Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

High intensity interval training increases the expression of hippocampus BDNF gene and decreases the serum tnf-α in Diabetic Rat

Shaqhayegh Abbasi[1], Neda Khaledi[1*], Hossein Askari[2]

[1]Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2]Department of Plant Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
*Corresponding author; E-mail: N.khaledi@khu.ac.ir

Received: 10 June 2019 Accepted: 14 July 2019 First Published online: 30 Dec 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020-2021;42(4):591-600

Abstract

Background: Diabetics have many disabilities, including neuronal damege hippocampus, and BDNF is an effective factor in this field. This factor has the most impact on the hippocampus, also TNF-α is an inflammatory factor that increases in diabetes, the purpose of this study was to investigate the effect of 6 weeks of High Intensity interval training on the gene expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the hippocampus of male Wistar rats.

Methods: For this study, 48 male Wistar rats (4 weeks old) with 150± 10 g weight were categorized in 4 groups of: diabetic rats (n= 12), exercise diabetic (n= 12), control (n= 12) and exercise control (n= 12). For induction of diabetes, peritoneal injection of STZ solution (50 mg/kg) was used. After a week of familiarization with the environment and practice, high Intensity interval training protocol consisted of 3 days of training per week for 6 weeks with 50% to 110% of maximum oxygen consumption was performed. 24 hours after the completion of the exercise, the functional test was taken and the animals were autopsy 48 hours after the functional test. Finally, BDNF gene expression was evaluated using Real Time PCR technique.

Results: Regarding the results, it was found that the high Intensity interval training intensified the expression of the BDNF gene and decreased the expression of the TNF-α protein. also The weight gain of the hippocampus has been observed along with increased expression of BDNF gene in the diabetic high Intensity interval training group.

Conclusion: Exercise can help prevent hippocampus tissue loss, and also prevent memory damage that caused by diabetes. Also, high Intensity interval training are effective in maintaining the physical fitness of diabetics, therefore high Intensity interval training are recommended for improvement in the physical condition and life of diabetics.

Keywords: High Intensity Interval Training, TNF-α, Brain-Drieved Neurotrophic Factor, Time To Exhaustion

How to cite this article: Abbasi S, Khaledi N, Askari H. [High intensity interval training increases the Expression of hippocampus BDNF gene and decreases the serum tnf-α in Diabetic Rat]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020-2021;42(5):591-600. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تمرین تناوبی شدید بیان ژن BDNF هیپوکامپ را افزایش و مقدار سرمی TNF-α را در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش می‌دهد

شقایق عباسی[۱]، ندا خالدی[۱*]، حسین عسکری[۲]

[۱]گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۲]گروه علوم گیاهی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی و منابع طبیعی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[*]نویسنده مسؤول؛ ایمیل : N.khaledi@khu.ac.ir

دریافت : ۱۳۹۸/۳/۲۰ پذیرش : ۱۳۹۸/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۱۰/۱۰
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛۴۲(۵):۵۹۱-۶۰۰

چکیده

زمینه: افراد دیابتی دچار اختلالات زیادی از جمله آسیب نورونی در هیپوکامپ می‌شوند و BDNF یک عامل موثر در این زمینه است. این عامل در هیپوکامپ بیشترین تاثیر را می‌گذارد همچنین TNF-α یک عامل التهابی است که در دیابت افزایش می‌یابد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر ۶ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در هیپوکامپ و میزان سرمی TNF-α موش‌های صحرایی نر ویستار بود.

روش‌کار: برای این مطالعه، تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر ویستار (۴ هفته‌ای) با وزن ۱۰±۱۵۰ گرم در ۴ گروه موش‌های دیابتی (n=12)، دیابت تمرین (n=12)، کنترل (n=12) و کنترل تمرین (n=12) دسته بندی شدند. جهت القا دیابت از روش تزریق صفاقی محلول STZ (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده گردید. بعد از یک هفته آشناسازی با محیط و تمرین، پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل ۳ روز تمرین در هفته به مدت ۶ هفته با شدت ۵۰ تا ۱۱۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام شد. ۲۴ ساعت بعد از اتمام تمرین، آزمون عملکردی گرفته شده و ۴۸ ساعت بعد از آزمون عملکردی، حیوانات تشریح شدند. درنهایت بیان ژن BDNF با استفاده از تکنیک Real Time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که تمرین تناوبی شدید بیان ژن BDNF را افزایش و بیان پروتئین TNF-α را کاهش داده‌است. همچنین افزایش وزن هیپوکامپ همراه با افزایش بیان ژن BDNF در گروه دیابت تمرین تناوبی شدید، مشاهده شده است.

نتیجه‌گیری: تمرین می‌تواند از تحلیل بافت هیپوکامپ و همچنین از آسیب به حافظه که بر اثر دیابت اتفاق می افتد جلوگیری کند، همچنین تمرین تناوبی شدید بر حفظ میزان آمادگی جسمانی افراد دیابتی موثر است، بنابراین تمرین تناوبی شدید برای بهبود در شرایط جسمی و زندگی افراد دیابتی توصیه می شود.

کلید واژه‌ها: تمرین تناوبی شدید، TNF-α، عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز، زمان رسیدن به واماندگی

نحوه استناد به این مقاله: عباسی ش، خالدی ن، عسکری ح. تمرین تناوبی شدید بیان ژن BDNF هیپوکامپ را افزایش و مقدار سرمی TNF-α را در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش می‌دهد. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛۴۲(۵):۵۹۱-۶۰۰

