmax/ 30% Vmax

وسترن بلات

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با ترکیبی از کتامین و زایلوزین بی‌هوش شدند و بافت مخچه به‌منظور اندازه‌گیری پروتئین‌های مربوطه خارج شد. پس از آماده شدن نمونه‌ها، پروتئین‌های موجود در بافت مخچه، توسط SDS-PAGE جداسازی شده و به غشا انتقال داده شد. غشا با آنتی‌بادی اختصاصی PLP (Cat NO. sc-58571, Santa Cruz, USA)، کلوتو (Cat NO. sc-22220, Santa Cruz, USA) و TNF- α (Cat NO. sc-130349, Santa Cruz, USA) مجاورت داده شد و پس از مجاورت غشا با آنتی‌بادی‌های ثانویه (Cat NO. sc-516102 and sc-2020, Santa Cruz, USA) نشاندار شد.

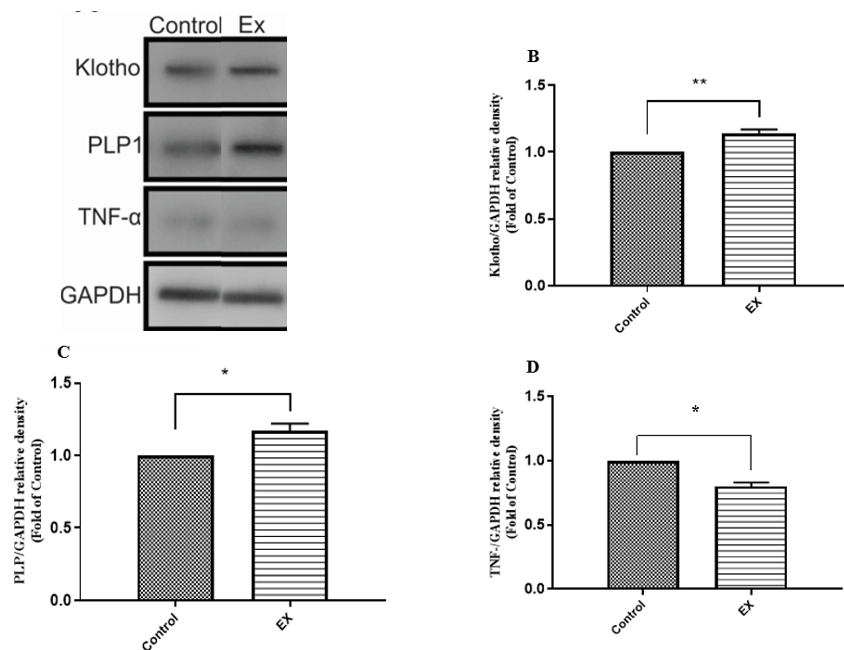
پروتئین‌های تفکیک‌شده بر روی ژل در شدت جریان ۵/۰ آمپر به مدت ۹۰ دقیقه به کاغذ نیتروسلولوز، به صورت پیوسته و مرطوب انتقال داده شد. در نهایت، غشا در محلول آنتی‌بادی ثانویه در بافر به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شد و دو بار با TBST و یک بار با PBS شست‌وشو انجام گرفت. غشا در مقدار کافی محلول سوبسترای TMB قرار داده شد تا زمانی که باندها ظاهر شد. واکنش با اضافه کردن آب مقطر متوقف شد و پس از ظاهر شدن باندها، با استفاده از نرم‌افزار Image J ارزیابی انجام گرفت.

روش تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های تحقیق با استفاده از نرم‌افزار آماری Prism با VER=5 انجام گرفت. طبیعی بودن داده‌ها به وسیله کولموگروف-اسمیرنوف مشخص شد. برای بررسی اختلاف معناداری سطوح کلوتو، TNF- α و PLP در گروه‌های تحقیق، از آزمون t مستقل استفاده شد. سطوح معناداری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و یافته‌های تحقیق

نتایج آزمون آماری t مستقل در تحقیق حاضر نشان داد، ۸ هفته تمرین تناوبی، به افزایش میزان کلوتو بافت مخچه در گروه EX در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($P \leq 0.01$) (نمودار 2-B).
نتایج آزمون آماری t مستقل در تحقیق حاضر نشان داد، ۸ هفته تمرین تناوبی، به افزایش میزان بافت مخچه در گروه EX در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($P \leq 0.05$) (نمودار 2-C).
نتایج آزمون آماری t مستقل در تحقیق حاضر نشان داد، ۸ هفته تمرین تناوبی، به کاهش میزان TNF- α بافت مخچه در گروه EX در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($P \leq 0.01$) (نمودار 2-D).



