

Comparison of the Effects of High-Intensity Interval Training and Activity in Motor Enriched Environment on the Expression of Leptin and Brain-Derived Neurotrophic Factor Proteins in the Hippocampal Tissue of Rats with Alzheimer's Disease

Marsa Mohammadi Shad¹, Mohammad Reza Kordi^{2✉}, Siroos Choobineh³

1. Department of Exercise Physiology, Kish International Campus, University of Tehran, Kish, Iran.
E-mail: marsamohammadi7@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: mrkordi@ut.ac.ir
3. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran.
E-mail: choobineh@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research

Article history:

Received:
16 July 2022
Received in revised form:
13 September 2022
Accepted:
20 September 2022
Published online:
22 June 2023

Keywords:

Alzheimer's Disease,
BDNF,
Forced Exercise,
Leptin,
Voluntary Activity.

ABSTRACT

Introduction: The effect of physical activity on some cognitive mechanisms in Alzheimer's Disease (AD) patients is not yet well understood. Therefore, this study aimed to compare the effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) and Motor Enriched Environment Activity (MEEA) on the expression of leptin and Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in the hippocampal tissue of rats with AD.

Methods: In this experimental study, 24 rats with AD were divided into AD control, HIIT, and MEEA groups. The Sham (SH) group was considered to evaluate the effect of surgery and saline injection and the Healthy control (HC) group was considered to evaluate the effect of AD induction. The HIIT group trained for eight weeks, five sessions per week, and each session consisted of nine 90-second intervals at 85% of maximum speed intensity, and the MEEA group was placed in special motor-enriched cages. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc tests were used to analyze the data ($P \leq 0.05$).

Results: The results showed that in the AD group, BDNF levels were lower ($P=0.001$), and leptin levels were higher ($P=0.001$) than in the HC group. In the HIIT group, leptin levels were lower ($P=0.005$), and BDNF levels were higher ($P=0.019$) than in the AD group. The two training groups showed no significant difference in leptin ($P=0.72$) and BDNF ($P=0.65$) levels.

Conclusion: Both HIIT and MEEA appear to be effective in improving neurotrophins and hippocampal metabolism, but the effect of HIIT is more favorable due to exercise-induced adaptation.

Cite this article: Mohammadi Shad M., Kordi MR., & Choobineh S. Comparison of the Effects of High-Intensity Interval Training and Activity in Motor Enriched Environment on the Expression of Leptin and Brain-Derived Neurotrophic Factor Proteins in the Hippocampal Tissue of Rats With Alzheimer's Disease. *Journal of Sport Biosciences*. 2023; 15 (2): 5-14. DOI: <https://doi.org/10.22059/jsb.2022.344465.1539>



Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under CC BY-NC 4.0.
| Web site: <https://jsb.ut.ac.ir/> | Email: jsb@ut.ac.ir.

Extended Abstract

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia and one of the main causes of death worldwide, which has become a major global health problem. Neuronal disorders in this progressive disease occur with the accumulation of Amyloid Beta ($A\beta$) outside the cell and the neuronal fibers, increasing the amount of hyperphosphorylated tau protein in different parts of the central nervous system such as the brain cortex, hippocampus, hypothalamus, and other parts of the brain. This process causes a metabolic disorder in the brain, leading to dysfunction and a decrease in the levels of neurotrophins. Based on the results of the studies, the occurrence of a disorder in some adipokines such as leptin in the hypothalamus causes a disturbance in appetite control and the amount of food intake, leads to a decrease in some neurotrophins such as BDNF, and finally disrupts the balance of nerve cell homeostasis. It seems that regular physical activities can increase the metabolism of fats and in this way improve leptin levels, and since the relationship between leptin and BDNF has been reported in studies, it seems that BDNF also increases after physical activity and have an effect on improving the structure of neuronal function. It seems that the changes in leptin and BDNF following physical activity still need more studies, also investigating the effect of the type of physical activity on these two variables in the brain tissue of animal models needs more research. Therefore, the present study was conducted to compare the effect of two types of forced exercise and voluntary activity in an enriched environment on the expression of leptin and BDNF proteins in the hippocampal tissue of rats with AD.

Methods

In this experimental study, 24 rats with AD were divided into AD control, HIIT, and MEEA groups. The Sham

(SH) group was considered to evaluate the effect surgery and saline injection and the Healthy control (HC) group was considered to evaluate the effect of AD induction. The HIIT group trained for eight weeks, five sessions per week, and each session consisted of nine 90-second intervals at 85% of maximum speed intensity, and the MEEA group was placed in special motor-enriched cages. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc tests were used to analyze the data ($P \leq 0.05$).

Results

The results showed that in the AD group, BDNF levels were lower ($P=0.001$), and leptin levels were higher ($P=0.001$) than in the HC group. In the HIIT group, leptin levels were lower ($P=0.005$), and BDNF levels were higher ($P=0.019$) than in the AD group. The two training groups showed no significant difference in leptin ($P=0.72$) and BDNF ($P=0.65$) levels.

Conclusion

Both HIIT and MEEA appear to be effective in improving neurotrophins and hippocampal metabolism, but the effect of HIIT is more favorable due to exercise-induced adaptation.

