Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

Comparison of the effects of eight-week of endurance training and high-intensity interval training on the mTOR/CREB/CaMKII signaling pathway and BDNF expression in the hippocampus of diabetic rats

Maryam Heydari[1]*, Seyyed Mohammad Marandi[2]

1. Graduate Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran - M.heydarii2024@gmail.com
2. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran – smmarandi2001@yahoo.com

Issue in Progress

Background and Aim: Diabetes mellitus is a metabolic disorder linked to neurological complications, hippocampal dysfunction, impaired synaptic plasticity, and cognitive decline. Chronic hyperglycemia, oxidative stress, neuroinflammation, and disrupted insulin signaling can reduce brain-derived neurotrophic factor (BDNF), a critical neurotrophin for neuronal survival, synaptic remodeling, learning, and memory. BDNF, through its tropomyosin receptor kinase B (TrkB), regulates multiple intracellular pathways, including Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII), cAMP response element-binding protein (CREB), and the mammalian target of rapamycin (mTOR), which together modulate synaptic plasticity, gene transcription, protein synthesis, and neuronal adaptation. Exercise training is a non-pharmacological strategy known to enhance metabolic and neural health; however, the differential molecular effects of endurance training versus high-intensity interval training (HIIT) on hippocampal mTOR/CREB/CaMKII signaling under diabetic conditions remain unclear. This study aimed to investigate and compare the effects of eight-week of endurance training and HIIT on the mTOR/CREB/CaMKII signaling pathway and BDNF gene expression in the hippocampus of diabetic rats.

Materials and Methods: This experimental study included 40 male Wistar rats, aged 8–10 weeks and weighing 200–250 g. Animals were housed under controlled conditions (22±2 °C, 50–60% humidity, 12:12 hours light/dark cycle) with ad libitum access to standard food and water. Diabetes was induced via a single intraperitoneal injection of Streptozotocin (55 mg/kg). Seventy-two hours post-injection and after 8 hours fasting, rats with fasting blood glucose above 250 mg/dL were considered diabetic. Rats were randomly assigned to four groups including normal control (NC), diabetic control (DC), diabetic endurance training (DE), and diabetic HIIT (DHIIT), with 10 rats per group. During the intervention, two DE rats and one DHIIT rat died and were excluded from analyses.

Exercise was performed on a rodent treadmill five days per week for eight weeks. Endurance training included warm-up and cool-down at 10 m/min, with progressive increases in running speed and duration, advancing from 20 min in weeks 1–2 to 60 min in weeks 7–8. The HIIT consisted of repeated high-intensity running bouts interspersed with active recovery, increasing from 15 min in weeks 1–2 to 45 min in weeks 7–8, with peak speed reaching 22 m/min. Control groups were exposed to treadmill duration without intensity to control for stress.

Forty-eight hours after the final session, rats were anesthetized with Ketamine/Xylazine, and hippocampal tissues were rapidly isolated and stored at −80°C. Total RNA was extracted, cDNA synthesized, and Real-time PCR using SYBR Green

[1] Department of Exercise Physiology, University of Isfahan, Isfahan; Postal Code: 8174673441, Email: M.heydarii2024@gmail.com

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

was performed to assess relative mRNA expression of BDNF, CaMKII, CREB, and mTOR, with β-actin as the reference gene. Relative gene expression was calculated using the ΔΔCT method. Data normality and variance homogeneity were evaluated via Shapiro–Wilk and Levene tests, and group differences were analyzed using two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test, with significance set at $p<0.05$.

Findings: At baseline, fasting blood glucose levels were similar among all groups, indicating comparable metabolic conditions before the intervention. By the end of the study, the DC group showed significantly higher fasting blood glucose than the normal control group, confirming successful diabetes induction. Both DE and DHIIT groups significantly reduced fasting blood glucose compared with the DC group, with no significant difference between the two exercise protocols. This indicates that both training modalities were effective in improving glycemic control in diabetic rats (Figure 1 A and B).

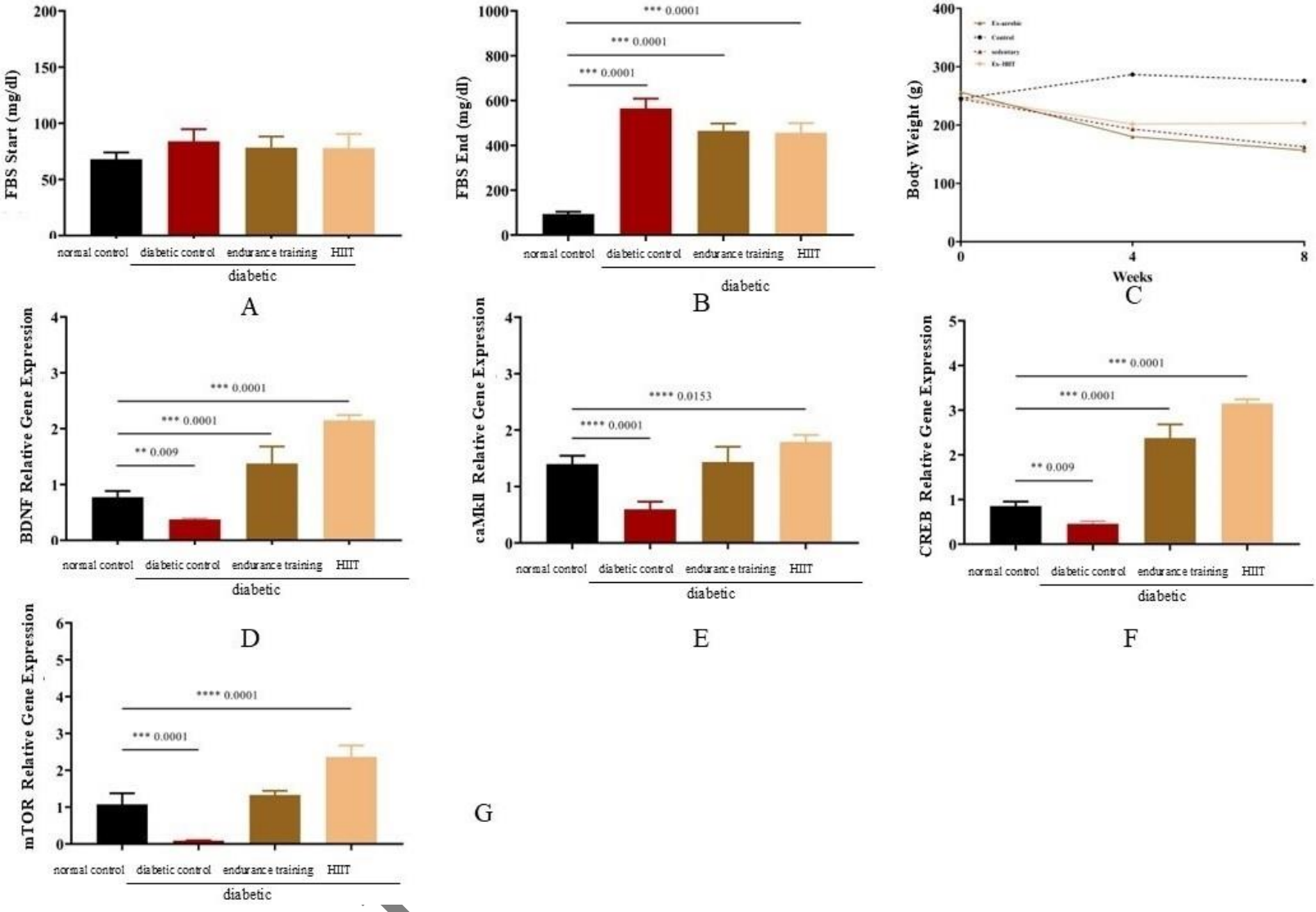
Body weight changes varied across groups during the eight-week intervention. The normal control group showed an initial increase in body weight, whereas the diabetic control group exhibited progressive weight loss. The DE group showed a continuous and more pronounced decline in body weight throughout the study. In contrast, the DHIIT group experienced weight reduction until week 4, followed by relative stabilization until week 8 (Figure 1 C).

At the molecular level, diabetes significantly reduced the relative expression of BDNF ($p < 0.009$), CaMKII ($p < 0.0001$), CREB ($p < 0.009$) and mTOR ($p<0.0001$) genes in the hippocampus compared with the NC group (Figure 1 D,E,F,G).

Both types of exercise training significantly compensated for these decreases and resulted in increased expression of BDNF ($p<0.0001$), CaMKII ($p<0.001$), CREB ($p<0.0001$), and mTOR ($p<0.0001$) genes compared to the DC group. However, the DHIIT group showed a more pronounced increase in the expression of CREB ($p<0.0001$) and mTOR ($p<0.0001$) genes compared to the DE group (Figure 1 D,E,F,G).