حق تالیف برای مولفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

BDNF یک عامل رشد عصبی است که نقش مهمی در دستگاه عصبی مرکزی و شرایط التهابی سیستمیک و محیطی مانند سندرم کرونری حاد و دیابت نوع ۲ ایفا می‌کند. BDNF در بلوغ، اتصالات سیناپسی، بازسازی عصبی و پلاستیسیته دستگاه عصبی مرکزی نقش مهمی ایفا می‌کند و همچنین بر پاتولوژی و درمان بیماری های عصبی اثر دارد. این فاکتور برای نقش احتمالی محافظت در مقابل پیشرفت دیابت نوع ۲، مورد توجه قرار گرفته است. عامل رشد عصبی (Nerve Growth Factor) BDNF , نوروتروفین های ۳، ۴، ۵ (NT3, 4, 5) از خانواده NTs هستند، که در پیشرفت دستگاه عصبی نقش دارند. گیرنده‌های BDNF روی سلول عبارت‌اند از گیرنده P75 – که از خانواده بزرگ گیرنده TNF است – و گیرنده تیروزین کیناز (۱). ورزش غیر از مبارزه با بسیاری از عوارض زیانبار دیابت که می‌تواند سلامت مغز را تحت تاثیر قرار دهد، باعث افزایش سلامت مغز نیز می‌شود. BDNF در سراسر CNS، بلکه در عضله اسکلتی بیان می‌شود، بررسی شده است که تمرین‌های استقامتی حاد می‌تواند به طور موقت، غلظت BDNF در خون را افزایش دهد (۲–۳ برابر)، در حالی که تمرین‌های قدرتی نمی‌تواند و تمرین جسمانی کمی افزایش یا افزایش سطح BDNF در افراد سالم را باعث می‌شود (۲). فعالیت ورزشی می‌تواند بر تنظیمات شکل‌پذیری نورونی در پایانه‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی موثر باشد. در پژوهشی که ویتر و همکاران انجام دادند، به بررسی شدت‌های متفاوت تمرینی بر عملکرد شناختی و مقادیر BDNF پرداختند. در گروه با فعالیت ورزشی پرشدت، افزایش معنادار در مقادیر BDNF مشاهده شد، اما گروه کم‌شدت افزایش معناداری نداشت (۳). دیابت در مغز موجب التهاب می‌شود. بسیاری از مطالعات سطوح بالایی از اینترلوکین–۱ بتا (IL1-β) و اینترلوکین–۶ بتا (IL6-β) و نشانگرهای عامل حاد مانند پروتئین واکنش‌پذیر سی (CRP) را تعیین می‌کنند که مولفه‌های پیش‌بینی شده در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع۲ هستند. امروزه التهاب به عنوان عاملی بسیار مهم در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های عصبی مورد توجه قرار گرفته است. التهاب عصبی می‌تواند ناشی از آسیب به خود بافت مغزی باشد و یا توسط التهاب محیطی القا شود. این فرایند با فعال شدن میکروگلیاها، تحریک آستروسیت‌ها، آسیب به سد خونی – مغزی و افزایش پس‌آیند در نفوذپذیری آن، ورود سلول‌های ایمنی محیطی به بافت مغزی، تولید بیش‌ازحد سایتوکین‌ها، نیتریک اکساید، گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین پروستاگلاندین‌ها و در نهایت با آسیب و مرگ نورون‌ها مشخص می شود (۴). در دیابت قندی با افزایش سطح گلوکز خون و کاهش انسولین یا عامل رشد شبه انسولین و افزایش سیتوکین‌ها از جمله TNF-α، مرگ سلولی و آپوپتوز در شماری از بافت‌ها به وقوع می‌پیوندد (۵). نشان داده شده است که تنظیم افزایشی NGF وBDNF پس از تمرین ورزشی، با کاهش آسیب‌ها و اختلالات نورولوژیکی همراه خواهد بود. علاوه بر آثار حفاظت نورونی نوروتروفین‌ها، نشانه‌هایی وجود دارد که BDNF فعالیت ضداکسایشی نیز دارد. تنظیم افزایشی BDNF در اثر تمرین ورزشی، با افزایش فعالیت ضداکسایشی، موجب حفاظت از نورون‌ها در برابر نوروپاتی دیابتی خواهد شد. ساز و کار آن به شکل هدایت سیگنالی BDNF و از طریق گیرنده TrkB است که بیان آن با فعالیت ورزشی تنظیم می‌شود، که سیگنال TrkB در پایانه‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی منجر به تنظیم گذرگاه‌های انتقال سیگنالی همچون مپ–کیناز ۱ و مپ–کیناز ۲ می شود (۶). شواهدی وجود دارد که حاکی از اثرات بلندمدت تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF) در جوندگان است (۷). سی جلسه تمرین HIIT در مقایسه با پروتکل تمرین مداوم و گروه شاهد، سطح پروتئین BDNF در مغز را به طور معنی‌داری افزایش داد. پژوهشگران بیان کردند که تمرین تناوبی شدید میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و غلظت عامل نکروز توموری آلفا (TNF-α) در مغز را افزایش داد و این مولکول‌ها می‌توانند تولید BDNF یا CREB را – که عامل رونوشت تنظیم‌کننده BDNF است – فعال کنند. البته، اگرچه این پژوهش حاکی از اثر مثبت تمرین تناوبی شدید بر عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز بود، اما پژوهشگران موفق نشدند منطقه آناتومیکی ویژه حساس به افزایش نوروتروفین پس از انجام تمرین تناوبی شدید را گزارش کنند (۷). در نتیجه، سایر پژوهشگران اثر تمرین تناوبی شدید بر عامل نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز را در هیپوکامپ با جزییات بیشتر مورد ارزیابی قرار دادند. در پژوهشی که توسط فریتاس و همکاران انجام شد، تعداد ۳۶ جلسه تمرین HIIT ، سطح BDNF را در هیپوکامپ موش‌های سالم افزایش داد. البته، مکانیسم مولکولی مسئول افزایش تولید BDNF ، در این پژوهش نشان داده نشد. در تایید نتایج این پژوهش، محققین بیان کردند که تعداد ۳۶ جلسه تمرین HIIT سطح BDNF را افزایش و آسیب اکسایشی هیپوکامپ را کاهش داد (۷). پژوهشگران بیان کردند که انجام یک دور تمرین تناوبی شدید مقدار H_2O_2 و TNF-α را در مغز افزایش داد. این مولکول‌ها گیرنده PGC-1α را فعال کرده و تولید BDNF نورون را افزایش می‌دهند (۷). سازوکاری را که از طریق آن بتوان به آثار سودمند فعالیت ورزشی شدید بر ساختار و عملکرد مغز افراد دیابتی پی‌برد، هنوز به طور کامل شناخته نشده است. از میان مناطق مغزی، هیپوکامپ یکی از حساس‌ترین نواحی است که در مقابل عامل‌های مضر و آسیب رسان مانند دیابت، بسیار آسیب‌پذیر بوده و در طی آن دستخوش تغییرات نوروفیزیولوژیکی، ساختاری و مولکولی مانند کاهش نورون‌زایی و تحلیل هیپوکامپ می‌شود.