Ethical Considerations:

This study was approved by the research ethics committee of the University of Tehran

Funding:

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sector.

Authors' contribution:

Marsa Mohammadi: Conceptualization, Methodology, Investigation, Data curation, Formal analysis, Writing the original draft. **Mohammad Reza Kordi:** Project administration, Supervision, Writing, Review, and Editing. **Siroos Choobineh:** Writing and Review.

Conflict of interest:

The authors declare that there are no conflicts of interest.

مقایسه اثر تمرین تناوبی شدید و فعالیت در محیط غنی سازی شده حرکتی بر بیان پروتئین های لپتین و عامل نروتروفیک مشتق از مغز در بافت هیپوکامپ موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر

مرسا محمدی شاد^۱، محمدرضا کردی^۲، سیروس چوبینه^۳

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس بین المللی کیش دانشگاه تهران، کیش، ایران. رایانامه: marsamohammadi7@gmail.com

۲. نویسنده مسؤل، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: mrkordi@ut.ac.ir

۳. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: choobineh@ut.ac.ir

چکیده	اطلاعات مقاله
<p>مقدمه: تأثیر نوع فعالیت ورزشی بر برخی سازوکارهای شناختی در بیماران مبتلا به آلزایمر (AD) هنوز به خوبی شناخته نشده است. از این رو هدف تحقیق حاضر مقایسه اثر تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین در محیط غنی سازی شده حرکتی (MEEA) بر بیان پروتئین های لپتین و عامل تغذیه کننده مشتق از مغز (BDNF) در بافت هیپوکامپ موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر بود.</p>	<p>نوع مقاله: پژوهشی</p>
<p>روش پژوهش: در این تحقیق تجربی ۲۴ سر موش صحرایی مبتلا به AD به گروه های ۱. کنترل AD، ۲. گروه HIIT و ۳. گروه MEEA تقسیم شدند. گروه شم (Sh) برای بررسی اثر جراحی و تزریق سالین و گروه کنترل سالم (HC) برای بررسی اثر القای AD در نظر گرفته شد. گروه HIIT به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته و هر جلسه در ۹ تناوب ۹۰ ثانیه ای با شدت ۸۵ درصد سرعت بیشینه به تمرین پرداختند و گروه تمرین MEEA در قفس های ویژه غنی شده حرکتی قرار گرفتند. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آنالیز واریانس یکراهه همراه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد ($P \leq 0.05$).</p>	<p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۵</p> <p>تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۲۲</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۹</p> <p>تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۴/۰۱</p>
<p>یافته ها: نتایج نشان داد در گروه AD، سطوح BDNF ($P=0.001$) پایین تر و سطوح لپتین ($P=0.001$) بالاتر از گروه HC بود. در گروه HIIT سطوح لپتین ($P=0.005$) پایین تر و سطوح BDNF ($P=0.019$) بالاتر از گروه AD بود. اختلاف معناداری در لپتین ($P=0.072$) و BDNF ($P=0.065$) بین دو گروه تمرینی مشاهده نشد.</p>	<p>کلیدواژه ها:</p> <p>فعالیت اجباری، فعالیت اختیاری، لپتین، عامل نروتروفیک مشتق از مغز، آلزایمر.</p>
<p>نتیجه گیری: به نظر می رسد HIIT و MEEA هر دو در بهبود نروتروفین ها و سوخت و ساز هیپوکامپ مؤثرند، اما تأثیر تمرین تناوبی شدید به دلیل سازگاری ناشی از فعالیت ورزشی مطلوب تر است.</p>	

استناد: محمدی شاد، مرسا؛ کردی، محمدرضا؛ و چوبینه، سیروس. مقایسه اثر تمرین تناوبی شدید و فعالیت در محیط غنی سازی شده حرکتی بر بیان پروتئین های لپتین و عامل نروتروفیک مشتق از مغز در بافت هیپوکامپ موش های صحرایی مبتلا به آلزایمر. نشریه علوم زیستی ورزشی، ۱۴۰۲؛ (۲) ۱۵-۱۴.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jsb.2022.344465.1539>

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



© نویسندگان.