Issue in Progress

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport



Fiqure 1: Comparison of (A) FBS at baseline, (B) FBS at the end of the intervention, (C) body weight, (D) BDNF relative gene expression, (E) CaMKII relative gene expression, (F) CREB relative gene expression, and (G) mTOR relative gene expression between groups. FBS: Fasting blood sugar; BDNF: brain-derived neurotrophic factor; CaMKII: Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II; CREB: cAMP response element-binding protein; mTOR: mammalian target of rapamycin, HIIT: High intensity interval training. Data are presented as Mean±SE. Horizontal lines indicate significant pairwise comparisons. *p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.

Issu

Conclusion: The present study demonstrated that diabetes markedly reduced hippocampal BDNF expression and suppressed key components of the mTOR/CREB/CaMKII signaling pathway, indicating impaired neurotrophic signaling,

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

synaptic plasticity, and neuroplastic adaptation. Both 8-week of endurance training and HIIT attenuated these diabetes-induced molecular disturbances and improved fasting blood glucose levels in diabetic rats. The exercise-induced increases in BDNF, CaMKII, CREB, and mTOR expression suggest enhanced neurotrophic support, calcium-dependent signaling, transcriptional regulation, protein synthesis capacity, and synaptic remodeling in the diabetic hippocampus. Since CREB contributes to activity-dependent BDNF transcription, its elevation may partly explain the increased BDNF mRNA expression following exercise training. In direct comparison, HIIT produced greater increases than endurance training, particularly in CREB and mTOR expression, possibly due to its intermittent and metabolically demanding nature, which may induce stronger adaptive cellular signaling. Overall, both exercise protocols improved diabetes-related molecular impairments, but HIIT appeared to activate neuroplasticity-related signaling more robustly. These findings support structured exercise, especially HIIT, as a promising non-pharmacological strategy for targeting molecular disturbances associated with diabetic neurocomplications. However, future studies should examine protein levels, phosphorylation status, and behavioral cognitive outcomes to confirm the functional relevance of these molecular adaptations.

Keywords: High-intensity interval training, Endurance training, Diabetes mellitus, Brain-derived neurotrophic factor, Hippocampus.

Ethical Considerations: All experimental procedures were conducted in accordance with ethical guidelines for animal research. Animal handling, diabetes induction, exercise interventions, anesthesia, tissue sampling, and euthanasia-related procedures were performed with efforts to minimize pain, stress, and unnecessary harm.

Compliance with Ethical Guideline: This study was approved by the ethics committee of the university of Isfahan under the ethical approval code IR.UI.REC.1402.145.

Funding: No specific funding was reported for this study.

Conflicts of Interest: The authors declared no conflicts of interest.

Issue in Progress

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

مقایسه اثر هشت هفته تمرین استقامتی و تمرین تناوبی شدید بر مسیر سیگنالینگ mTOR/CREB/CaMKII و بیان BDNF در هیپوکامپ رت‌های دیابتی

مریم حیدری*[۱]، سید محمد مرندی [۲]

۱: محقق دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران -- 09135910540 M.heydarii2024@gmail.com.

۲: استاد دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران – 09131102559 smmarandi2001@yahoo.com.

چکیده

زمینه و هدف: دیابت با کاهش فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و مسیرهای سلولی مرتبط با آن، باعث اختلال در پلاستیسیته سیناپسی هیپوکامپ می‌شوند. ورزش یک مداخله موثر در بهبود این روند است اما سازوکارهای مولکولی آن به‌خوبی درک نشده‌است. این مطالعه با هدف مقایسه اثرات تمرین استقامتی و تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر مسیر سیگنالینگ پروتئین کیناز فعال شونده با AMP (CaMKII)/ پروتئین پیوند دهنده عنصر پاسخ cAMP (CREB)/ هدف مکانیکی راپامایسین (mTOR) و بیان BDNF در هیپوکامپ رت‌های دیابتی انجام شد. **روش تحقیق:** در این مطالعه که از نوع تجربی است، ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار به طور تصادفی به گروه‌های کنترل سالم (NC)، کنترل دیابتی (DC)، دیابتی + تمرین استقامتی (DE) و دیابتی + تمرین تناوبی شدید (DHIIT) تقسیم شدند. برنامه‌های تمرینی استقامتی و HIIT به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته برای گروه‌های مربوطه اجرا شد. در هر دو پروتکل، شدت و مدت زمان تمرین به تدریج در طول دوره افزایش یافت، به طوری که در پایان ۸ هفته، کل زمان جلسات تمرینی به طور قابل توجهی نسبت به ابتدای دوره افزایش پیدا کرد. دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین (۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) القا شد. در پایان بیان ژن‌های BDNF، CaMKII، CREB و mTOR در بافت هیپوکامپ با روش Real- time PCR اندازه‌گیری شدند. اختلافات بین گروه‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح p<۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** دیابت باعث کاهش معنادار در بیان ژن‌های BDNF (p<۰/۰۰۹)، CaMKII (p<۰/۰۰۰۱)، CREB (p<۰/۰۰۹) و mTOR (p<۰/۰۰۰۱) در هیپوکامپ رت‌ها شد. هر دو نوع تمرین ورزشی این کاهش‌ها را به طور قابل توجهی جبران کردند و منجر به افزایش بیان ژن‌های BDNF (p<۰/۰۰۰۱)، CaMKII (p<۰/۰۰۱)، CREB (p<۰/۰۰۰۱) و mTOR (p<۰/۰۰۰۱) نسبت به گروه کنترل دیابتی شدند. با این حال، گروه HIIT افزایش بارزتری را در بیان ژن‌های CREB (p<۰/۰۰۰۱) و mTOR (p<۰/۰۰۰۱) در مقایسه با گروه تمرین استقامتی، نشان داد. **نتیجه‌گیری:** هم تمرین استقامتی و هم HIIT قادر به بازیابی مسیر سیگنالینگ mTOR/CREB/CaMKII و افزایش بیان ژن BDNF در هیپوکامپ رت‌های دیابتی هستند. با این حال، به نظر می‌رسد HIIT در فعال‌سازی مؤثرتر اجزای پایین‌دست این مسیر، به ویژه mTOR و CREB، برتری دارد که می‌تواند آن را به عنوان یک استراتژی ورزشی کارآمدتر برای هدف‌گیری اختلالات مولکولی مرتبط با عوارض عصبی دیابت مطرح کند.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

[۱] اصفهان، دانشگاه اصفهان، گروه فیزیولوژی ورزش، کد پستی: ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱، پست الکترونیک: M.heydarii2024@gmail.com
Isfahan, University of Isfahan, Department of Exercise Physiology, Postal Code: 8174673441, Email: M.heydarii2024@gmail.com

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی شدید، تمرین استقامتی، دیابت ملیتوس، عامل نوروتروفیک مشتق از مغز، هیپوکامپ.

نسخه پیش از انتشار ویراستاری نشده

Comparison of the effects of eight weeks of endurance training and high-intensity interval training on the mTOR/CREB/CaMKII signaling pathway and BDNF expression in the hippocampus of diabetic rats

Maryam Heydari*[1], Seyyed Mohammad Marandi[2]

1:Researcher in Faculty of Sport Sciences, Department of Exercise Physiology, University of Isfahan, Isfahan, Iran -M.heydarii2024@gmail.com 09135910540.-

2: Professor at Faculty of Sport Sciences, Department of Exercise Physiology, University of Isfahan, Isfahan, Iran – smmarandi2001@yahoo.com 09131102559.

Abstract

Background and Objective: Diabetes impairs hippocampal synaptic plasticity by reducing brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its associated cellular pathways. Exercise is an effective intervention in improving this process, but its molecular mechanisms are not well understood. This study aimed to compare the effects of endurance training and high-intensity interval training (HIIT) on the AMP-activated protein kinase (CaMKII)/cAMP response element binding protein (CREB)/mechanistic target of rapamycin (mTOR) signaling pathway and BDNF expression in the hippocampus of diabetic rats. **Materials and Methods:** In this experimental study, 40 male Wistar rats were randomly divided into healthy control (NC), diabetic control (DC), diabetic + endurance training (DE), and diabetic + high-intensity interval training (DHIIT) groups. Endurance and HIIT training programs were performed for 8 weeks, 5 days a week for the respective groups. In both protocols, the intensity and duration of exercise gradually increased during the course, so that at the end of 8 weeks, the total time of exercise sessions significantly increased compared to the beginning of the course. Diabetes was induced by injection of streptozotocin (55 mg/kg body weight). At the end, the expression of BDNF, CaMKII, CREB and mTOR genes in hippocampal tissue was measured by Real-time PCR. Differences between groups were examined using two-way analysis of variance and Tukey's post hoc test at the $p < 0.05$ level. **Results:** Diabetes caused a significant decrease in the expression of BDNF ($p < 0.009$), CaMKII ($p < 0.0001$), CREB ($p < 0.009$) and mTOR ($p < 0.0001$) genes in the hippocampus of rats. Both types of exercise training significantly compensated for these decreases and resulted in increased expression of BDNF ($p<0.0001$), CaMKII ($p<0.001$), CREB ($p<0.0001$), and mTOR ($p<0.0001$) genes compared to the diabetic control group. However, the HIIT group showed a more pronounced increase in the expression of CREB ($p<0.0001$) and mTOR ($p<0.0001$) genes compared to the endurance training group. **Conclusion:** Both endurance training and HIIT are able to restore the mTOR/CREB/CaMKII signaling pathway and increase BDNF gene expression in the hippocampus of diabetic rats. However, HIIT seems to be superior in more effective activation of downstream components of this pathway, especially mTOR and

[1] Isfahan, University of Isfahan, Department of Exercise Physiology, Postal Code: 8174673441, Email: M.heydarii2024@gmail.com

CREB, which could suggest it as a more efficient exercise strategy to target molecular abnormalities associated with diabetic neurological complications.