بررسی‌های هیپوکامپ دیابتی حاکی از تغییرات بافت‌شناسی مشخص است. تغییرات دژنراتیو بسیاری در سلول‌های هرمی دیده می‌شود. در گریوس دندانه‌دار علایم خون‌ریزی و کاهش سلول‌های گرانول دیده می‌شود. در ناحیه CA3 وگریوس دندانه‌دار مرگ سلول‌های عصبی دیده می‌شود (۸). دانشمندان و متخصصین ورزشی به منظور ارتقا استفاده از زمان، تمرکز خود را روی مطالعه پیرامون اثر دوره‌های ورزشی کوتاه بر فیزیولوژی انسان، مانند تمرین تناوبی شدید (HIIT) قرار داده‌اند. تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر تمریناتی دلالت دارد که با ویژگی‌هایی چون زمان به نسبت کوتاه برای انجام فعالیت‌های شدید ضمن استراحت یا فعالیت‌های ملایم‌تر بین حرکات شدید شناخته می‌شود. به طور کلی، تمرین تناوبی شدید (HIIT) در یک جلسه تمرینی برابر یا کمتر از ۳۰ دقیقه انجام می‌شود که شامل مراحل گرم‌کردن و سردکردن می‌شود. دوره‌های تمرینی شدید باید تقریبا با حداکثر تلاش فرد صورت گیرد، به طوری که ۸۰ تا ۱۰۰ درصد حداکثر ضربان قلب (HR_{max}) حاصل شود. فعالیت شدید و ورزش در زمانی کمتر از ۶۰ ثانیه انجام می‌شود و زمان بازیابی (استراحت یا فعالیت ملایم) می‌تواند تا ۴ دقیقه طول کشد. افزایش عوامل آپوپتوزی در دیابت می‌تواند از عوامل کاهش تعداد نورون‌ها و کاهش وزن هیپوکامپ باشد. همچنین درمورد اثر TNF-α در مغز افراد دیابتی و این که آیا برای بیان ژن BDNF مفید است یا مضر، منبعی موجود نیست. در پژوهش های پیشین، تمرینات تناوبی (HIIT) به عنوان شیوه تمرینی، با شدت بالا و مدت زمان کوتاه، که به سنجش مقادیرBDNF در افراد دیابتی پرداخته باشد، مشاهده نشد. همچنین افراد حاضر در این پژوهش به دنبال این سوال هستند که آیا فعالیت‌های ورزشی با شدت بالاتر و مدت زمان کمتر – که کارایی بیشتری دارد – می‌تواند پاسخ‌های برجسته‌تری در بیماری‌هایی مانند دیابت – که می‌تواند با سبک زندگی افراد در ارتباط باشد – به دنبال داشته باشد.

روش کار

پژوهش حاضر تجربی و با طرح پیش‌آزمون و پس‌آزمون برای آزمون عملکردی می‌باشد. عامل BDNF توسط کیت در این پژوهش، ۴۸ سر موش صحرایی نر ویستار با سن ۴ هفته و میانگین وزنی ۱۰±۱۵۰ گرم از انیستیتو پاستور ایران خریداری شد و بعد از دو هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه، به صورت تصادفی به ۴ گروه موش‌های دیابتی (n=12)، دیابت تمرین (n=12) کنترل (n=12) و کنترل تمرین (n=12) تقسیم شدند که به صورت چهارتایی در قفس‌های تیپ ۳ مخصوص جوندگان نگهداری شدند. برای رعایت نظافت قفس حیوانات از پوشال استریل که از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه شده بود، استفاده شد. کلیه حیوانات در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دما ۲۳±۱ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی – تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۳±۵۸ درصد نگهداری شدند. موش‌های گروه دیابتی جهت اعمال چاقی به مدت ۴ هفته اول تحت رژیم غذایی پرچرب که شامل ۲۲ درصد چربی، ۴۸ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین تهیه شده از موسسه سرم‌سازی رازی قرار گرفته‌اند (۹). پس از دو هفته، جهت القا دیابت در هر دو گروه از استرپتوزوتوسین به صورت تک‌دوز و به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن به روش تزریق داخل صفاقی استفاده شد (۱۰). ۴۸ ساعت بعد از تزریق، جهت اطمینان از ایجاد دیابت در موش‌ها، قطره های خون از ورید دمی اخذ و میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر تعیین شد. قندخون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۱). در پژوهش حاضر به صورت دو هفته یک‌بار هم برای اطمینان مقدار قندخون کنترل می‌شد. در پژوهش حاضر برای کار با موش‌های صحرایی از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا استفاده شد. در تمامی مراحل کار، فرد پژوهشگر همواره این موارد را مورد نظر داشت. در ضمن این طرح در کمیته اخلاق پژوهشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی به شماره IR.SSRI.REC.1397.255 ثبت گردیده است. قبل از شروع روش تمرینی اصلی در هفته چهارم که بعد از القا دیابت بود، جهت آشناسازی موش‌ها با روش تمرینی، موش‌ها با شدت ۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (روز اول ۳۰ ، روز دوم ۴۰ و روز سوم ۵۰ درصد) و تعداد ۶ تا ۸ تکرار ۱ دقیقه‌ای (روز اول ۶ ، روز دوم ۷ و روز سوم ۸ تکرار) به همراه ۲ دقیقه استراحت غیرفعال برای ۳ روز تمرین کردند و بلافاصله پس از آن وارد روش تمرینی شدند (میزان برآورد دقیق حداکثر اکسیژن مصرفی به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفس، با توجه به پژوهش‌های انجام شده اخیر هویدال و همکاران، پروتکل غیرمستقیم ولی با دقت زیاد مورد استفاده قرار گرفت). تمرین تناوبی شدید شامل ۳ روز تمرین در هفته به مدت ۶ هفته با شدت ۵۰ تا ۱۱۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. گرم کردن موش‌ها با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به مدت ۵ دقیقه بود. سپس روش تمرینی شامل ۱۰ تکرار ۱ دقیقه‌ای دویدن روی نوار گردان با ۵۰ تا ۱۱۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی با شیب ۲ تا ۱۰ درجه که بصورت متناوب بین هر ۱ دقیقه، ۲ دقیقه استراحت غیرفعال به موش‌ها داده می‌شد (۱۲). آزمون عملکردی گروه‌های تمرینی شامل دویدن بر روی نوار گردان با شیب صفر درجه و سرعت اولیه ۱۰ متر بر دقیقه بود که به ازای هر ۲ دقیقه دویدن، ۲ متر بر دقیقه به سرعت نوار گردان افزوده می‌شد تا جایی که موش‌ها به واماندگی رسیده و قادر به ادامه آزمون نبودند. متغیرهای وابسته مورد پژوهش، BDNF و TNF-α هستند. موش ها پس از بیهوشی با کتامین ۱۰ درصد (۱۰

میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین ۲ درصد (۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و خون‌گیری مستقیم از قلب معدوم شدند. سپس بلافاصله بافت مغز را داخل آب مقطر قرار داده و مغز را به دو نیمکره راست و چپ تقسیم کردیم، سپس از قسمت نیمکره راست مغز با استفاده از قاشقک، هیپوکامپ را جدا نمودیم. بعد از وزن کردن هیپوکامپ با ترازو دیجیتال، بافت را داخل کرایو قرار داده و آن را داخل کپسول ازت قرار دادیم، تا زمانی که نمونه ها به یخچال با دما منفی ۸۵ درجه منتقل شود. سپس BDNF در بافت هیپوکامپ در آزمایشگاه دانشگاه شهید بهشتی مورد بررسی قرار گرفت و سرم خون برای بررسی TNF-α به آزمایشگاه پاتولوژی منتقل شد. اسیدریبونوکلئیک کل با استفاده از کیت ترایزول ساخت کشور آلمان استخراج گردید. نمونه‌های ذخیره شده در فریز منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد در هاون سرد ریخته و به کمک نیتروژن مایع کوبیده تا به حالت پودری درآیند. در مرحله بعدی به ویال‌های حاوی پودر نمونه‌های مورد بررسی، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول کیت ترایزول اضافه شد. سپس ویال ها ۳۰ ثانیه با استفاده از دستگاه ورتکس و ۳۰ ثانیه با دستگاه هموژنایزر با ۲۵۰۰ دور در دقیقه یکنواخت شدند. نمونه‌های استخراج شده جهت استفاده بعدی در دما منفی ۸۰ درجه قرار داده شدند. به منظور بررسی کمیت و کیفیت اسید ریبونوکلئیک استخراج شده، از دو روش UV اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد. اسید ریبونوکلئیک استخراج شده با استفاده از دستگاه NanoDrop 2000 UV-Vis Spectrophotometer شرکت ترموساینتیفیک ساخت کشور آمریکا غلظت‌سنجی شد. قبل از ساخت cDNA، جهت حذف آلودگی احتمالی اسید ریبونوکلئیک با دئوکسی‌ریبونوکلئیک‌اسید ژنومی، اسید ریبونوکلئیک استخراج شده توسط آنزیم DNase1 شرکت فرمتاس ساخت کشور آمریکا تیمار شد. بر اساس پروتکل شرکت، مواد، مقادیر و زمان هر کدام از مراحل در آمده است. جهت تایید عدم خردشدگی اسید ریبونوکلئیک پس از تیمار با DNase1، مقدار ۴۰۰ نانوگرم از اسید ریبونوکلئیک‌های تیمار شده با آنزیم، بر روی ژل آگارز ۲ درصد جداسازی شدند و همچنین جهت کمیت‌سنجی با روش UV اسپکتروفتومتری، نمونه ها توسط دستگاه Epoch micro-volume Spectrophotometer System شرکت بیوتک آمریکا و همچنین اسپکتروفتومتر نانو دراپ، طیف‌سنجی شدند. برای ساخت cDNA، نمونه‌هایی بر اساس کم‌غلظت‌ترین اسید ریبونوکلئیک‌ها، رقیق سازی شدند، طوری که مقدار نهایی اسید ریبونوکلئیک در واکنش، تقریبا ۸۸۰ نانوگرم بود. ساخت cDNA تک رشته‌ای با استفاده از کیت First Standard cDNA Synthesis (ساخت شرکت MXcell RNA) ساخت کشور آمریکا و به این شرح انجام شد، مخلوط نمودن اسید ریبونوکلئیک (۸۸۰ نانوگرم) با یک میکرولیتر آغازگر Oligo Dt (مخلوط A) و حرارت دادن در دما ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، افزودن بافر واکنش (حاوی ۱۰ میلی‌مول مخلوط dNTP) ۴ میکرولیتر، DTT (۸ میلی مولار) ۱ میکرولیتر، آنزیم Diastar RTase ۱ میکرولیتر به مخلوط A و در نهایت تنظیم حجم آب عاری از RTase تا حصول ۲۰ میکرولیتر حجم نهایی. مخلوط بدست آمده دردما ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد. بعد از پایان واکنش، نمونه‌ها در دما منفی ۲۰ درجه نگهداری شدند. با رعایت شرایط زیر برای ژن‌های زیر آغازگرهای رفت و برگشتی، به کمک نرم‌افزار پرایمر نسخه ۳ و براساس توالی کدکننده ژن‌ها (CDS)، آغازگرهای انتخابی طراحی گردید. بر اساس طول آغازگر، شاخص‌های طراحی آغازگر بین ۲۰ تا ۲۵ نوکلئوتید، نقطه ذوب آغازگر بین ۵۸ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد، درصد GC بین ۴۰ تا ۶۰ و طول قطعه قابل تکثیر بین ۶۰ تا ۱۵۰ نوکلئوتید در نظر گرفته شد. توالی آغازگرهای طراحی شده جهت ساخت، به شرکت سیناکلون ارجاع شدند. کمیت‌سنجی بیان ژن در آزمون QRT-PCR به صورت نسبی انجام گرفت. پس از اندازه‌گیری میزان Ct، برای ژن‌های مورد مطالعه در نمونه‌های تحت بررسی، کارایی PCR با استفاده از نرم افزار Ruijter et al. LinRegPCR نسخه ۲۰۰۹ ، تعیین شد. سپس با استفاده از برنامه اِکسل، میزان نسبت بیان (FC) و یا طبق فرمول pfaffl محاسبه گردید. از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و تنظیم جدول‌ها و از برنامه‌های Excel نسخه ۲۰۱۳، MSTATC، SPSS نسخه ۲۴ و prism Graph pad نسخه ۶ ، برای تنظیم نمودارها و انجام محاسبات استفاده شد. پس از بدست آمدن میزان بیان ژن های مورد مطالعه، جهت بررسی صحت فرض‌های تجزیه و واریانس، آزمون نرمال بودن توزیع خطاهای آزمایشی با استفاده از نرم افزار MSTATC و آزمون بارتلت برای بررسی فرض یکنواختی واریانس‌ها انجام شدند. از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ برای محاسبه میزان افزایش یا کاهش بیان ژن هدف در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل استفاده شد. از آزمون فیشر (F-test) و M-ANOVA با سطح معنی‌داری ($P\leq۰/۰۱$) برای تعیین معنی‌داری استفاده شد. این آزمون برای ارزیابی یکسان بودن یا نبودن دو یا چند جامعه کاربرد دارد. همچنین از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته ها