ناشر: انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین علت زوال عقل و از علل اصلی مرگ‌ومیر در سراسر جهان است که به‌عنوان مشکل اصلی برای بهداشت جهانی تبدیل شده است [۱]. در پاتولوژی این بیماری عوامل چندگانه‌ای مانند سن، جنسیت، ژنتیک، تغذیه، سبک زندگی و ... دخالت دارند؛ لذا با توجه به ارتباط سن با ابتلا به AD و افزایش سن جمعیت جهانی، سازمان جهانی بهداشت عنوان کرد تا سال ۲۰۵۰ تعداد افراد مبتلا به اختلال شناختی از ۵۰ میلیون نفر به ۱۵۲ میلیون نفر خواهد رسید [۲]. علاوه بر این تحقیقات گزارش شده است اختلالات نورونی در این بیماری پیش‌رونده با تجمع آمیلوئید بتا در خارج سلول و شکنج‌های تارهای نورونی، افزایش مقادیر پروتئین هایپرفسفریله تاو^۳ در بخش‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی مانند کورتکس مغز، هیپوکامپ، هیپوتالاموس و دیگر قسمت‌های مغز اتفاق می‌افتد، که این روند با ایجاد اختلال متابولیکی در مغز به اختلال در عملکرد و کاهش سطوح نوروتروفین‌ها منجر می‌شود [۳]. بر اساس نتایج تحقیقات، افزایش وزن چربی و بروز اختلال در سایتوکاین‌ها و آدیپوکاین‌ها مانند لپتین می‌شود؛ همچنین اختلال در عملکرد لپتین در هیپوتالاموس با اختلال در کنترل اشتها، میزان غذای دریافتی کاهش بیان ژنی برخی نوروتروفین‌ها مانند عامل تغذیه‌کننده مشتق از مغز^۴ (BDNF) و در نهایت بر هم خوردن تعادل هموستازی سلول عصبی می‌شود [۴، ۵]. علاوه بر این در تحقیق‌هایی نیز بیان شد که هموستاز گلوکز و انسولین با BDNF در ارتباط است و اختلال در این پروتئین در سرم با اختلال در سوخت‌وساز چربی‌ها، قندها و همچنین افزایش شاخص توده بدنی در ارتباط است که این مسئله نیز از مسیر اختلال در هورمون لپتین می‌تواند به اختلال در سیستم عصبی مرکزی منجر شود [۶].

با توجه به شیوع روزافزون این بیماری و نیاز به راهکارهای درمانی غیردارویی و غیرتهاجمی امروزه توجه محققان به تأثیر فعالیت‌های بدنی بر این بیماری جلب شده است؛ به‌گونه‌ای که گزارش شده است که فعالیت‌های ورزشی منظم با افزایش توان حرکتی، افزایش کیفیت زندگی، افزایش بتا-اندروفین‌ها، افزایش نوروتروفین‌ها و بهبود متابولیک مغز می‌توانند به این بیماران کمک کنند [۷]. به‌نظر می‌رسد فعالیت‌های بدنی منظم بتواند موجب افزایش متابولیسم چربی‌ها و از این مسیر بهبود مقادیر لپتین شود. از آنجا که ارتباط بین لپتین و BDNF در تحقیقات گزارش شده است به‌نظر می‌رسد BDNF نیز در پی انجام تمرینات ورزشی افزایش یابد و در بهبود ساختار عملکرد نورونی تأثیر داشته باشد. در این زمینه در مطالعه‌ای فراتحلیلی، عنوان شده است، کاهش کالری دریافتی و انجام فعالیت بدنی وابسته به شدت، نوع و طول دوره ورزش می‌تواند بر سطوح BDNF و بهبود متابولیسم مغز در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ اثرگذار باشد [۸]؛ همچنین محققان تغییرات BDNF و نشانگرهای متابولیکی را وابسته به روش‌های کاهش وزن دانستند و عنوان کردند که سطوح در گردش BDNF در زنان وابسته به مقدار کالری دریافتی و فعالیت بدنی افراد مرتبط است و در مردان تنها به انجام فعالیت بدنی وابسته است؛ همچنین نشان دادند ۱۲ هفته تمرین ورزشی و رژیم غذایی کم‌کالری به‌تنهایی و ترکیبی موجب کاهش سطوح BDNF سرمی در مردان و زنان چاق و دارای اضافه وزن شد، اما هر دو مداخله نیز موجب کاهش وزن شد [۹]؛ اعتقاد بر این است تمرینات شدید و اجباری ورزشی نتایج ضدونقیضی بر سیستم عصبی دارند [۸]؛ برای مثال تمرین اجباری و اجباری موجب بهبود حافظه در موش‌های صحرایی مبتلا به AD شد [۱۰]؛ اما در تحقیقی در مقایسه تمرین هوازی و مقاومتی محققان بیان کردند، تمرین هوازی موجب افزایش بیان نوروتروفین‌ها شد، اما تمرین مقاومتی اثر معناداری بر افزایش آن نداشته است [۱۱].

با توجه به نتایج ضدونقیض درباره تأثیر نوع تمرین وابسته به کالری دریافتی، به‌نظر می‌رسد تغییرات لپتین و BDNF متعاقب فعالیت بدنی هنوز به مطالعات بیشتری نیاز دارد. همچنین بررسی تأثیر نوع فعالیت‌های بدنی بر این دو متغیر در بافت مغز نمونه‌های حیوانی نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد. از این رو تحقیق حاضر با هدف مقایسه اثر دو نوع تمرین اجباری و فعالیت اجباری در محیط غنی‌شده حرکتی بر بیان پروتئین‌های لپتین و BDNF در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر انجام گرفته است.

1. Alzheimer's disease (AD)

2. amyloid β (A β)

3. Tau hyperphosphorylated protein

4. Brain-derived neurotrophic factor

روش‌شناسی پژوهش

روند اجرای پژوهش

در این کارآزمایی تجربی و بنیادی با طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل ابتدا ۴۰ سر موش صحرایی از مرکز انستیتو پاستور تهیه و سپس به آزمایشگاه حیوانات منتقل شدند و به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط در آزمایشگاه نگهداری شدند.