Keywords: High-intensity interval training, endurance training, diabetes mellitus, brain-derived neurotrophic factor, hippocampus.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

مقدمه

دیابت ملیتوس[1] به‌ویژه دیابت نوع دو، تنها یک اختلال متابولیک نیست، بلکه با پیامدهای عصبی گسترده‌ای نیز همراه است (۱). هیپرگلیسمی مزمن، استرس اکسیداتیو و اختلال در سیگنال‌دهی انسولین موجب بروز تغییرات ساختاری و عملکردی در مغز می‌شود و بیشترین تأثیر این آسیب‌ها در هیپوکامپ، یعنی ناحیه‌ای کلیدی در حافظه، یادگیری و پلاستیسیته سیناپسی، مشاهده شده است (۲،۳). شواهد رو به افزایش نشان می‌دهد که شرایط دیابتی سبب کاهش فاکتورهای نوروتروفیک، تضعیف مسیرهای سیگنالینگ سیناپسی و در نهایت افت عملکرد شناختی می‌گردد. در میان این اختلالات مولکولی، کاهش بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز[2] (BDNF) به عنوان یکی از عوامل اصلی نوروژنیک مرتبط با دیابت مطرح شده است (۴).

BDNF نقش حیاتی در سیستم عصبی و متابولیسم بدن ایفا می‌کند. این پروتئین علاوه بر تحریک بازسازی عصبی و انعطاف‌پذیری نورون‌ها، در توسعه و حمایت از سیستم عصبی نقش دارد (۵). BDNF بالغ با میل ترکیبی بالا به گیرنده تروپومیوزین کیناز B [3] (TrkB) متصل می‌شود. گیرنده‌های TrkB پروتئین‌هایی هستند که توسط سلول‌های عصبی تولید می‌شوند و نقش مهمی در انتقال سیگنال‌های حیاتی برای رشد و عملکرد نورون‌ها دارند (۶).

محور سیگنالینگ BDNF/TrkB[4] (اتصال BDNF به گیرنده TrkB) نقش اساسی در بقا و رشد نورونی، تقویت سیناپسی و تسهیل پتانسیل‌سازی بلندمدت[5] (LTP) بر عهده دارد. فعال‌سازی این محور به مجموعه‌ای از مسیرهای درون‌سلولی وابسته است که مهم‌ترین آن‌ها شامل کیناز وابسته به کالمودولین[6] (CaMKII)، فاکتور رونویسی CREB[7] و مسیر mTOR[8] است (۷). فسفریلاسیون CREB توسط CaMKII بیان BDNF را افزایش می‌دهد. CaMKII یک تعدیل‌کننده کلیدی انتقال سیناپسی و انعطاف‌پذیری است و CREB عامل رونویسی اصلی مسئول بیان ژن وابسته به فعالیت، از جمله خود BDNF است (۸، ۹). هدف پستانداران راپامایسین یا mTOR واسطه سنتز پروتئین و کنترل متابولیک برای فرایند نوروپلاستی است. این مسیر، سنتز پروتئین، بازسازی سیناپسی و بقای نورونی را تنظیم می‌کند (۱۰).

1. Diabetes mellitus
2. Brain-derived neurotrophic factor
3. Tropomyosin receptor kinase B
4. Brain-derived neurotrophic factor / Tropomyosin receptor kinase B
5. long-term potentiation
6. Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase
7. cAMP response element-binding protein
8. The mammalian target of rapamycin

مطالعات متعددی کاهش BDNF را در شرایط دیابتی گزارش کرده اند (۱۱، ۱۲). شرایط دیابتی باعث اختلال در سیگنالینگ عصبی BDNF/TrkB و فعال شدن مسیرهای آپوپتوز عصبی در قشر مغز دیابتی می‌شود (۱۰). همچنین دیابت فعالیت CREB را مختل و فعالیت مسیر mTOR را دچار مشکل می‌کند (۱۳، ۱۴). هرگونه اختلال در این شبکه سیگنالینگ BDNF می‌تواند منجر به کاهش پلاستیسیته هیپوکامپ و بروز نقص‌های شناختی شود؛ موضوعی که در مدل‌های دیابتی به‌طور بارز مشاهده می‌شود (۱۵).

فعالیت ورزشی به طور گسترده به عنوان یک راهبرد کلیدی و غیردارویی برای بهبود سلامت عصبی و برقراری مجدد هموستاز متابولیک، به ویژه در بیماری‌هایی نظیر دیابت، شناخته شده‌است. دو الگوی تمرینی اصلی که در پژوهش‌های مرتبط با بهبود عملکرد مغزی و متابولیک مورد توجه قرار گرفته‌اند، عبارتند از تمرین استقامتی و تمرین تناوبی شدید[1](HIIT). تمرین استقامتی که معمولاً با فعالیت‌های طولانی‌مدت و با شدت پایین تا متوسط مشخص می‌شود، اثرات مثبت متعددی بر سیستم قلبی‌عروقی، متابولیسم انرژی و مقاومت به انسولین دارد. مطالعات نشان داده‌اند که این نوع تمرین می‌تواند با افزایش بیان فاکتورهای نوروتروفیک، مانند BDNF، به نوروژنز و پلاستیسیته سیناپسی کمک کند (۱۶، ۱۷).

در مقابل، HIIT شامل دوره‌های کوتاه فعالیت با شدت بالا است که با فواصل استراحت یا فعالیت با شدت پایین همراه است. این الگو تمرینی به دلیل توانایی‌اش در ایجاد تغییرات متابولیکی و فیزیولوژیکی قابل توجه در مدت زمان کوتاه‌تر، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌است. تحقیقات پیشین نشان می‌دهند که HIIT قادر است حساسیت به انسولین را به طور مؤثری بهبود بخشد، استرس اکسیداتیو را کاهش دهد و با فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ کلیدی، اثرات نوروحفاظتی را اعمال کند (۱۸، ۱۹).

در سطح سلولی، مکانیسم‌های مولکولی که اثرات مفید ورزش را تسهیل می‌کنند، پیچیده و چندوجهی هستند. شواهد علمی حاکی از آن است که ورزش، به طور کلی، می‌تواند با افزایش ورود یون کلسیم به سلول‌های عصبی، منجر به فعال‌سازی کیناز CaMKII[2] شود. این فعال‌سازی به نوبه خود، فسفریلاسیون CREB را تحریک کرده و در نهایت، تولید BDNF را افزایش می‌دهد. BDNF نقش حیاتی در بقای نورون‌ها، رشد و تمایز آن‌ها و همچنین پلاستیسیته سیناپسی دارد که همگی در بهبود عملکرد شناختی و حافظه، به‌ویژه در هیپوکامپ، اهمیت دارند (۲۰، ۲۱).

با این حال، این احتمال وجود دارد که به دلیل شدت بالاتر و ماهیت غیرتداومی HIIT، این الگوی تمرینی بتواند مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با متابولیسم انرژی و رشد سلولی را به طور متفاوتی تحریک کند. برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که HIIT ممکن است منجر به فعال‌سازی قوی‌تری در مسیرهایی مانند پروتئین کیناز فعال شونده با AMP (AMPK)، هدف مکانیکی راپامایسین (mTOR) و پروتئین پیوند دهنده عنصر پاسخ cAMP (CREB) شود، که این فعال‌سازی‌های قوی‌تر می‌توانند به اثرات سیناپسی برجسته‌تر و سازگاری‌های مولکولی عمیق‌تری در مقایسه با تمرین استقامتی منجر شوند (۸, ۲۲).

با وجود شواهد رو به رشد درباره نقش تعدیل‌کننده ورزش بر عملکرد عصبی، هنوز مشخص نیست که کدام نوع تمرین ورزشی می‌تواند به‌طور مؤثرتر مسیر mTOR–CREB–CaMKII را در هیپوکامپ تحت شرایط دیابتی فعال کرده و از طریق آن بیان ژن BDNF

1. High intensity iterval training
2. AMP-activated protein kinase

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

را افزایش دهد. درک این تفاوت‌های احتمالی در پاسخ‌های مولکولی به دو الگوی تمرینی، برای طراحی مداخلات ورزشی مؤثرتر در مدیریت اختلالات عصبی مرتبط با دیابت، حائز اهمیت فراوان است.