در پژوهش حاضر در بررسی بیان ژن BDNF در موش‌های صحرایی نر ویستار که دچار مداخله دیابت بوده‌اند – که برای اندازه‌گیری بیان ژن BDNF مورد بررسی در پژوهش حاضر از روش RT-PCR استفاده شد – تمرین تناوبی شدید بر میزان بیان ژن BDNF در هیپوکامپ مغز اثر معنی‌داری دارد. به طوری که در نمودار ۱ نشان داده شده که در پژوهش حاضر تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن BDNF بین گروه‌های کنترل و گروه تمرین

(۰/۰۰۰۲۷۱)، کنترل و دیابت (۰/۰۰۱۳۱)، دیابت و دیابت تمرین تناوبی شدید (۰/۰۰۰۰۹۱) و دیابت تمرین تناوبی شدید و تمرین تناوبی شدید (۰/۰۰۳۹۱۲) وجود داشته است. با توجه به نتایج حاصل شده، قندخون قبل و بعد از ناشتایی در چهار گروه پژوهش، بین دو گروه دیابت و دیابت تناوبی شدید، تفاوت معنی‌دار نبوده است (۰/۲۶۴).

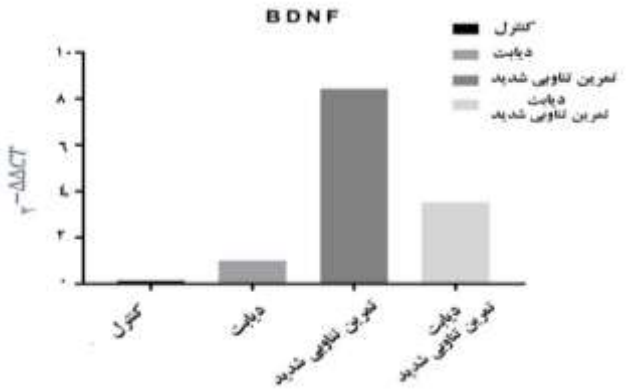
با توجه به نمودار ۲ بین دوگروه دیابت و دیابت تناوبی شدید و دوگروه تناوبی شدید و دیابت تناوبی شدید، تفاوت معنی‌داری در میزان بیان TNF-α مشاهده می‌شود. یعنی میزان پروتئین TNF-α سرمی در گروه‌های دیابتی افزایش چشمگیری داشته، در حالی که در گروه دیابت تناوبی شدید افزایش کمتری داشته است.

بررسی آزمون زمان رسیدن به واماندگی بیان می‌دارد که در اثر ۶ هفته تمرین، گروه دیابت تمرین توانسته میانگین زمان رسیدن به واماندگی خود را حفظ کند و گروه تمرین نیز پیشرفت داشته است. نتایج آزمون تی زوجی در بین دوگروه تناوبی شدید و دیابت تناوبی شدید (۰/۰۱۴) تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود.

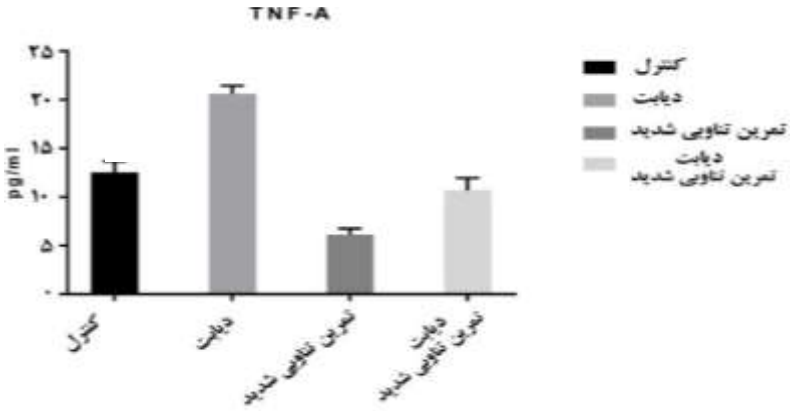
چدول ۱: میزان بیان ژن BDNF و TNF-α در ۴ گروه

گروه	$2^{-\Delta\Delta CT}$	معنی‌داری بیان ژن BDNF*	TNF-α	معنی‌داری TNF-α*
دیابت	۰/۱۳	۰/۰۰۰۰۹۱	۲۰/۶۰	۰/۰۰۰
دیابت تناوبی شدید	۳/۵۲		۱۰/۷۰	
تناوبی شدید	۸/۴۲	۰/۰۰۳۹۱۲	۶/۱۳	۰/۰۰۵
دیابت تناوبی شدید	۳/۵۲		۱۰/۷۰	
کنترل	۱	۰/۰۰۱۳۱	۱۲/۵۲	۰/۳۶۵
دیابت	۰/۱۳		۱۰/۶۰	
کنترل	۱	۰/۰۰۰۲۷۱	۱۲/۵۲	۰/۳۱۷
تناوبی شدید	۸/۴۲		۶/۱۳	

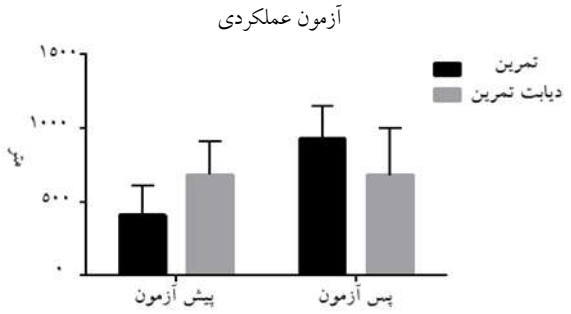
*سطح معنی داری $P \leq 0/01$



نمودار ۱: نتایج حاصل از $2^{-\Delta\Delta CT}$ بیان ژن BDNF گروه های کنترل، دیابت، تناوبی شدید، دیابت تناوبی شدید
** سطح معنی داری بین گروه دیابت و دیابت تمرین تناوبی شدید (۰/۰۰۰۰۹۱) مشاهده شد.