طی دوره تحقیق موش‌های صحرایی در شرایط استاندارد از نظر دما ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، تهویه مناسب، رطوبت ۴۵ درصد، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته در قفس‌های پلی‌کربنات با قابلیت شست‌وشو و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در ضمن تمام اصول اخلاقی کار با موش‌های صحرایی بر اساس معاهده هلسینکی و زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه تهران و با شناسه اخلاق IR.UT.SPORT.REC.1399.007 انجام شد. در ادامه پس از گذشت سازگاری با محیط ۲۴ سر موش صحرایی آلیزیمری‌شده توسط تزریق درون‌بطنی استروپوتوزوسین در موقعیت جلویی-عقبی ۹/۰ mm-، جانبی ۵/۰ ± و پشتی-شکمی ۲/۳ mm- به بیماری آلیزیمر مبتلا شدند و پس از اطمینان از القای بیماری آلیزیمر موش‌های صحرایی مبتلا به‌طور تصادفی به گروه‌های ۱. کنترل مبتلا به آلیزیمر، ۲. تمرین تناوبی شدید و ۳. فعالیت در محیط غنی‌شده حرکتی تقسیم شدند. همچنین تعداد هشت سر موش صحرایی به‌عنوان گروه شم (Sh) جهت بررسی اثر جراحی و تزریق سالیین در بطن مغز قرار گرفتند و تعداد هشت سر موش صحرایی سالم جهت بررسی اثر القا بیماری آلیزیمر بر متغیرهای تحقیق در گروه کنترل سالم (HC) قرار گرفتند. گروه HIIT به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته و هر جلسه در ۹ تناوب ۹۰ ثانیه‌ای با شدت ۸۵ درصد سرعت بیشینه در تناوب با شدت بالا و هشت تناوب ۱۲۰ ثانیه‌ای با شدت ۴۵ درصد سرعت بیشینه در تناوب‌های شدت پایین به تمرین پرداختند [۱۲] و گروه تمرین (MEEA) در قفس‌های ویژه غنی‌شده از نظر حرکتی با ابزاری مانند توپ، سرسره و قرار گرفتند [۱۳].

پس از طی دوره سازگاری موش‌های صحرایی در حالت ناشتا با استفاده از کتامین و زایلوزین بی‌هوش شدند و سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شد تا سر جهت جراحی ثابت بماند. سپس با ایجاد شکاف طولی در بخش خلفی سر، جمجمه نمایان شد و پس از مشخص کردن مختصات استریوتاکسی برای بطن‌های جانبی در موقعیت جلویی-عقبی ۹/۰ mm-، جانبی ۵/۰ ± و پشتی-شکمی ۲/۳ mm- با کمک مته ویژه سوراخ شد و استروپوتوزوسین (STZ) با دوز ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌وسیله سرنگ همپلتون در بطن مغز تزریق شد [۱۴، ۱۵]. در ادامه موش‌های صحرایی به اتاق ریکاوری منتقل شده و در دمای مطبوع ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا به‌طور کامل بهبود یابند. پس از اطمینان از بهبودی و القای بیماری آلیزیمر از شماره‌گذاری و آزمون ماز موریس برای تشخیص آلیزیمر استفاده شد.

تمرین HIIT^۱ و MEEA

برای انجام تمرینات پس از اطمینان از بیماری موش‌های صحرایی ابتدا برای برآورد حداکثر سرعت بیشینه بر اساس پروتکل وانگ و همکاران، ابتدا به مدت ۵ دقیقه با سرعت هشت متر در دقیقه بر روی نوار گردان ویژه موش‌های صحرایی دویدند، در ادامه به ازای هر دو دقیقه سرعت نوار گردان ۱ m/min اضافه شد تا موش‌های صحرایی به واماندگی برسند. واماندگی به حالتی اطلاق می‌شود که موش صحرایی از فرط خستگی قادر به دویدن نباشد و در مدت زمان کمتر از یک دقیقه سه بار متوالی به انتهای نوار گردان برخورد کند. شایان ذکر است که آزمون وامانده‌ساز هر هفته برای طراحی تمرین در هفته جدید انجام می‌شد تا تمرینات بر اساس سرعت جدید جهت رعایت اصل اضافه بار تمرین کنند [۱۲].

تمرینات تناوبی شدید بدین صورت انجام گرفت که موش‌های صحرایی در ابتدای هر جلسه تمرین به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد حداکثر سرعت دویدن گرم کرده و ۹ تناوب ۹۰ ثانیه‌ای با شدت ۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن و ۸ تناوب ۱۲۰ ثانیه‌ای را با شدت ۴۰