تمرینات ورزشی به‌طور کلی در قالب الگوهای مختلفی طبقه‌بندی می‌شوند که از میان آن‌ها، تمرینات استقامتی و HIIT به‌عنوان دو رویکرد پرکاربرد و مورد توجه شناخته می‌شوند. شواهد گسترده‌ای نشان داده‌اند که هر دو نوع تمرین با بهبود شاخص‌های متابولیک، عملکرد شناختی و سلامت عصبی همراه هستند. به‌طور خاص، مطالعات پیشین حاکی از آن است که تمرینات استقامتی از طریق بهبود کارآیی میتوکندری، افزایش ظرفیت اکسیداتیو و تنظیم تدریجی مسیرهای سیگنالینگ سلولی عمل می‌کنند؛ در حالی‌که HIIT عمدتاً از طریق ایجاد استرس متابولیک شدیدتر، فعال‌سازی سریع‌تر مسیرهای مولکولی، و القای پاسخ‌های سازشی قوی‌تر، اثرات خود را اعمال می‌نماید (۱۶، ۱۷، ۱۹). در سطح مولکولی، مسیرهای سیگنالینگ کلیدی نظیر mTOR، CREB و CaMKII نقش اساسی در تنظیم پلاستیسیته سیناپسی، بقا و رشد نورونی ایفا می‌کنند و به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم بیان ژن BDNF شناخته می‌شوند. افزایش بیان BDNF به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های اصلی بهبود عملکرد شناختی و محافظت عصبی در پاسخ به تمرینات ورزشی مطرح شده است. همچنین، شواهد نشان می‌دهد که دیابت با اختلال در این مسیرهای سیگنالینگ و کاهش سطح BDNF در هیپوکامپ همراه است و می‌تواند به نقص در یادگیری و حافظه منجر شود.

در زمینه اثرات مستقل تمرینات استقامتی یا HIIT بر شاخص‌های سلامت و حتی برخی جنبه‌های عصبی، هنوز چندین چالش و خلأ پژوهشی قابل توجه باقی مانده است. نخست، اغلب مطالعات به بررسی جداگانه این دو نوع تمرین پرداخته و مقایسه مستقیم و نظام‌مند اثرات آن‌ها بر مسیرهای سیگنالینگ عصبی را مورد توجه قرار نداده‌اند. دوم، بخش قابل توجهی از تحقیقات موجود بر پیامدهای عملکردی بر شاخص‌های کلی تمرکز داشته و بررسی‌های عمیق در سطح مسیرهای مولکولی به‌ویژه در ارتباط با محور mTOR–CREB–CaMKII محدود است. سوم، در مدل‌های پاتولوژیک مانند دیابت، که با اختلال در همئوستاز عصبی و کاهش پلاستیسیته سیناپسی همراه است، داده‌های مقایسه‌ای در خصوص پاسخ‌های متفاوت این دو الگوی تمرینی ناکافی است. از این رو، با توجه به نقش کلیدی هیپوکامپ در فرآیندهای یادگیری و حافظه، حساسیت آن به تغییرات متابولیک ناشی از دیابت و همچنین جایگاه آن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین نواحی تولید BDNF در مغز، بررسی مقایسه‌ای اثر تمرینات استقامتی و HIIT بر مسیرهای سیگنالینگ mTOR–CREB–CaMKII و بیان BDNF در این بافت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این مطالعه در تلاش است تا با پر کردن این خلأ پژوهشی، درک دقیق‌تری از مکانیسم‌های مولکولی متفاوت ناشی از این دو نوع تمرین در شرایط دیابت ارائه دهد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارائه یک مقایسه مستقیم مولکولی میان اثرات تمرین استقامتی و HIIT بر مسیر سیگنالینگ mTOR–CREB–CaMKII و ارتباط آن با بیان BDNF در هیپوکامپ رت‌های دیابتی طراحی شده است. روشن شدن این تفاوت‌های مولکولی میان دو الگوی تمرینی، فراتر از تأیید مجدد اثرات مثبت کلی ورزش، می‌تواند چشم‌انداز تازه‌ای برای طراحی مداخلات ورزشی هدفمندتر و مؤثرتر در مقابله با عوارض عصبی ناشی از دیابت، با در نظر گرفتن ویژگی‌های منحصر به فرد هر الگوی تمرینی، فراهم آورد.

روش تحقیق

نسخه پیش از انتشار ورزش شناسه

حیوانات و شرایط نگه‌داری: در این پژوهش، تعداد ۴۰رت نر نژاد ویستار (وزن ۲۰۰ –۲۵۰ گرم، سن ۸–۱۰ هفته) از دانشکده علوم پزشکی دانشگاه اصفهان تهیه شدند. حیوانات در لانه حیوانات با دمای کنترل‌شده (۲۲ ± ۲ درجه سانتی‌گراد)، رطوبت نسبی ۵۰–۶۰ درصد و چرخه روشنایی ۱۲:۱۲ (روشن/تاریک) نگه‌داری شدند. آب و غذای استاندارد به‌صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت. این مطالعه از نوع تجربی است و تمام مراحل آن مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی آزمایش روی حیوانات با کد تائید IR.UI.REC.1402.145 انجام شد.

نحوه القای دیابت: برای القای مدل دیابت، از تزریق استرپتوزوتوسین[1] (STZ) استفاده شد. تزریق به‌صورت داخل صفاقی (i.p.) با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از محلول STZ در بافر سالین انجام گرفت. این روش و دوز، مطابق با پروتکل‌های استانداردی است که در پژوهش‌های پیشین برای القای دیابت نوع ۱ در مدل‌های حیوانی مورد استفاده قرار گرفته و اثربخشی آن تأیید شده است (۲۳). ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ و بعد از ۸ ساعت ناشتایی، اولین اندازه‌گیری قند خون ناشتا انجام شد. در این مرحله، حیواناتی که سطح قند خون ناشتای آن‌ها بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود، به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شده و وارد گروه‌های آزمایشی شدند. برای اطمینان از پایداری وضعیت دیابتی در طول دوره پژوهش و همچنین ارزیابی اولیه اثرات احتمالی تیمارها، اندازه‌گیری قند خون در فواصل زمانی منظم (هر دو هفته یک‌بار) تکرار گردید. حیواناتی که در طول این پایش‌های بعدی، سطح قند خونشان به زیر حد آستانه ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بازمی‌گشت یا دچار افت شدید قند خون (هیپوگلیسمی) می‌شدند، از پژوهش حذف می‌شدند تا از صحت نتایج نهایی اطمینان حاصل شود. تمام حیوانات در طول پژوهش، تحت شرایط کنترل شده، با یک رژیم غذایی استاندارد و معمولی تغذیه شدند و هیچ تفاوت معناداری در نوع یا میزان تغذیه بین گروه‌های مختلف وجود نداشت.

طرح آزمایشی و گروه‌بندی حیوانات: تخصیص حیوانات به گروه‌های آزمایشی پس از تأیید دیابت، با استفاده از روش تصادفی‌سازی بلوکی صورت گرفت تا اطمینان حاصل شود که توزیع حیوانات در گروه‌های مختلف، متعادل باشد. ترتیب تخصیص حیوانات به گروه‌ها در داخل هر بلوک به صورت تصادفی تعیین شد. به عنوان مثال در اولین بلوک، ترتیب تخصیص به صورت گروه DE، گروه NC، گروه DHIIT و گروه DC بود. این بدان معناست که اولین حیوان وارد شده به مطالعه به گروه DE، دومین حیوان به گروه NC، سومین حیوان به گروه DHIIT و چهارمین حیوان به گروه DC تخصیص یافت. این فرآیند برای همه بلوک‌ها تکرار شد تا در نهایت هر گروه شامل ۱۰ حیوان گردید. علاوه بر این، ارزیابی پارامترهای نهایی توسط محققی که از گروه‌بندی حیوانات بی‌اطلاع بود (کورسازی)، انجام شد تا از هرگونه سوگیری احتمالی جلوگیری به عمل آید.

حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه (n = ۱۰) تقسیم شدند که شامل گروه کنترل ساده (NC)، گروه کنترل دیابتی (DC)، گروه دیابتی همراه با تمرین استقامتی (DE) و گروه دیابتی همراه با تمرین تناوبی شدید (DHIIT) بود. در طول دوره انجام پژوهش، گروه دیابتی همراه با تمرین استقامتی (DE) با مرگ دو عضو و گروه دیابتی همراه با تمرین تناوبی شدید (DHIIT) با مرگ یک عضو همراه بود؛ در حالی که گروه‌های NC و DC هیچ تلفاتی نداشتند. حیوانات تلف شده از تحلیل‌های آماری نهایی حذف شدند. دلیل عدم استفاده از گروه کنترل سالم تمرکز اصلی پژوهش بر بررسی اثرات تمرین در بستر یک مدل دیابتی و مقایسه اثربخشی انواع مختلف

1. Streptozotocin

تمرین بر آن بود. گروه کنترل دیابتی (DC) به عنوان پایه مقایسه برای ارزیابی تأثیر دیابت بر پارامترهای مورد بررسی در نظر گرفته شد. در این چارچوب، گروه‌های تمرینی مستقیماً با گروه DC مقایسه می‌شوند تا اثر تمرین بر حیوانات دیابتی مشخص گردد.