نمودار ۲: تغییرات TNF-α سرمی در چهار گروه پژوهش
** سطح معنی داری بین دوگروه دیابت و دیابت تناوبی شدید (۰/۰۰۰) مشاهده می شود.



نمودار ۳: میانگین آزمون عملکردی در گروه دیابت تناوبی شدید و تناوبی شدید
** بین دوگروه تناوبی شدید و دیابت تناوبی شدید (۰/۰۱۴) تفاوت معنی داری مشاهده می‌شود

بحث

انجام فعالیت ورزشی باعث تولید سلول‌های مغزی جدید در ناحیه هیپوکامپ می‌شود. با توجه به تغییرات وزن هیپوکامپ بین گروه دیابت و دیابت تناوبی شدید، مشاهده می‌کنیم که وزن هیپوکامپ در گروه دیابت تناوبی شدید نسبت به گروه دیابت، افزایش داشته است. همچنین وزن هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه تناوبی شدید در مقایسه با دیابت تناوبی شدید، تفاوت اندکی دارد. بنابراین می‌توان گفت احتمالا تمرین تناوبی شدید اثر عوامل نورون‌زایی را افزایش داده که از تحلیل و کاهش وزن هیپوکامپ حتی در شرایط دیابت، تا حدی جلوگیری کرده‌است. پژوهش‌های بسیاری (۱۳و۱۴) نتایجی همسو با پژوهش حاضر داشته‌اند که نشان می دهد تمرین تناوبی شدید سبب افزایش حجم سلول‌های عصبی در مغز و هیپوکامپ شده است. در نتیجه همان طور که در مطالعات ثابت شده است، تمرین سبب افزایش فعالیت الکتریکی ناحیه هیپوکامپ شده و بدون تغییر در میزان آپوپتوزیس، سبب افزایش چگالی نورونی هیپوکامپ می‌شود (۱۵) و یا کاهش داشته است (۱۶). بنابراین می‌توان گفت تمرین تناوبی شدید باعث افزایش عوامل رشد عصبی می شود و از کاهش وزن هیپوکامپ حتی در شرایط دیابت، تا حدی جلوگیری می‌کند. BDNF یکی از عوامل اصلی است که فعالیت ورزشی تداومی طولانی مدت از طریق افزایش آن، باعث اثرات مثبت بر مغز می‌شود. شواهد زیادی وجود دارند که اثرات مثبت فعالیت بدنی و ورزشی را بر روی مغز نشان داده‌اند. این تغییرات با عملکرد شناختی و رفتاری نیز مرتبط است. در ضمن، بسیاری از بیماری‌ها مانند آلزایمر، اسکیزوفرنی و دیابت با سطوح BDNF مرتبط می‌باشند. یکی از سازوکارهای احتمالی برای افزایشBDNF ، فعالیت ورزشی با شدت بالا می‌باشد. احتمال داده می‌شود فعالیت ورزشی طولانی‌مدت بیان BDNF در مغز را افزایش می دهد. تمرین HIIT از سه طریق بر تولید BDNF در مغز اثر می‌گذارد (۱). HIIT باعث افزایش فعالیت میتوکندری و غلظت ROS در نورون‌ها می‌شود که ROS باعث رونویسی و سیگنالینگ Creb-Bdnf می‌شود (۲). HIIT باعث افزایش غلظت یون کلسیم در نورون‌ها می‌شود که این وضعیت فعالیت CaMKII را افزایش می‌دهد و موجب سیگنالینگ APK/ ERK/ MSK برای فعال کردن رونویسی Creb-Bdnf و پلاستیسیته عصبی می‌شود. همچنین، کلسیم داخل سلولی می تواند تولید ROS را در نورون‌ها افزایش دهد. ROS قادر به فعال کردن رونویسی Creb-Bdnf می‌شود (۳). HIIT غلظت لاکتات خون سیستمیک را افزایش می‌دهد و در نتیجه موجب تقویت فعالیت گیرنده NMDA برای افزایش غلظت یون کلسیم داخل سلولی در نورون می‌شود (۷). در بررسی اثرات فعالیت‌های ورزشی بر سطوح سرمی و هیپوکامپی BDNF ، برخی مطالعات نشان می‌دهند فعالیت‌های ورزشی منجر به افزایش قابل توجه BDNF می‌شود. سی جلسه تمرین HIIT در مقایسه با پروتکل تمرین مداوم و گروه شاهد، سطح پروتئین BDNF در مغز را به طور معنی‌داری افزایش داد (۱۷). محققین بیان کردند که تعداد ۳۶ جلسه تمرین HIIT ، سطح BDNF را افزایش و آسیب اکسایشی هیپوکامپ را کاهش داد (۱۸). در پژوهشی دیگر به بررسی شدت‌های مختلف تمرینات مقاومتی و هوازی بر بیان ژن BDNF در موش‌های اوارکتومی شده پرداختند که در تمرین شنا شدید افزایش یافت (۱۹). تمرین تناوبی شدید برای 6 هفته و با شدت ۹۵ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی روی نوارگردان موجب افزایش محتوای BDNF و GDNF بافت مغز موش‌های صحرایی می‌شود (۲۰). مطالعات مطرح شده همسو با نتایج پژوهش ما می‌باشد. علت آن شدت بالای تمرین و مدت زمان کوتاه بوده، یا بدون تغییر بوده است. در پژوهشی به بررسی سه جلسه تمرین شدید (۱۰ × ۶۰ درصد، ۶۰Wmax، ۵۰ وات ۶۰ ثانیه) و همچنین تمرین تداومی (۲۲ دقیقه، ۷۰ درصد VO_2max) پرداختند که نشان داد در هر دو شدت تمرین، میزان BDNF به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۱)، یا بدون تغییر بوده است (۲۲)، که ناهمسو با نتایج ما می‌باشد و علت آن زمان طولانی با شدت بالا و برنامه تمرینی استرس‌زا که شاید موجب کاهش آثار سودمند تمرین می‌شود، می‌باشد. مطالعه‌ای به مقایسه پاسخ NGF پس از یک