^۱. High Intensity Interval Training

درصد حداکثر سرعت دویدن انجام دادند؛ در ادامه به منظور سرد کردن موش‌های صحرایی به مدت ۵ دقیقه با شدت ۴۰ درصد حداکثر سرعت بیشینه روی نوار گردان می‌دویدند. شایان ذکر است که پس از اجرای تمرینات مجدداً موش‌های صحرایی به قفس‌ها باز گردانده می‌شدند و آب و غذا آزادانه در دسترس آنها بود [۱۲]. همچنین فعالیت اختیاری در محیط غنی‌سازی‌شده حرکتی هشت هفته بود. برای دستیابی به این محیط قفسی به ابعاد 90 * 60 * 40 cm که دارای وسایلی مانند خانه‌گزینی، توپ، اسباب‌بازی، طناب و حلقه‌های بالارونده اشیا و اشکال مختلف و چرخ گردان و نردبان بود، دسترسی داشتند؛ به‌طور کلی محیط طراحی‌شده زمینه‌بازی و سرگرمی را برای موش‌های صحرایی فراهم کرد. علاوه بر این در این گروه نیز موش‌های صحرایی آزادانه که آب و غذا دسترسی داشتند [۱۳]. ۴۸ ساعت پس از آزمون ماز آبی موریس موش‌های صحرایی از طریق تزریق صفاقی کتامین و زایلوزین بی‌هوش شدند. پس از اطمینان از بی‌هوشی کامل با آزمون‌های تست بی‌دردی توسط متخصصان آزمایشگاه ابتدا خون‌گیری به‌طور مستقیم از بافت قلب موش‌های صحرایی انجام شد. در ادامه پس از شکافتن جمجمه موش‌های صحرایی بافت مغز به‌دقت استخراج شد و بافت هیپوکامپ توسط متخصصان به‌دقت خارج شد و در ادامه برای اندازه‌گیری متغیرها در کرایوتیوپ ویژه نگهداری بافت قرار داده شد و به‌دما ۷۰- منتقل شد. برای اندازه‌گیری سطوح لپتین و BDNF ابتدا مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه بافت هیپوکامپ هموژن شد و پس از قرار دادن در سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ تا ۶۰۰۰ دور در دقیقه سوپرناتانت به‌دست آمد، در ادامه سطوح لپتین بر اساس کیت Zell Bio: ZB-10036S-R9648 ساخت آلمان با حساسیت ۰/۰۱ ng/ml در بافت هیپوکامپ اندازه‌گیری شد.

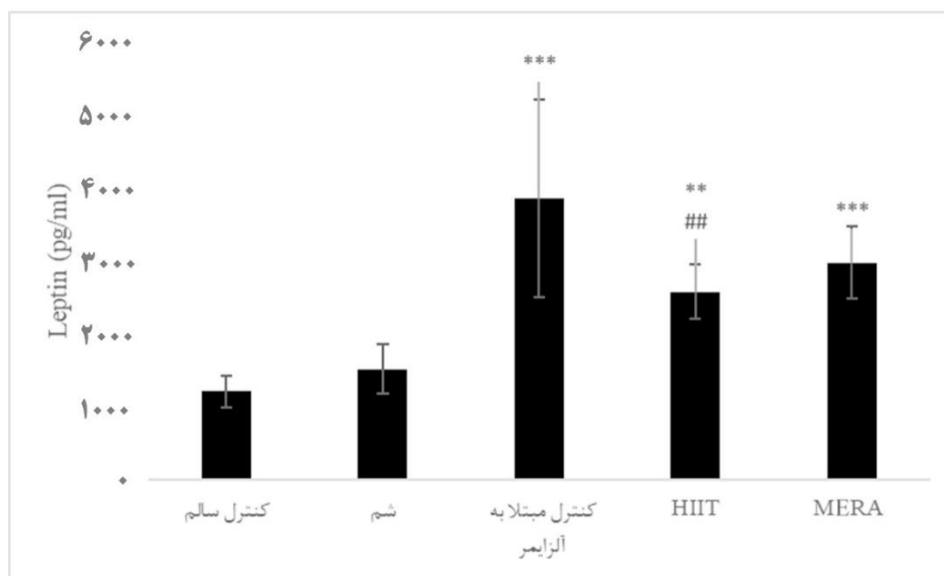
روش آماری

برای بررسی طبیعی بودن توزیع یافته‌های تحقیق از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. همچنین توصیف داده‌ها بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شدند و به‌منظور تجزیه و تحلیل استنباطی یافته‌های تحقیق ابتدا با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه تفاوت بین گروه‌ها ارزیابی شد و برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. داده‌های تحقیق حاضر با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism 8.3.3 در سطح معناداری ($P \leq 0.05$) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌های پژوهش

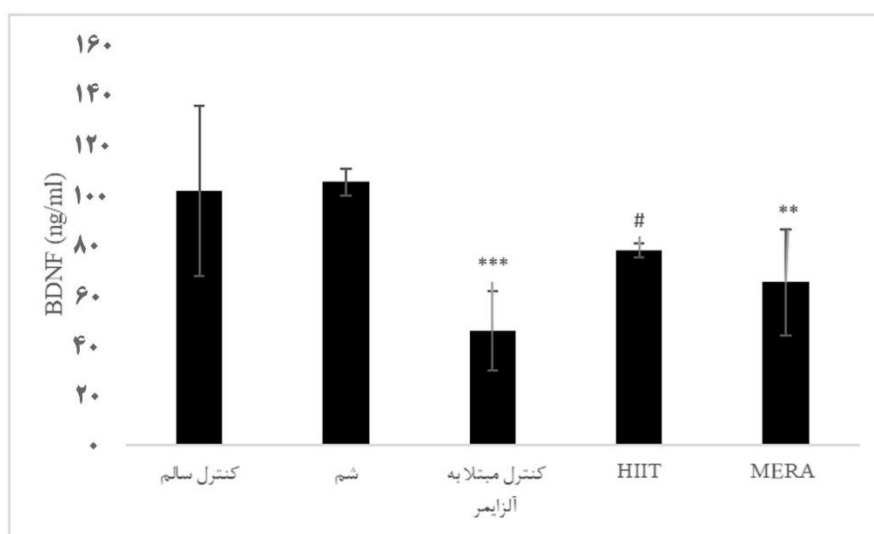
نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه نشان داد اختلاف معناداری در سطوح لپتین ($P=0.001$) و BDNF ($P=0.001$) وجود دارد. ($F=15/45$)