پروتکل های ورزشی اجراشده: در این مطالعه، یک برنامه تمرین استقامتی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته روی تردمیل مخصوص جوندگان اجرا شد. در این مطالعه، شدت تمرینات استقامتی با تعیین سرعت دویدن بر روی تردمیل به صورت تدریجی و بر اساس پروتکل‌های استاندارد مورد استفاده در مطالعات پیشین بر روی جوندگان تعیین گردیده است. سرعت‌های ۱۵ تا ۲۲ متر بر دقیقه، معادل سرعت‌های دویدن چالش‌برانگیز اما قابل تحمل برای جوندگان در طولانی‌مدت انتخاب شده‌اند، به طوری که امکان تکمیل بخش اصلی تمرین با مدت زمان افزایشی را فراهم آورند. سرعت‌های انتخاب شده در محدوده سرعتی قرار دارند که در مطالعات مشابه، سازگاری‌های فیزیولوژیکی و مولکولی مرتبط با تمرین استقامتی را القا می‌کنند. همچنین، مشاهده افزایش معنادار بیان ژن‌های مرتبط با پلاستیسیته سیناپسی(BDNF, CREB, CaMKII, mTOR) در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل دیابتی، بیانگر کفایت و اثربخشی شدت تمرینات اجرا شده در ایجاد سازگاری‌های مولکولی مورد نظر است (۲۴). هر جلسه با یک مرحله گرم‌کردن و سردکردن ۶ دقیقه‌ای با سرعت ثابت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و پایان می‌یافت. بخش اصلی تمرین به تدریج از نظر مدت و شدت افزایش پیدا کرد. در هفته‌های ۱ و ۲ حیوانات به مدت ۸ دقیقه و با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه بر روی تردمیل دویدند و برای ایجاد سازگاری از شوک الکتریکی ۰/۱ استفاده شد. این مقادیر در هفته‌های ۳ و ۴ به سرعت ۱۷ متر بر دقیقه و مدت زمان ۱۸ دقیقه رسید. سپس در هفته‌های ۵ و ۶ به ۲۰ متر بر دقیقه در مدت زمان ۲۸ دقیقه رسید و در نهایت در دو هفته پایانی حیوانات در مدت زمان ۴۸ دقیقه و با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه بر روی تردمیل دویدند. در نتیجه، کل زمان هر جلسه از ۲۰ دقیقه در شروع به ۶۰ دقیقه در پایان دوره رسید. جزئیات پروتکل در جدول ۱ آمده است.

هفته	گرم کردن	مدت زمان تمرین اصلی (سرعت)	سرد کردن	کل زمان جلسه
۱-۲	۶ دقیقه	۸ دقیقه (۱۵ متر در دقیقه)	۶ دقیقه	۲۰ دقیقه
۳-۴	۶ دقیقه	۱۸ دقیقه (۱۷ متر بر دقیقه)	۶ دقیقه	۳۰ دقیقه
۵-۶	۶ دقیقه	۲۸ دقیقه (۲۰ متر در دقیقه)	۶ دقیقه	۴۰ دقیقه
۷-۸	۶ دقیقه	۴۸ دقیقه (۲۲ متر بر دقیقه)	۶ دقیقه	۶۰ دقیقه

جدول ۱: پروتکل تمرین استقامتی

نسخه در انتظار ویرایش نشده

همچنین یک برنامه HIIT نیز به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد (۲۴). هر جلسه با ۳ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه شروع و پس از آن دوره‌های دویدن با افزایش تدریجی سرعت اجرا می‌شد. در هفته‌های ۱ و ۲ حیوانات به مدت ۱۵ دقیقه و با حداکثر سرعت ۱۶ متر بر دقیقه بر روی تردمیل دویدند. این مقادیر در هفته‌های ۳ و ۴ به ۲۵ دقیقه دویدن با حداکثر سرعت ۱۸ متر بر دقیقه و فواصل ریکاوری با سرعت ۸ متر بر دقیقه رسید. در هفته‌های ۵ و ۶ حیوانات ۳۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه دویدند و در نهایت دو هفته پایانی را با ۴۵ دقیقه دویدن با حداکثر سرعت ۲۲ متر بر دقیقه به پایان رساندند. در پایان هر جلسه ۲ تا ۳ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه انجام می‌شد. گروه کنترل سالم و کنترل دیابتی نیز به منظور کنترل استرس ناشی از تردمیل در مدت زمان یکسان بر روی تردمیل قرار گرفتند. جزئیات پروتکل در جدول ۲ آمده است.

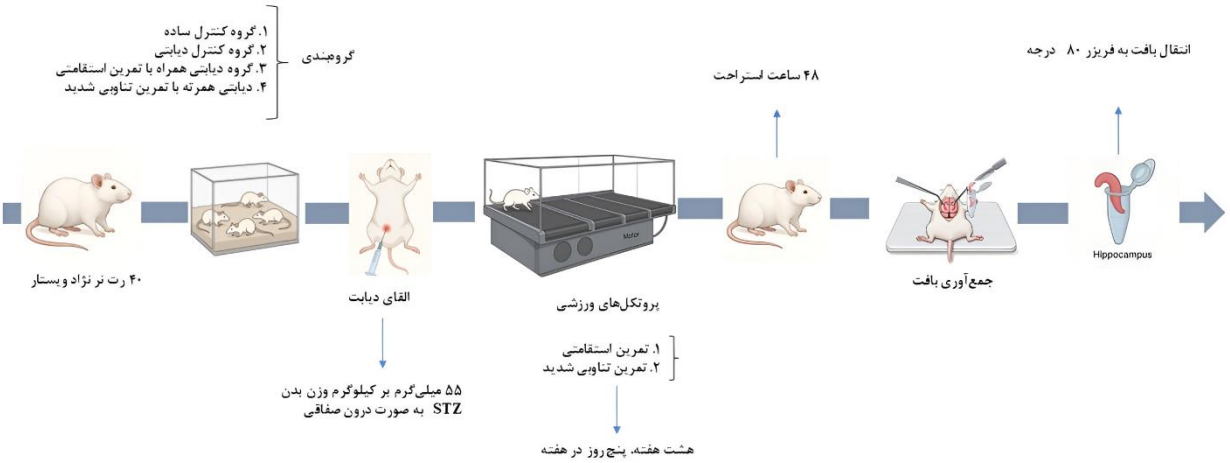
جدول ۲: پروتکل تمرین تناوبی شدید

هفته	گرم کردن	تناوب‌ها (متر بر دقیقه)	زمان تناوب‌ها	استراحت بین هر ست	سرد کردن	کل زمان جلسه
۱-۲	۳ دقیقه	۱۲،۱۴،۱۶	۲ دقیقه	۱:۱۵ دقیقه	۲ دقیقه	۱۵ دقیقه
۳-۴	۳ دقیقه	۱۲،۱۴،۱۶،۸،۱۶،۱۸	۲ دقیقه	۱:۱۵ دقیقه	۲ دقیقه	۲۵ دقیقه
۵-۶	۳ دقیقه	۱۲،۱۴،۱۶،۸،۱۶،۱۸،۸،۱۸،۲۰	۲ دقیقه	۱:۱۵ دقیقه	۲ دقیقه	۳۵ دقیقه
۷-۸	۳ دقیقه	۱۲،۱۴،۱۶،۸،۱۶،۱۸،۸،۱۸،۲۰،۸،۲۰،۲۲	۲ دقیقه	۱:۱۵ دقیقه	۲ دقیقه	۴۵ دقیقه

هدف از طراحی پروتکل HIIT در مطالعه حاضر، ایجاد یک بار تمرینی با نوسانات مشخص در شدت فعالیت به‌منظور القای پاسخ‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی متمایز نسبت به تمرین استقامتی بود. در این راستا، پروتکل HIIT به‌صورت تناوبی از دوره‌های کوتاه‌مدت فعالیت با شدت بالا و دوره‌های بازیابی فعال با شدت پایین‌تر طراحی شد، به‌گونه‌ای که تغییرات مکرر در شدت تمرین منجر به افزایش تقاضای انرژی، تجمع متابولیت‌ها و تحریک بیشتر مسیرهای سازگاری سلولی گردد. مبنای تمایز این پروتکل با تمرین استقامتی، نه صرفاً حداکثر شدت اعمال‌شده، بلکه الگوی توزیع شدت در طول زمان تمرین و نسبت زمان صرف‌شده در سطوح مختلف شدت بود. در پروتکل استقامتی، حیوانات در معرض دویدن تداومی با شدت متوسط و نسبتاً پایدار (با افزایش تدریجی) قرار گرفتند که عمدتاً منجر به فعال‌سازی مسیرهای اکسیداتیو و سازگاری‌های وابسته به استقامت می‌شود. در مقابل، در پروتکل HIIT، تکرار دوره‌های دویدن با شدت بالا (برای مثال سرعت‌های نزدیک به ۲۲ متر بر دقیقه) همراه با فواصل بازیابی فعال، موجب نوسانات شدیدتر در همئوستاز انرژی، افزایش نسبت AMP/ATP، تجمع لاکتات و در نتیجه فعال‌سازی قوی‌تر مسیرهای سیگنالینگ وابسته به استرس متابولیک گردید. از این رو، انتظار می‌رود که تفاوت در الگوی اعمال شدت، حتی در صورت شباهت نسبی در حداکثر سرعت، به تفاوت‌های معنی‌دار در پاسخ‌های مولکولی، به‌ویژه در مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با پلاستیسیته عصبی، منجر شود. این رویکرد امکان بررسی دقیق‌تر اثر نوع توزیع شدت تمرین بر سازگاری‌های متابولیکی و نوروبیولوژیک را فراهم می‌سازد