جلسه تمرین شدید، تمرین مقاومتی یا هر دو در گروهی از بزرگسالان که دچار اضافه وزن بودن پرداخت که یافته‌های پژوهش نشان داد که تمرینات مقاومتی حاد و تمرینات ترکیبی، NGF را افزایش دهد (۲۳). پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تمرین تناوبی شدید تاثیر معناداری در کاهش میزان TNF-α سرمی در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت دارد، که میزان TNF-α در گروه دیابت نسبت به گروه دیابت تناوبی شدید و تناوبی شدید افزایش قابل توجهی داشته است. تمرین منظم اثرات ضدالتهابی دارد و موجب سرکوب التهاب سیستمی می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که TNF-α در اثر تمرین کاهش می‌یابد (۲۴–۲۷). نتایج این پژوهش‌ها با پژوهش حاضر همسو است. از آنجایی که روش تمرینی پژوهش حاضر، شدید است، در پاسخ بعد از یک جلسه سبب افزایش عامل التهابی TNF-α می‌شود، اما به نظر می‌رسد سازگاری با تمرین سبب کاهش مقادیر TNF-α سرمی شود و یا افزایش یابد (۲۸)، که ناهمسو است. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد عواملی از قبیل ویژگی‌های مربوط به برنامه تمرینی از جمله شدت و مدت زمان فعالیت، نوع برنامه تمرینی و طول دوره زمانی انجام برنامه تمرینی می‌توانند در تغییرات TNF-α موثر باشند. بیان ژن BDNF و TNF-α رابطه‌ای با همبستگی منفی ۰/۸۷ و معکوس هم دارند که نشان می‌دهد هر چه BDNF افزایش یافته میزان TNF-α کاهش یافته است که از همبستگی بالایی برخوردار است. اثرات مفید فعالیت ورزشی روی کاهش عوارض دیابت، می‌تواند در بخشی به دلیل بهبود مارکرهای التهابی باشد. التهاب می‌تواند نقش مهمی را در پاتوژنز دیابت داشته باشد. سطوح سایتوکاین‌های پیش التهابی (TNFα ، IL-1، IL-6) در افراد دیابتی افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

در نهایت با توجه به پژوهش‌های پیرامون این موضوع می‌توان گفت تمرین تناوبی شدید منجر به جلوگیری از آپوپتوز در موش‌های دیابتی می‌شود و می‌تواند روند تحلیل سلولی عصبی و دیگر عوارض را به تاخیر اندازد. با توجه به تمامی موارد فوق و بررسی‌های صورت گرفته، تمرین تناوبی شدید اثر معنی‌داری بر بیان ژن BDNF دارد و می‌تواند از تحلیل بافت هیپوکامپ که بر اثر دیابت اتفاق می‌افتد، جلوگیری کند. گروه‌های دیابتی که تحت تاثیر تمرین تناوبی شدید قرار گرفتند دچار افزایش عوامل نورون‌زایی شده و این عامل احتمالا از اثرات سازگاری تمرین تناوبی شدید در کاهش عوامل آپوپتوزی است. همچنین تمرین تناوبی شدید بر حفظ میزان آمادگی جسمانی افراد دیابتی موثر است. میزان ترشح انسولین در دیابت تمرین تناوبی شدید نسبت به گروه دیابتی بهبود داشته است. میزان بیان TNF-α که عاملی پیش‌التهابی و آپوپتوزی است نیز در اثر تمرین تناوبی شدید، کاهش یافته است. با این حال پژوهش‌های بسیاری لازم است تا نتایج فوق را در افراد دیابتی به اثبات برساند. با کاهش عواملی همچون، استرس اکسیداتیو، التهاب و همچنین افزایش ترشح نوروتروفین‌ها و نورون‌زایی، می‌توان به آثار سودمند فعالیت ورزشی در ساختار و عملکرد مغز، به خصوص هیپوکامپ دیابتی که در معرض آسیب است، دست یافت. استفاده از این نوع تمرین در افراد مبتلا به دیابت برای بهبود عملکرد استفاده شود، اما قبل از شروع، باید افراد از تمرینات سبک شروع کنند تا به سطحی از آمادگی برسند. استفاده از این نوع تمرین در افراد مبتلا به دیابت برای بهبود عملکرد استفاده شود.

با توجه به نتایج و پژوهش صورت گرفته، می توان گفت این نوع تمرین کاربرد موثری در بهبود حافظه و جلوگیری از تحلیل بافت هیپوکامپ افراد دیابتی دارد.

قدردانی

از سرکار خانم دکتر ندا خالدی و آقای دکتر حسین عسکری به سبب همکاری در تدوین، اجرا و تکمیل مطالعات این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

در پژوهش حاضر برای کار با موش های صحرایی از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا استفاده شد. در تمامی مراحل کار، فرد پژوهشگر همواره این موارد را مورد نظر داشت. در ضمن این طرح در کمیته اخلاق پژوهشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی به شماره IR.SSRI.REC.1397,255 ثبت گردیده است.

منابع مالی

این پژوهش با هزینه‌های شخصی انجام شده است.

منافع متقابل

محققان منافع متقابلی از تالیف و انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مؤلفان

ش ع. مطالعه اولیه، انجام آزمون‌ها، جمع‌آوری نتایج و تهیه نسخه نهایی، ن خ. استاد راهنما، ویرایشگر و نویسنده‌ی مسئول و ح ع. مشاور کار را به انجام رسانده‌اند.