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطوح لپتین در گروه کنترل سالم و شم اختلاف معناداری با هم نداشت ($P=0.86$)، با این حال در گروه کنترل مبتلا به آلزایمر ($P=0.001$)، HIIT ($P=0.003$) و MEEA ($P=0.001$) به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل سالم بود؛ همچنین در گروه HIIT به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه کنترل مبتلا به آلزایمر بود ($P=0.005$)؛ اما اختلاف معناداری در گروه MEEA در مقایسه با گروه کنترل مبتلا به آلزایمر مشاهده نشد ($P=0.07$)، همچنین اختلاف معناداری بین دو گروه HIIT و MEEA مشاهده نشد ($P=0.73$) (شکل ۱).



شکل ۱. سطوح لپتین در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق ** ($P \leq 0.01$) و *** ($P \leq 0.001$) افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل سالم ## ($P \leq 0.01$) کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل میتلا به آلزایمر

همچنین بر اساس نتایج توکی، اختلاف معناداری در سطوح *BDNF* در گروه‌های کنترل سالم و شم مشاهده نشد ($P=0.99$)؛ اما در گروه کنترل میتلا به آلزایمر نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور معناداری پایین‌تر بود ($P=0.001$). اما در گروه *HIIT* تفاوت معناداری با گروه کنترل سالم مشاهده نشد ($P=0.12$)؛ ولی در گروه *MEEA* به‌طور معناداری کمتر از گروه کنترل سالم بود ($P=0.007$). سطوح *BDNF* در گروه *HIIT* به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل میتلا به آلزایمر بود ($P=0.019$)؛ اما اختلاف معناداری در گروه‌های *MEEA* و کنترل میتلا به آلزایمر مشاهده نشد ($P=0.27$)؛ علاوه بر این اختلاف معناداری بین دو گروه *HIIT* و *MEEA* مشاهده نشد ($P=0.65$) (شکل ۲).



شکل ۲. سطوح *BDNF* در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های تحقیق ** ($P \leq 0.01$) و *** ($P \leq 0.001$) افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل سالم # ($P \leq 0.05$) کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل میتلا به آلزایمر