نمودار ۱. میزان کلوتو (B) PLP، (C) TNF-α (D) در بافت مخچه توسط وسترن بلات انجام گرفت. غلظت کلوتو و PLP به‌طور چشمگیری در گروه EX در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. غلظت TNF-α در گروه EX نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (D). مقادیر به‌عنوان میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش شد ($P \leq 0.01$ ، $** P \leq 0.05$)

بحث

مطالعات نشان داده‌اند تمرینات ورزشی تأثیرات مثبتی بر عملکرد سیستم عصبی دارند. مطالعات مختلفی نقش مهم پروتئین کلوتو و عملکرد آن را در میلین‌سازی عنوان می‌کنند. چن و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند، افزایش کلوتو به‌صورت آگروژنز، به افزایش در عملکرد و بلوغ الیگودندروسیت‌ها و افزایش در فرایند میلین‌سازی منجر می‌شود. همچنین ناک اوت کردن ژن کلوتو در موش‌ها، بیان ژن پروتئین‌های درگیر در میلین‌سازی را کاهش می‌دهد (۱۱). بنابراین، کلوتو می‌تواند به‌عنوان هدف درمانی برای بیماران مبتلا به ام اس قرار گیرد. در تحقیق حاضر به بررسی تأثیرات تمرین ورزشی بر سنتز پروتئین‌های درگیر در فرایند میلین‌سازی در بافت مخچه پرداخته شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد، ۸ هفته تمرین تناوبی، به

افزایش میزان کلوٲو، PLP و کاهش میزان TNF- α در بافت مخچه در گروه EX در مقایسه با گروه کنترل منجر شد (نمودار 2-B,C,D).

در خصوص اثر فعالیت ورزشی بر سطوح کلوٲو در بافت مغز، مطالعات بسیار محدودی انجام گرفته است. همسو با تحقیق حاضر، نیکون و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند سه ماه تمرین هوازی به‌طور چشمگیری موجب افزایش بیان کلوٲو شد. این نتایج نشان می‌دهد که تمرین هوازی از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، بیان کلوٲو در بافت مغز و کلیه را افزایش می‌دهد (۱۵). ماتسوبارا و همکاران (۲۰۱۴)، نشان دادند ۱۲ هفته تمرین هوازی، افزایش سطح کلوٲو در خون و کاهش سفتی شریان منجر می‌شود. به‌نظر می‌رسد فعالیت ورزشی از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و فعالیت گیرنده آنژیوتانسین نوع I به افزایش کلوٲو منجر می‌شود (۲۰). ساقیو و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر تمرینات هوازی بر میزان کلوٲو و IGF-1 سرم را در مردان مبتلا به بیماری عروق کرونری بررسی کردند. نتایج تحقیق نشان داد که سطوح کلوٲو و IGF-1 سرم، در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود (۲۱). مطابق تحقیقات انجام‌گرفته می‌توان گفت، در تحقیق ما، تمرین ورزشی احتمالاً از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و فعالیت گیرنده آنژیوتانسین نوع I، افزایش پروتئین کیناز فعال‌شده با آدنوزین مونوفسفات^۳ و PGC-1 α به افزایش در میزان کلوٲو منجر شده است (۲۴-۲۲، ۲۰-۱۴).

در مورد اثر فعالیت ورزشی بر میزان PLP، نتایج تحقیق حاضر افزایش میزان PLP را در گروه EX در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. PLP یک پروتئین کلیدی و مسئول میلیناسیون در سیستم اعصاب مرکزی است. موافق با تحقیق حاضر، یون^۴ و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند تعامل تمرین اختیاری دوییدن روی نوار گران به مدت ۷ هفته و رژیم غذایی چربی، به افزایش مقدار PLP و MBP به‌عنوان پروتئین‌های غشای اصلی میلین در نخاع منجر شد. شواهد ارائه‌شده حاکی از آن است که اثر متقابل ورزش و چربی در رژیم غذایی سبب افزایش سیرتیون-۴^۵، PGC-1 α و AKT می‌شود که ممکن به افزایش میلین‌سازی منجر شود (۲۵). همچنین Bernardes و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۱۶) نشان دادند ۶ هفته تمرین شنا در موش‌ها قبل از القای بیماری ام اس به کاهش علائم بیماری از مرحله شروع تا اوج بیماری، کاهش TNF α ،

-
1. Matsubara
 2. Saghiv
 3. AMPK
 4. YOON
 5. SIRT1

افزایش در BDNF و افزایش در PLP و MBP به‌عنوان پروتئین‌های درگیر در میلین‌سازی منجر شده است (۱۶، ۱۷).