نسخه پیش‌نویس ویرایش نشده

مراحل نمونه‌برداری: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات در ساعت مشخصی از روز (ساعت ۸ صبح)، با تزریق دوز کتامین/زایلازین (با نسبت ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین، به صورت داخل صفاقی) بی‌هوش شدند. برای اطمینان حاصل شدن از بیهوشی عمیق، تست عقب کشیدن پا انجام و سپس خون‌گیری از قلب و عملیات تشریح انجام شد. مغزها سریعاً خارج و در شرایط سرد تشریح شدند. بافت هیپوکامپ به‌سرعت جداسازی، در لوله‌های میکروتیوب منتقل و در دمای ۸۰ - درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌های مولکولی نگه‌داری شد.



شکل ۱. شماتیک تصویری روش کار

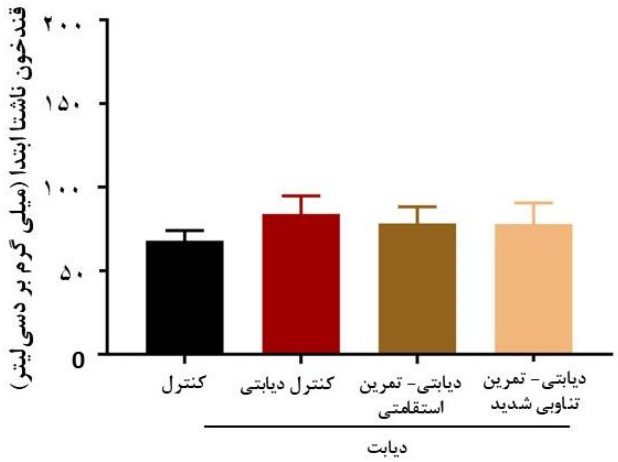
تعیین بیان ژن ها: برای ارزیابی سطوح بیان ژن‌ها، ابتدا RNA کل از بافت هیپوکمپ با استفاده از کیت ساخت شرکت ترمو فیشر ساینتیفیک[1] با شماره کاتالوگ ۱۵۵۹۶۰۱۸ استخراج شد. کیفیت و یکپارچگی RNAهای استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ مورد بررسی و تأیید قرار گرفت. در مرحله بعد، سنتز cDNA با به‌کارگیری ۲/۵ میکروگرم RNA، کیت آدیبو[2] کره‌جنوبی با شماره کاتالوگ -۱۱۰۲AB و مخلوطی از پرایمرهای الیگو dT و هگزامرهای تصادفی انجام شد. واکنش‌های Real-time PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر بر روی دستگاه ABI و با استفاده از مخلوط حاوی SYBR Green، cDNA سنتز شده و پرایمرهای اختصاصی طراحی‌شده برای ژن‌های مورد مطالعه و ژن مرجع (β-actin) اجرا گردید. در مطالعات مشابه، استفاده از β-actin به تنهایی نتایج قابل قبولی ارائه داده است. برنامه دمایی شامل چهل چرخه تکثیر بود. صحت فرآیند تکثیر و اختصاصی بودن محصولات با تحلیل منحنی ذوب (Melting curve) تأیید شد. در نهایت، داده‌های بیان ژن با روش ΔΔCt محاسبه و نسبت به ژن مرجع β-actin نرمال‌سازی گردیدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است.

1 Thermo Fisher scientific
2 Addbio

روش های تحلیل آماری: از آنجایی که پیش‌فرض‌های نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک[1] و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون[2] در تمام گروه‌ها برقرار بود، برای مقایسه میانگین بیان ژن‌ها بین گروه‌های مختلف از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه[3] استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار آماری ($p<۰/۰۵$)، مقایسه‌های زوجی با استفاده از آزمون تعقیبی توکی[4] صورت گرفت.

یافته‌ها

تغییرات گلوکزخون در ابتدا و انتهای مطالعه نتایج نشان داد که در ابتدای مطالعه، سطح گلوکز خون ناشتا بین گروه‌های کنترل سالم (۶۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)، کنترل دیابتی(۸۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)، دیابت - تمرین استقامتی (۷۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و دیابت - HIIT (۷۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) تفاوت معنی‌داری نداشت ($p<۰/۰۵$). این یافته نشان می‌دهد که پیش از آغاز مداخلات ورزشی، وضعیت قند خون ناشتا در گروه‌های دیابتی از نظر آماری همگن بوده است.

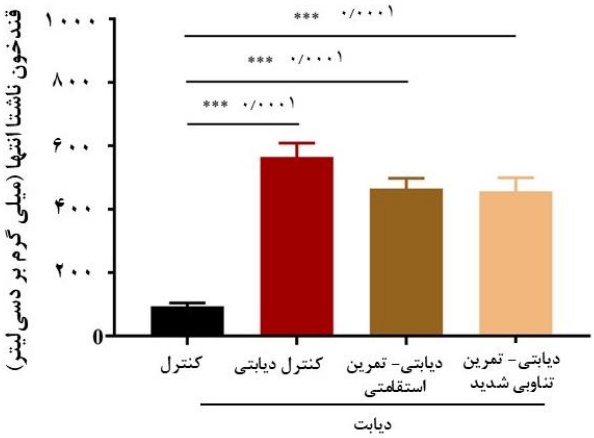


شکل ۲. مقایسه سطح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های موردمطالعه در ابتدای مطالعه. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$).

نتایج نشان داد که در پایان دوره مداخله، سطح گلوکز خون ناشتا در گروه کنترل دیابتی (۵۶۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل سالم(۹۳/۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بود ($p<۰/۰۰۰۱$). هر دو مداخله ورزشی، شامل تمرین استقامتی (۴۶۵/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و HIIT (۴۵۶/۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) موجب کاهش معنی‌دار قند خون ناشتا نسبت به گروه کنترل دیابتی شد ($p<۰/۰۰۰۱$). با این حال، بین دو گروه تمرین استقامتی و HIIT از نظر سطح گلوکز خون ناشتا در پایان مطالعه تفاوت

1 Shapiro-Wilk
2 Levene
3 Two-way analysis on variance
4 Tukey

معنی‌داری مشاهده نشد (۹۷۹/ ۰ >p) که نشان می‌دهد هر دو پروتکل ورزشی به‌طور مؤثری در بهبود کنترل گلوکز خون در شرایط دیابتی نقش دارند.

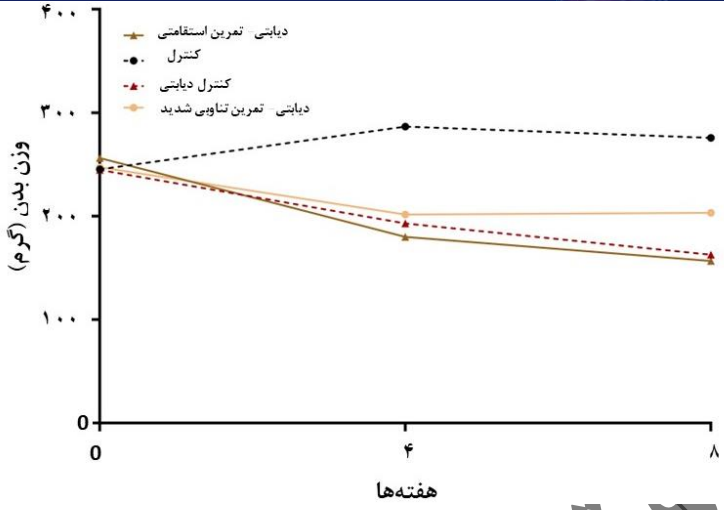


شکل ۳. مقایسه سطح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های موردمطالعه در انتهای مطالعه. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۰۱) است.**

تغییرات وزن: نتایج تغییرات وزن بدن نشان داد که در ابتدای مطالعه (هفته صفر)، تفاوت معنی‌داری بین وزن بدن گروه‌های کنترل، کنترل دیابتی، دیابت - تمرین استقامتی و دیابت - HIIT وجود نداشت. با گذشت زمان، الگوی تغییرات وزن بدن بین گروه‌ها متفاوت شد. در گروه کنترل، وزن بدن تا هفته چهارم افزایش یافت و سپس تا هفته هشتم کاهش خفیف و غیرمعنی‌داری را نشان داد. در مقابل، گروه کنترل دیابتی کاهش تدریجی وزن بدن را در طول دوره مطالعه تجربه کرد.