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد در گروه تمرین *HIIT* سطوح لپتین پایین‌تر و سطوح *BDNF* بالاتر از گروه *AD* بود. اما تفاوت معناداری در لپتین و *BDNF* بین دو گروه تمرینی مشاهده نشد. محققان بر این عقیده‌اند که اختلالات متابولیک و افزایش توده چربی بدن به افزایش ترشح لپتین از بافت چربی سفید منجر می‌شوند، علاوه بر افزایش سطوح سرمی و بافتی لپتین در پی بیماری‌های متابولیکی، به نظر می‌رسد افزایش استرس اکسیداتیو و آمیلوئید بتا نقش بالقوه‌ای در تخریب و کاهش بیان گیرنده لپتین و *BDNF* در سیستم عصبی دارند [۱۶]. اگرچه لپتین تأثیرات نوروتروفینی دارد، این تأثیرات مطلوب تنها در نورون‌های خاصی مانند نورون‌های مخروطی هیپوکامپ صورت می‌پذیرد [۵]. بر اساس نتایج تحقیقات انجام گرفته تغییر شکل گیرنده لپتین در شکنج‌های دنداندار هیپوکامپ به واسطه *BDNF* یک مکانیسم کلیدی در کاهش افسردگی است؛ علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند که دریافت آگزوژن لپتین می‌تواند از مسیر بازخورد منفی به کاهش سطوح لپتین و گیرنده آن در مغز منجر شود و این امر در بلندمدت با تغییر در سطوح کلی *BDNF* همراه است؛ اما نکته جالب اینکه افزایش بیان *BDNF* از مسیر فعال‌سازی پروتئین کیناز (*AKT*) و فعال‌سازی هیستون استیل‌ترانسفراز *P300* و تشخیص ژن‌ها در پایه‌های هیستونی توسط لپتین القا می‌شود [۴]. در تحقیقی محققان عنوان کردند که سطوح لپتین در هیپوکامپ و کاربرد آن وابسته به سن است، به گونه‌ای که کاهش سطوح آن در رت‌های جوان به کاهش تحریک‌پذیری سیناپس‌ها شد، اما در رت‌های مسن (۱۲-۱۶ هفته‌ای) در بخش‌هایی از هیپوکامپ لپتین با ایجاد فرم جدیدی از *N-Methyl-D-Aspartate* در طولانی‌مدت به اختلال در عملکرد سیناپس‌ها، اختلال در متابولیسم بدن و افسردگی ختم می‌شود [۵]. در این زمینه محققان به تفاوت نقش لپتین در سرم و هیپوکامپ اشاره نموده‌اند، همچنین در این پژوهش محققان نشان دادند که فعالیت‌های ورزشی با شدت پایین موجب افزایش سطوح بیان ژنی لپتین در هیپوکامپ و بهبود حافظه موش آزمایشگاهی شد [۱۷]؛ به نظر می‌رسد شدت، نوع ورزش، اختلالات پایه‌ای متابولیکی، محل و روش اندازه‌گیری و همچنین روش مدل‌سازی بیماری عاملی اثرگذار در تغییرات لپتین باشد. علاوه بر این، مطالعاتی نیز نشان داده‌اند که تمرین هوازی با شدت متوسط موجب افزایش سطوح *BDNF* و کاهش التهاب در موش‌های صحرایی شد [۱۸]؛ در پژوهشی دیگر تمرین هوازی با شدت متوسط و بالا موجب افزایش سطوح سرمی *BDNF* شد و تفاوت معناداری بین دو شدت تمرین وجود نداشت [۱۸]؛ بیشتر تحقیقات به افزایش نوروتروفین‌ها متعاقب فعالیت‌های ورزشی منظم معتقدند، به گونه‌ای که حتی یک جلسه فعالیت ورزشی نیز موجب افزایش اندوکانابینوئیدها و *BDNF* در مردان شد [۱۹]. از این رو به نظر می‌رسد ورزش منظم و بلندمدت وابسته به رعایت اضافه بار تمرین با بهبود متابولیک مغز، بهبود جریان خون در سیستم عصبی، کاهش استرس اکسیداتیو منجر به سلامت مغز، بهبود حافظه و یادگیری و کاهش اختلالات عصبی می‌گردد [۷، ۱۹، ۲۰]؛ افزایش عوامل رونویسی هسته‌ای، افزایش پروتئین کینازها، و افزایش بیان گیرنده *BDNF*، کاهش استرس اکسیداتیو متعاقب فعالیت‌های ورزشی منظم و بلندمدت از جمله سازوکارهای سلولی مولکولی تمرینات ورزشی بر سیستم عصبی است [۱۸]. در توجیه افزایش *BDNF* متعاقب فعالیت ورزشی *HIIT* و تأثیر ایجاد سازگاری ورزش‌های بلندمدت و منظم مطالعه‌ای به بررسی اثر تمرینات شدید قدرتی، استقامتی، فانکشنال و تناوبی بر سطوح *BDNF* پرداخت، در این تحقیق تأثیر یک آزمون تست وینگیت نیز بررسی شد. نتایج نشان داد انواع تمرینات شدید به مدت ۹ هفته موجب افزایش سطوح *BDNF* شد، اما پس از آزمون وینگیت در گروه تمرین شدید فانکشنال، قدرتی و استقامتی مشاهده شد [۲۱]؛ با توجه به تأثیر تمرینات *HIIT* بر کاهش سطوح لپتین و افزایش *BDNF* به نظر می‌رسد سازوکارهای سلولی مولکولی متفاوتی در تأثیرات نوروتروفیکی این دو هورمون نقش دارند؛ به گونه‌ای که لپتین و عملکرد آن در سرم و در بافت مغز و همچنین در بیماری‌های متابولیکی مختلف مانند چاقی و دیابت بسیار متفاوت است و سطوح گیرنده این آدیپوکاین نیز از عوامل بسیار مهم

¹. N-Methyl-D-aspartate

². mild exercise

در عملکرد آن در سلول عصبی است. با توجه به نکات ذکر شده به نظر می‌رسد عدم اندازه‌گیری سطوح گیرنده لپتین و *BDNF*، عدم اندازه‌گیری عملکرد نورون‌های هیپوکامپ با روش‌های پاتولوژی از محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد. از این رو پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی گیرنده این پروتئین‌ها و مسیر بیان ژنی آنها ارزیابی شود. همچنین با توجه به عدم تغییر معنادار *BDNF* و لپتین متعاقب تمرین اختیاری در محیط غنی‌سازی‌شده، اندازه‌گیری میزان کالری دریافتی و کالری مصرفی متعاقب تمرینات ورزشی از محدودیت‌های این مطالعه است. از این رو پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی کالری دریافتی که ارتباط مستقیمی با لپتین دارد ارزیابی شود.

به نظر می‌رسد تمرین *HIIT* و *MEEA* هر دو در بهبود نروتروفین‌ها و سوخت‌وساز هیپوکامپ مؤثرند، با این حال بهبود عملکرد *BDNF* و لپتین به انجام تمرینات منظم با رعایت اصل اضافه بار در بلندمدت وابسته است.

تقدیر و تشکر

از همه‌ی کسانی که ما را در اجرای این پژوهش یاری کردند، سپاسگزاریم.