در نهایت می‌توان گفت، یکی از سازوکارهای افزایش PLP ناشی از فعالیت ورزشی در تحقیق حاضر، افزایش در مسیرهای SIRT1، AKT و PGC-1 α است که با افزایش در مقدار پروتئین PLP به‌عنوان پروتئین میلین‌ساز، همراه خواهد بود (۱۱). همچنین با توجه به مطالعات قبلی به‌نظر می‌رسد، اتصال کلوتو به گیرنده خود در الیگودندروسیت‌ها و فعال شدن مسیر AKT، به افزایش پروتئین PLP منجر می‌شود. پس می‌توان گفت در تحقیق حاضر یکی از دلایل افزایش پروتئین PLP، مسیر بالادستی آن، یعنی افزایش در میزان کلوتو بوده است.

در خصوص اثر فعالیت ورزشی بر فاکتورهای پیش‌التهابی، نتایج تحقیق ما نشان داد تمرین تناوبی به کاهش مقدار TNF α در بافت مخچه انجامید. همسو با تحقیق حاضر، معین و همکاران (۱۳۹۶) به مطالعه تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی بر پروتئین کلوتو، IL-6 و TNF- α در بافت کلیه موش‌های صحرائی نر پرداختند. نتایج تحقیق آنها نشان داد، تمرین هوازی موجب افزایش پروتئین کلوتو و کاهش میزان IL-6 ترشحی بافت کلیه می‌شود. بنابراین می‌توان گفت احتمالاً تمرین هوازی، از طریق افزایش کلوتو علائم کهنسالی را به تأخیر می‌اندازد و واکنش‌های التهابی را کاهش می‌دهد (۲۶). مطالعات نشان دادند یکی از نقش‌های کلوتو توجه به نقش ضدالتهابی آن است. کلوتو به مهار TNF- α و NF-K β به‌عنوان فاکتورهای پیش‌التهابی در دستگاه عصبی منجر می‌شود (۲۷، ۸). برای اثبات این نکته در تحقیق حاضر، میزان تغییرات TNF- α اندازه‌گیری شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد، مقدار TNF- α در گروه EX در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود. پس می‌توان گفت یکی دیگر از دلایل جدید کاهش TNF- α در پی فعالیت ورزشی، افزایش در میزان کلوتو بوده است. از طرف دیگر، صرف‌نظر از تأثیر کلوتو، اثر ضدالتهابی بالقوه ورزش بر کاهش سیتوکین‌ها در مطالعات بسیاری اثبات شده است (۲۸-۳۰).

نتیجه‌گیری کلی

همان‌طور که مطرح شد، کلوتو به‌عنوان یک بیومارکر میلین‌ساز به‌نظر می‌رسد عامل مهمی در سلامت سیستم اعصاب مرکزی و کاهش علائم ناشی از این نوع بیماری‌هاست. بنابراین توجه به فعالیت ورزشی به‌عنوان یک عامل مهم غیردارویی در افزایش میزان کلوتو، نشان‌دهنده نقش مثبت فعالیت ورزشی برای

پیشگیری از بیماری‌هاست. بنابراین فعالیت ورزشی به‌منزله عامل مؤثری در افزایش فاکتورهای درگیر در میلین‌سازی و کاهش تخریب میلین در افراد نقش مهمی دارد.