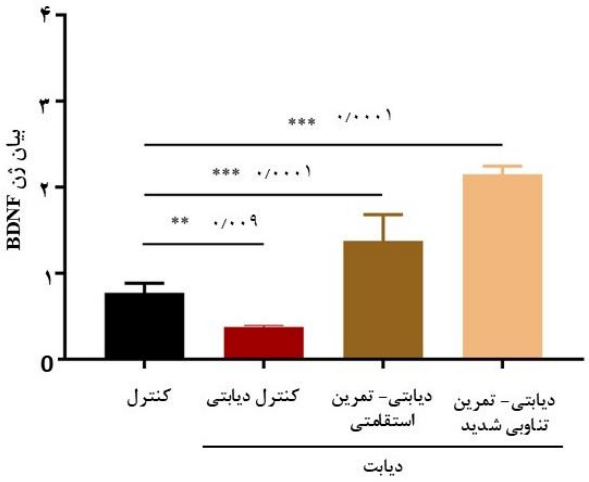
در گروه تمرین استقامتی، کاهش وزن بدن به‌طور پیوسته و بارز در طول ۸ هفته مشاهده شد، به‌طوری که این گروه بیشترین میزان کاهش وزن را در پایان دوره نشان داد. در گروه HIIT نیز کاهش وزن بدن تا هفته چهارم مشاهده شد، اما از هفته چهارم تا هفته هشتم وزن بدن تقریباً در سطح ثابتی باقی ماند. برای ارزیابی وزن بدن در طول زمان برای این گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر استفاده شد.

نسخه ویراستاری نشده



شکل ۴. مقایسه تغییرات وزن بدن (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه در طی ۸ هفته.

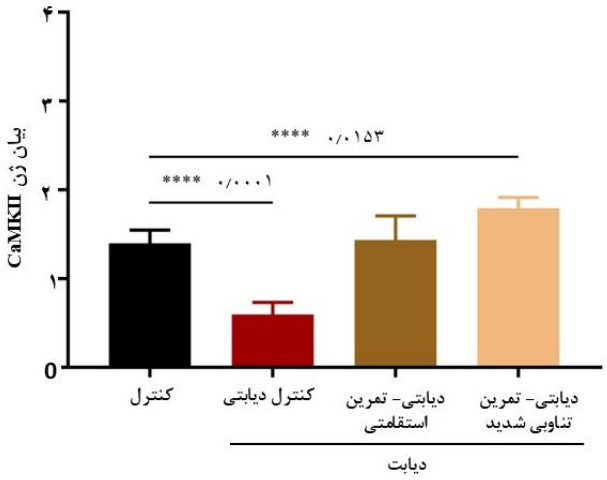
تعیین بیان ژن BDNF: نتایج نشان داد بیان نسبی ژن BDNF در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش داشت ($p<۰/۰۰۹$). در مقابل، هر دو مداخله تمرینی موجب افزایش معنی‌دار بیان BDNF نسبت به گروه بی‌تحرک شدند ($p<۰/۰۰۰۱$). همچنین، HIIT در مقایسه با تمرین استقامتی افزایش بیشتری در بیان BDNF ایجاد کرد ($p<۰/۰۰۰۱$).



شکل ۵. بیان نسبی ژن BDNF در گروه‌های مورد مطالعه. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۰۰۱$ است.**

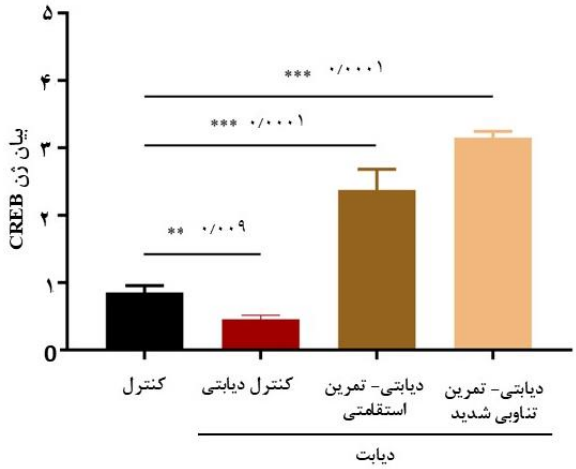
نسخه پیش از انتشار نشده

تعیین بیان ژن CaMKII: بیان ژن CaMKII در گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (p<۰/۰۰۰۱). هر دو نوع تمرین ورزشی موجب افزایش معنی‌دار بیان CaMKII نسبت به گروه بی‌تحرک شدند. علاوه بر این، گروه HIIT افزایش بیشتری نسبت به تمرین استقامتی نشان داد (p<۰/۰۲۹).



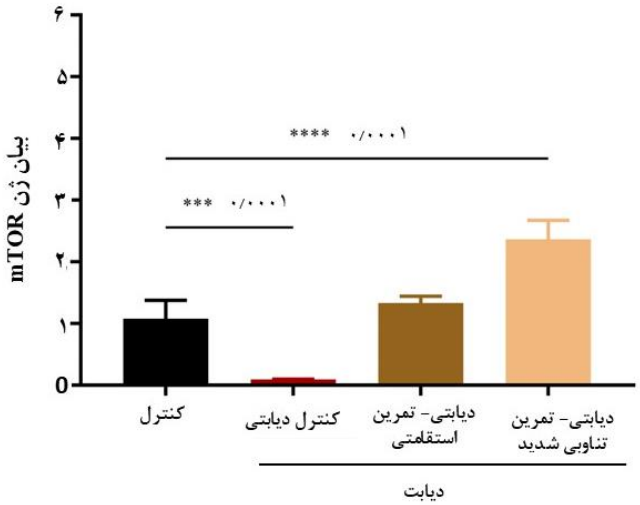
شکل ۶. تغییرات بیان نسبی ژن CaMKII در گروه‌های مورد مطالعه. ** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۰۱ است.**

تعیین بیان ژن CREB: نتایج نشان داد بیان نسبی ژن CREB در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش داشت (p<۰/۰۰۹). هر دو مداخله تمرینی باعث افزایش معنی‌دار بیان CREB در مقایسه با گروه بی‌تحرک شدند (p<۰/۰۰۰۱). بیشترین میزان بیان CREB در گروه HIIT مشاهده شد که بالاتر از تمرین استقامتی بود (p<۰/۰۰۰۱).



شکل ۷. بیان نسبی ژن CREB در گروه‌های مورد مطالعه. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۰۱ است.**

تعیین بیان ژن :mTOR: بیان ژن mTOR در گروه کنترل دیابتی کاهش چشمگیری نسبت به گروه کنترل نشان داد (p<۰/۰۰۰۱). مداخلات تمرینی موجب افزایش معنی‌دار بیان mTOR شدند، به‌طوری که HIIT بیشترین افزایش را در مقایسه با تمرین استقامتی و گروه کنترل دیابتی ایجاد کرد (p<۰/۰۰۰۱).



شکل ۸. بیان نسبی ژن mTOR در گروه‌های مورد مطالعه. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۰۰۱ است.**

متغیرها	گروه ها	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد میانگین
قند خون ناشتا ابتدا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کنترل	68	6/04	2/7
	کنترل دیابتی	84	10/77	4/81
	تمرین استقامتی دیابتی	78/25	10/01	5
	تمرین تناوبی شدید دیابتی	78	12/57	5/62
قند خون ناشتا انتها (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کنترل	93/6	11/01	4/92
	کنترل دیابتی	565	43/55	19/48
	تمرین استقامتی دیابتی	465/2	32/65	14/60
	تمرین تناوبی شدید دیابتی	۰456/6	42/75	19/12
	کنترل	0/77	0/11	0/04

بیان ژن عامل نوروتروفیک مشتق از مغز	کنترل دیابتی	0/37	0/01	0/008
	تمرین استقامتی دیابتی	1/37	0/3	0/13
	تمرین تناوبی شدید دیابتی	2/15	0/09	0/04
بیان ژن کیناز پروتئینی فعال شونده با AMP	کنترل	1/39	0/14	0/06
	کنترل دیابتی	0/59	0/13	0/06
	تمرین استقامتی دیابتی	1/43	0/27	0/12
	تمرین تناوبی شدید دیابتی	1/72	0/12	0/05
بیان ژن پروتئین پیوند دهنده عنصر پاسخ cAMP	کنترل	0/85	0/1	0/04
	کنترل دیابتی	0/45	0/06	0/02
	تمرین استقامتی دیابتی	2/37	0/3	0/13
	تمرین تناوبی شدید دیابتی	3/15	0/09	0/04
بیان ژن هدف مکانیکی راپامایسین	کنترل	1/07	0/9	0/13
	کنترل دیابتی	0/09	0/006	0/002
	تمرین استقامتی دیابتی	1/33	0/11	0/04
	تمرین تناوبی شدید دیابتی	2/36	0/3	0/13

جدول ۳: توصیف مقادیر میانگین، انحراف معیار و خطای استاندارد میانگین متغیرها در گروه‌های مورد مطالعه

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که دیابت القاشده در مدل حیوانی، منجر به کاهش معنادار بیان ژن BDNF و همچنین ژن‌های کلیدی مسیر سیگنالینگ مرتبط با آن شامل CaMKII، CREB و mTOR در ناحیه هیپوکامپ می‌شود. این افت هماهنگ در فعالیت مسیرهای درون‌سلولی ضروری برای پلاستیسیته سیناپسی، با گزارش‌های پیشین از اختلالات شناختی و ساختاری در مغز دیابتی مطابقت دارد و احتمالاً علت اصلی کاهش تولید BDNF و تضعیف عملکرد عصبی در این شرایط است.