References

1. Eyileten C, Kaplon-Cieslicka A, Mirowska-Guzel D, Malek L, Postula M. Antidiabetic Effect of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Its Association with Inflammation in Type 2 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res.* 2017;2017:2823671. doi: 10.1155/2017/2823671
2. Bertram S, Brixius K, Brinkmann C. Exercise for the diabetic brain: how physical training may help prevent dementia and Alzheimer's disease in T2DM patients. *Endocrine.* 2016;53(2):350-63. doi: 10.1007/s12020-016-0976-8
3. Winter B, Breitenstein C, Mooren F, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A, et al. High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem.* 2007;87(4):597-609. doi: 10.1016/j.nlm.2006.11.003
4. Lin Y-T, Ro L-S, Wang H-L, Chen J-Ch. Up-regulation of dorsal root ganglia BDNF and trkB receptor in inflammatory pain: an in vivo and in vitro study. *J Neuroinflammation.* 2011;30(8):126. doi: 10.1186/1742-2094-8-126
5. Kaboli Kafshgiri S, Ghafari S, Hojjati V, Asadi E, Golalipour MJ. [Effect of gestational diabetes on astrocyte density in CA1 and CA3 subfields of hippocampus in Rat offspring]. *J Gorgan Uni Med Sci.* 2012;14(1):19-25. [Article in Persian]. doi: 10.4067/S0717-95022013000200057
6. Molteni R, Ying Zh, Gomez-Pinilla F. Differential effect of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *Eur J Neurosci.* 2002;16(6):1107-16. doi: 10.1046/j.1460-9568.2002.02158.x.
7. Jiménez-Maldonado A, Rentería I, García-Suárez PC, Moncada-Jiménez J, Freire-Royes LF. The Impact of High-Intensity Interval Training on Brain Derived Neurotrophic Factor in Brain: A Mini-Review. *Front Neurosci.* 2018. doi: 10.3389/fnins.2018.00839
8. Faheem NM, El Askary A. Neuroprotective role of curcumin on the hippocampus against the structural and serological alterations of streptozotocin-induced diabetes in Sprague Dawely rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2017;20(6):690-9. doi: 10.22038/IJBMS.2017.8839.
9. Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res.* 2008;2008:704045. doi: 10.1155/2008/704045.
10. Rajasekar R, Manokaran K, Rajasekaran N, Duraisamy G, Kanakasabapathi D. Effect of Alpinia calcarata on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. *J Diabetes Metab Disord.* 2014;13(1):33. doi: 10.1186/2251-6581-13-33.
11. Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *In Pain Research.* 2004;55-65. Humana Press. doi: 10.1385/1-59259-770-X:055
12. Songstad NT, Kaspersen KH, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of High Intensity Interval Training on Pregnant Rats, and the Placenta, Heart and Liver of Their Fetuses. *PLoS One.* 2015 Nov 13;10(11):e0143095. doi: 10.1371/journal.pone.0143095
13. Schmidt-Kassow M, Deusser M, Thiel C, Otterbein S, Montag C, Reuter M, Banzer W, Kaiser J. Physical exercise during encoding improves vocabulary learning in young female adults: a neuroendocrinological study. *PLoS One.* 2013 May 20;8(5):e64172. doi: 10.1371/journal.Pone.0064172.
14. Sierakowiak A, Mattsson A, Gómez-Galán M, Feminía T, Graae L, Aski SN, et al. Hippocampal morphology in a rat model of depression: the effects of physical activity. Open Neuroimag J 2015. Jan 30;9:1-6. doi: 10.2174/1874440001509010001
15. American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012. Diabetes Care. 2013 Apr;36(4):1033-46. doi: 10.2337/dc12-2625.
16. Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Feb 15;108(7):3017-22. doi: 10.1073/pnas.1015950108.
17. Afzalpour ME, Chadorneshin HT, Foadoddini M, Eivari HA. [Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain]. Physiol Behav 2015. Aug 1;147:78-83. [Article in Persian]. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.04.012.
18. Freitas DA, Rocha-Vieira E, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, Mendonça VA, Lacerda AC, Massensini AR, Poortamns JR, Meeusen R. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. Physiology & behavior. 2018 Feb 1;184:6-11.
19. Mir A, Azarbayjani MA, Matin Homai H, Fanaei H. Effect of Resistance and Aerobic Exercises with Different Intensities on BDNF & TrkB Receptor Gene Expression in Ovariectomized Mice. Complementary Medicine Journal of faculty of Nursing & Midwifery. 2018;8(2):2304-16. [Article in Persian]. doi: 10.1016/j.modgep.2003.11.005
20. Taherichadorneshin H, Abtahi Eivary S.H, Shirvani H, Yousefi MR. [The interactive effect of vitamin E supplementation along with endurance and sprint exercise trainings on brain content of vascular endothelial growth factor]. Journal of practical studies of Biosciences in Sport. 2019;7(13):19-30. magiran.com/p2032685
21. Tonoli C, Heyman E, Roelands B, Buyse L, Piacentini F, Berthoin S, Bailey S, Pattyn N, Meeusen R. BDNF, IGF-I, Glucose and Insulin during Continuous and Interval Exercise in Type 1 Diabetes. Int J Sports Med. 2015 Nov;36(12):955-9. doi: 10.1055/s-0035-1548886.
22. Skandari M NG, Daryanosh F, Samadi M, Honarpisheh Sh, Hasanpor M. [Comparative effect of single bout of

continuous endurance and high intensity interval exercise on serum BDNF in rat]. Kashan University of Medical Sciences. 2015;20(2). [Article in Persian]. doi: 10.1186/ ISRCTN95488515

23. Domínguez-Sanchéz MA, Bustos-Cruz RH, Velasco-Orjuela GP, Quintero AP, Tordecilla-Sanders A, Correa-Bautista JE. Acute Effects of High Intensity, Resistance, or Combined Protocol on the Increase of Level of Neurotrophic Factors in Physically Inactive Overweight Adults: The BrainFit Study. Front Physiol. 27 June 2018. doi: 10.3389/fphys.2018.00741
24. Carter LG, Ngo Tenlep SY, Woollett LA, Pearson KJ. Exercise Improves Glucose Disposal and Insulin Signaling in Pregnant Mice Fed a High Fat Diet. J Diabetes Metab. 2015 Dec;6(12):634. doi: 10.4172/2155-156.1000634.
25. Madsen SM, Thorup AC, Bjerre M, Jeppesen PB. Does 8 weeks of strenuous bicycle exercise improve diabetes-related inflammatory cytokines and free fatty acids in type 2 diabetes patients and individuals at high-risk of metabolic syndrome? Arch Physiol Biochem. 2015;121(4):129-38. doi: 10.3109/13813455.2015.1082600.
26. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. JAMA. 2003 Apr 9;289(14): 1799-804. doi: 10.1001/jama.289.14.1799.
27. Adamopoulos S, Parissis J, Kroupis C, Georgiadis M, Karatzas D, Karavolias G, Koniavitou K, Coats AJ, Kremastinos DT. Physical training reduces peripheral markers of inflammation in patients with chronic heart failure. Eur Heart J. 2001 May;22(9):791-7. doi: 10.1053/ euhj.2000.2285.
28. Saucedo Marquez CM, Vanaudenaerde B, Troosters T, Wenderoth N. High-intensity interval training evokes larger serum BDNF levels compared with intense continuous exercise. J Appl Physiol (1985). 2015 Dec 15;119(12): 1363-73. doi: 10.1152/japplphysiol.00126.2015