منابع و مآخذ

1. White LJ, Castellano V. Exercise and brain health—implications for multiple sclerosis. *Sports medicine*. 2008;38(2):91-100.
2. Pavlatou M, Remaley A, Gold P. Klotho: a humeral mediator in CSF and plasma that influences longevity and susceptibility to multiple complex disorders, including depression. *Translational psychiatry*. 2016;6(8):e876.
3. Cararo-Lopes MM, Mazucanti CHY, Scavone C, Kawamoto EM, Berwick DC. The relevance of α -KLOTHO to the central nervous system: some key questions. *Ageing research reviews*. 2017;36:137-48.
4. Zeldich E, Chen C-D, Avila R, Medicetty S, Abraham CR. The anti-aging protein Klotho enhances remyelination following cuprizone-induced demyelination. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2015;57(2):185-96.
5. Mazucanti CH, Kawamoto EM, Mattson MP, Scavone C, Camandola S. Activity-dependent neuronal Klotho enhances astrocytic aerobic glycolysis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2019;39(8):1544-56.
6. Ahmadi M, Aleagha MSE, Harirchian MH, Yarani R, Tavakoli F, Siroos B. Multiple sclerosis influences on the augmentation of serum Klotho concentration. *Journal of the neurological sciences*. 2016;362:69-72.
7. Aleagha MSE, Harirchian MH, Lavasani S, Javan M, Allameh AJJoMN. Differential expression of klotho in the brain and spinal cord is associated with total antioxidant capacity in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. 2018;64(4):543-50.
8. Maekawa Y, Ishikawa K, Yasuda O, Oguro R, Hanasaki H, Kida I, et al. Klotho suppresses TNF- α -induced expression of adhesion molecules in the endothelium and attenuates NF- κ B activation. *Endocrine*. 2009;35(3):341-6.
9. Wolf I, Levanon-Cohen S, Bose S, Ligumsky H, Sredni B, Kanety H, et al. Klotho: a tumor suppressor and a modulator of the IGF-1 and FGF pathways in human breast cancer. *Oncogene*. 2008;27(56):7094.
10. Zeldich E, Chen C-D, Colvin TA, Bove-Fenderson EA, Liang J, Zhou TBT, et al. The neuroprotective effect of Klotho is mediated via regulation of members of the redox system. 2014;289(35):24700-15.
11. Chen C-D, Sloane JA, Li H, Aytan N, Giannaris EL, Zeldich E, et al. The antiaging protein klotho enhances oligodendrocyte maturation and myelination of the CNS. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(5):1927-39.

12. Baron W, Ozgen H, Klunder B, de Jonge JC, Nomden A, Plat A, et al. The major myelin-resident protein PLP is transported to myelin membranes via a transcytotic mechanism: involvement of sulfatide. *Molecular and cellular biology*. 2015;35(1):288-302.
13. Simons M, Krämer E-M, Thiele C, Stoffel W, Trotter J. Assembly of myelin by association of proteolipid protein with cholesterol- and galactosylceramide-rich membrane domains. *J Cell Biol*. 2000;151(1):143-54.
14. Mostafidi E, Moeen A, Nasri H, Hagjo AG, Ardalan M. Serum Klotho Levels in Trained Athletes. *Nephro-urology monthly*. 2016;8(1).
15. Ji N, Luan J, Hu F, Zhao Y, Lv B, Wang W, et al. Aerobic exercise-stimulated Klotho upregulation extends life span by attenuating the excess production of reactive oxygen species in the brain and kidney. *Experimental and therapeutic medicine*. 2018;16(4):3511-7.
16. Bernardes D, Brambilla R, Bracchi-Ricard V, Karmally S, Dellarole A, Carvalho-Tavares J, et al. Prior regular exercise improves clinical outcome and reduces demyelination and axonal injury in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of neurochemistry*. 2016;136:63-73.
17. Bernardes D, Oliveira-Lima OC, da Silva TV, Faraco CCF, Leite HR, Juliano MA, et al. Differential brain and spinal cord cytokine and BDNF levels in experimental autoimmune encephalomyelitis are modulated by prior and regular exercise. *Journal of neuroimmunology*. 2013;264(1-2):24-34.
18. Bartalucci A, Ferrucci M, Fulceri F, Lazzeri G, Lenzi P, Toti L, et al. High-intensity exercise training produces morphological and biochemical changes in adrenal gland of mice. 2012.
19. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiology & behavior*. 2015;147:78-83.
20. Matsubara T, Miyaki A, Akazawa N, Choi Y, Ra S-G, Tanahashi K, et al. Aerobic exercise training increases plasma klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2013;306(3):H348-H55.
21. Saghiv M, Sherve C, Ben-Sira D, Sagiv M, Goldhammer E. Aerobic Training Effect on Blood S-Klotho Levels in Coronary Artery Disease Patients. *Journal of Clinical & Experimental Cardiology*. 2016;7:1-4.
22. Santos-Dias A, MacKenzie B, Oliveira-Junior MC, Moyses RM, Consolim-Colombo FM, Vieira RP. Longevity protein klotho is induced by a single bout of exercise. *Br J Sports Med*. 2017;51(6):549-50.
23. Saghiv M, Sherve C, Ben-Sira D, Sagiv M, Goldhammer E. Aerobic training effect on blood s-Klotho levels in coronary artery disease patients. *J Clin Exp Cardiol*. 2016;7(8):464.
24. Saghiv M, Sherve C, Goldhammer E, Ben-Sira D, Sagiv M. Long Lasting Chronic Resistive Training Effects on Circulating S-Klotho and IGF-1. *Archives of Clinical and Biomedical Research*. 2017;1:69-75.