References

- [1] Cummings J, Lee G, Zhong K, Fonseca J, Taghva K. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2021. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. 2021;7(1):e12179. 10.1002/trc2.12179.
- [2] Uddin MJ, Kim EH, Hannan MA, Ha H. Pharmacotherapy against Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease: Promising Small Molecule Natural Products Targeting Nrf2-HO-1 Signaling. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(2). 10.3390/antiox10020258
- [3] Fracassi A, Marcatti M, Zolochovska O, Tabor N, Woltjer R, Moreno S, et al. Oxidative Damage and Antioxidant Response in Frontal Cortex of Demented and Nondemented Individuals with Alzheimer's Neuropathology. *J Neurosci*. 2021;41(3):538-54. 10.1523/JNEUROSCI.0295-20.2020
- [4] Li C, Meng F, Lei Y, Liu J, Liu J, Zhang J, et al. Leptin regulates exon-specific transcription of the *Bdnf* gene via epigenetic modifications mediated by an AKT/p300 HAT cascade. *Molecular psychiatry*. 2021;26(8):3701-22. 10.1038/s41380-020-00922-0
- [5] Hamilton K, Harvey J. The neuronal actions of leptin and the implications for treating alzheimer's disease. *Pharmaceuticals*. 2021;14(1):52. 10.3390/ph14010052
- [6] Mueller K, Möller HE, Horstmann A, Busse F, Lepsien J, Blüher M, et al. Physical exercise in overweight to obese individuals induces metabolic-and neurotrophic-related structural brain plasticity. *Frontiers in human neuroscience*. 2015;9:372. 10.3389/fnhum.2015.00372
- [7] Hosseini SA, Salehi O, Keikhosravi F, Hassanpour G, Ardakani HD, Farkhaie F, et al. Mental health benefits of exercise and genistein in elderly rats. *Experimental aging research*. 2022;48(1):42-57. 10.1080/0361073X.2021.1918473
- [8] Jamali A, Shahrbanian S, Morteza Tayebi S. The effects of exercise training on the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the patients with type 2 diabetes: A systematic review of the randomized controlled trials. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2020;19:633-43 10.1007/s40200-020-00529-w
- [9] Glud M, Christiansen T, Larsen L, Richelsen B, Bruun J. Changes in circulating BDNF in relation to sex, diet, and exercise: a 12-week randomized controlled study in overweight and obese participants. *Journal of obesity*. 2019;2019. 10.1155/2019/4537274

- [10] Bozorgi AD, Behboudi L, Hosseini SA, Rasoli MH. Effect of voluntary and forced training with royal jelly consumption on learning and spatial memory of rat model of alzheimer's disease. *Jundishapur Journal of Chronic Disease Care*. 2020;9(1). 10.5812/jjcdc.97261.
- [11] Dinoff A, Herrmann N, Swardfager W, Liu CS, Sherman C, Chan S, et al. The effect of exercise training on resting concentrations of peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF): a meta-analysis. *PloS one*. 2016;11(9):e0163037. 10.1371/journal.pone.0163037
- [12] Kamat PK. Streptozotocin induced Alzheimer's disease like changes and the underlying neural degeneration and regeneration mechanism. *Neural regeneration research*. 2015;10(7):1050. 10.4103/1673-5374.160076
- [13] Fayazmilani R, HaghParast A, Rostami S. Effect of Combined Training and Play in an Enriched Environment During Prepuberty Period on Hippocampal. *Sport Physiology*. Spring 2021; 13 (49): 199-222. Doi: 10.22089/spj.2020.9395.2065(In Persian).
- [14] Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behavioural brain research*. 2006;171(1):9-16. 10.1016/j.bbr.2006.03.009.
- [15] Sodhi RK, Singh N. All-trans retinoic acid rescues memory deficits and neuropathological changes in mouse model of streptozotocin-induced dementia of Alzheimer's type. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2013;40:38-46. 10.1016/j.pnpbp.2012.09.012
- [16] Calió ML, Mosini AC, Marinho DS, Salles GN, Massinhan FH, Ko GM, et al. Leptin enhances adult neurogenesis and reduces pathological features in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of disease*. 2021;148:105219. 10.1016/j.nbd.2020.105219
- [17] Yook JS, Rakwal R, Shibato J, Takahashi K, Koizumi H, Shima T, et al. Leptin in hippocampus mediates benefits of mild exercise by an antioxidant on neurogenesis and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019;116(22):10988-93. 10.1073/pnas.1815197116
- [18] Salehi OR, Hoseini A. The effects of endurance trainings on serum BDNF and insulin levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Shefaye Khatam*. 2017;5(2):52-61. (In Persian).10.18869/acadpub.shefa.5.2.52
- [19] Marin Bosch B, Bringard A, Logrieco MG, Lauer E, Imobersteg N, Thomas A, et al. A single session of moderate intensity exercise influences memory, endocannabinoids and brain derived neurotrophic factor levels in men. *Scientific reports*. 2021;11(1):14371. 10.1038/s41598-021-93813-5
- [20] Salehi OR, Hosseini SA, Farkhaie F, Farzanegi P, Zar A. The effect of moderate intensity endurance training with genistein on brain-derived neurotrophic factor and tumor necrosis factor- α in diabetic rats. *Journal of nutrition, fasting and health*. 2019;7(1):44-51. 10.22038/JNFH.2019.37231.1163
- [21] Murawska-Ciałowicz E, de Assis GG, Clemente FM, Feito Y, Stastny P, Zuwała-Jagiello J, et al. Effect of four different forms of high intensity training on BDNF response to Wingate and Graded Exercise Test. *Scientific reports*. 2021;11(1):8599. 10.1038/s41598-021-88069-y