-
25. Yoon H, Kleven A, Paulsen A, Kleppe L, Wu J, Ying Z, et al. Interplay between exercise and dietary fat modulates myelinogenesis in the central nervous system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2016;1862(4):545-55.
 26. Moein A, Nikbakht H, Ghazalian F. The effect of aerobic training on Klotho protein and a selected of inflammatory indices in kidney of Male Rats. *Research in Medicine*. 2017;41(3):175-82.
 27. Buendía P, Ramírez R, Aljama P, Carracedo J. Chapter Five-Klotho Prevents Translocation of NFκB. *Vitamins & Hormones*. 2016;101:119-50.
 28. Dalgas U, Stenager E. Exercise and disease progression in multiple sclerosis: can exercise slow down the progression of multiple sclerosis? *Therapeutic advances in neurological disorders*. 2012;5(2):81-95.
 29. Ang E, Gomez-Pinilla F. Potential therapeutic effects of exercise to the brain. *Current medicinal chemistry*. 2007;14(24):2564-71.
 30. Ding Y-H, Mrizek M, Lai Q, Wu Y, Reyes R, Li J, et al. Exercise preconditioning reduces brain damage and inhibits TNF-α receptor expression after hypoxia/reoxygenation: an in vivo and in vitro study. *Current neurovascular research*. 2006;3(4):263-71.

The effect of 8 weeks of high intensity interval training on Klotho, PLP and TNF- α Cerebellum Tissue Female Mice

Fataneh Farahmand¹- Maryam Nourshahi*² - Maryam Soleimani³
- Hamid Rajabi⁴- Kouin Power⁵

1. Department of Biological Sciences in Sport and Health, Faculty of Sports Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran, 2. Department of Medical Basic Sciences, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences Tehran, Iran, 3 Department of Exercise Physiology, Sport Science Faculty, Kharazmi University, Tehran, Iran, 5. School of Human Kinetics and Recreation, Memorial University of Newfoundland, St. John's, NL, Canada
(Received:2019/11/26;Accepted:2020/01/17)

Abstract

Nowadays, many studies have shown that exercise improves brain health and performance and may also increase neurological pathways in the brain. The aim of the present study was to investigate the effect of 8 weeks of high intensity interval training (HIIT) on Klotho, PLP and TNF- α concentrations in mice. Female mice were randomly divided to exercise (EX) or control (Con) groups. In the EX group, animals performed 8-week of HIIT. Mice initially ran at 6 m/min for 3 min at 0% grade, with the speed progressively increasing by 3 m/min every 3 min until exhaustion - when the mice were unable to maintain the required running speed. The maximal speed obtained was then used to calculate the individualized running speed for mice in the EX group. HIIT involved treadmill running 5 days per week for the final 6 weeks. Klotho, PLP and TNF- α expressions were studied using Western blot. Mice in the EX group had a significant increase in klotho and PLP concentrations compared to the control group ($p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively). Also, in the exercise groups mice had a significant decrease in TNF- α concentrations in compared to the control group ($p \leq 0.05$). Our data demonstrate that HIIT increased klotho and PLP and decreased neuroinflammatory cytokines. These proteins are associated with increasing myelination and protect the central nerve system against neurodegenerative diseases.

Keyword

PLP, interval training, TNF- α , Klotho.

* Corresponding Author: Email: m-nourshahi@sbu.ac.ir ;Tel:+989126306358