مداخله ورزشی، اعم از تمرین استقامتی و HIIT، به شکل مؤثری این الگوی معیوب را معکوس نمود. هر دو پروتکل ورزشی باعث افزایش چشمگیر در بیان ژن‌های CaMKII، CREB، mTOR و BDNF در مقایسه با گروه دیابتی بی‌تحرک شدند. این بهبود از طریق مکانیسم‌های درهم‌تنیده و چند سطحی به وقوع پیوسته است. در مقایسه مستقیم بین دو پروتکل تمرینی، یافته‌های این مطالعه نشان داد که HIIT تمایل به القای پاسخ برجسته‌تری در بیان ژن CREB و به‌ویژه mTOR (با افزایش معنی‌دار بیان ژن آن) در مقایسه با تمرین استقامتی داشت ($p<۰/۰۰۰۱$). در حالی که هر دو نوع تمرین به طور مؤثری بیان ژن BDNF را افزایش دادند، شدت بالاتر HIIT ممکن است منجر به فعال‌سازی قوی‌تر برخی مسیرهای کلیدی، مانند مسیر mTOR که در ترجمه و سنتز پروتئین نقش دارد، شود. این یافته، پتانسیل HIIT را برای ایجاد تغییرات مولکولی سریع‌تر یا قوی‌تر در هیپوکامپ دیابتی، حداقل در سطح بیان ژن،

نسخه پیش انتشار ویرایش نشده

برجسته می‌سازد، هرچند تمرین استقامتی نیز سازگاری‌های مفیدی را القا می‌کند. نخست، ورزش با بهبود حساسیت به انسولین و کاهش هیپرگلیسمی مزمن، استرس اکسیداتیو و التهاب سیستمیک را تعدیل می‌کند که هر سه از عوامل مهارکننده مسیرهای سیگنالینگ عصبی هستند (۲۵, ۲۶). علاوه بر این، ورزش به ویژه از طریق افزایش ورود کلسیم به نورون‌ها، موجب فعال‌سازی کالمودولین و متعاقب آن CaMKII می‌شود (۲۷). CaMKII فعال‌شده به نوبه خود فاکتور رونویسی CREB را در سرین-۱۳۳ فسفریله می‌کند (۱۸).

CREB فسفریله‌شده با اتصال به ناحیه پروموتر ژن BDNF، رونویسی آن را تقویت می‌نماید (۲۸). هم‌زمان ورزش با تحریک مسیرهای وابسته به فاکتورهای رشد مانند BDNF و IGF-1 و همچنین از طریق تغییر در وضعیت انرژی سلولی، مسیر mTOR را فعال می‌سازد (۲۹). mTOR نقش کلیدی در آغاز فرآیند ترجمه و سنتز پروتئین دارد و با فسفریله کردن هدف‌هایی چون E-BP14 و p70S6K، سنتز پروتئین‌های ضروری برای پلاستیسیته سیناپسی، از جمله خود پروتئین BDNF را تسهیل می‌کند (۳۰). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت ورزش با ایجاد هماهنگی میان افزایش رونویسی ژن (از طریق محورCaMKII/CREB) و افزایش ترجمه آن (از طریق mTOR)، یک پاسخ زیستی قوی و پایدار برای تولید BDNF ایجاد می‌کند.

نکته قابل تأمل، مشاهده الگوی متفاوت فعال‌سازی بین دو نوع تمرین بود. اگرچه هر دو مؤثر بودند، HIIT تمایل به القای پاسخ قوی‌تری در بیان ژن CREB و به‌ویژه فعال‌سازی mTOR (افزایش بیان ژن آن) نشان داد (۳۱). در مقابل، تمرین استقامتی با ایجاد یک استرس متابولیک ملایم‌تر و مداوم، ممکن است سازگاری‌هایی با ماهیت تدریجی‌تر از جمله افزایش پایدار در جریان خون مغزی و فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیورا القا کند که به‌طور خاص‌تری بر فعال‌سازی پایدار CaMKII تأثیر گذاشته است (۲۰).

لازم به ذکر است که این مطالعه بر روی سطح بیان ژن (mRNA) تمرکز داشته است. در حالی که افزایش بیان mRNA اغلب با افزایش سطح پروتئین همراه است، این رابطه همیشه مستقیم و قطعی نیست. تخریب پروتئین یا تغییرات در ترجمه mRNA می‌تواند بر سطح نهایی پروتئین تأثیر بگذارد. بنابراین، برای تأیید قطعی این یافته‌ها، مطالعات تکمیلی با استفاده از تکنیک‌هایی مانند وسترن بلات (Western Blot) برای اندازه‌گیری سطح پروتئین و یا ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry) برای تعیین محل و میزان پروتئین در بافت هیپوکامپ ضروری است. علاوه بر این، بسیاری از این ژن‌ها (مانند CREB، CaMKII، mTOR) در مسیرهای سیگنالینگ پیچیده نقش دارند که فعالیت آن‌ها توسط فسفریلاسیون تنظیم می‌شود. این مطالعه سطح کلی بیان mRNA این ژن‌ها را سنجیده و تغییرات در وضعیت فسفریلاسیون پروتئین‌های مربوطه را بررسی نکرده است. در آینده، ارزیابی میزان فسفریلاسیون فرم‌های فعال این پروتئین‌ها می‌تواند اطلاعات ارزشمندتری در مورد فعالیت مسیرهای سیگنالینگ و اثرات واقعی تمرین بر عملکرد سیناپسی ارائه دهد. با وجود این محدودیت‌ها، یافته‌های فعلی پتانسیل تمرینات ورزشی را به عنوان یک مداخله درمانی برای بهبود یا تعدیل اختلالات مولکولی مرتبط با دیابت در هیپوکامپ برجسته می‌سازد. این تغییرات در بیان ژن، نشان‌دهنده فعال شدن مسیرهای مولکولی مهمی هستند که می‌توانند به بهبود عملکرد شناختی کمک کنند.

یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده تغییرات مولکولی بالقوه ناشی از دیابت و تأثیر تعدیل‌کننده تمرینات ورزشی بر مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با پلاستیسیته سیناپسی در هیپوکامپ است. اگرچه نتایج حاکی از نقش احتمالی تمرین در بهبود این مسیرها

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

هستند، اما نتیجه‌گیری قطعی در مورد برتری یکی از پروتکل‌های تمرینی یا ادعای احیای کامل عملکرد، نیازمند شواهد قوی‌تر در سطح پروتئین، عملکرد شناختی، و وضعیت متابولیک است. همچنین، با توجه به نتایج این مطالعه، بررسی جامع‌تر ادبیات، از جمله مطالعاتی که ممکن است یافته‌های متفاوتی را گزارش کرده باشند، برای درک کامل‌تر تأثیرات پیچیده دیابت و ورزش ضروری است. تحقیقات آتی باید بتوانند با در نظر گرفتن محدودیت‌های فعلی، مانند بررسی تعامل بین دیابت و نوع تمرین، یافته‌های ما را تکمیل و اعتبار بیشتری بخشند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که ورزش، از طریق شبکه پیچیده‌ای از مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم شامل بهبود محیط متابولیک سیستمیک، افزایش سیگنالینگ کلسیم، تحریک بیان ژن CREB و تقویت مسیر سنتز پروتئین وابسته به mTOR می‌تواند مسیر سیگنالینگ mTOR–CREB–CaMKII را در هیپوکامپ رت‌های دیابتی احیا کند و از این طریق بیان ژنBDNF را افزایش دهد. اگرچه هر دو نوع تمرین اثرات نوروپروتکتیو قابل توجهی دارند، برتری بالقوه HIIT در فعال‌سازی قوی‌تر برخی اجزای کلیدی این شبکه به‌ویژه mTOR و CREB، این پروتکل را به عنوان یک مداخله ورزشی امیدوارکننده و کارآمد برای مقابله با اختلالات سیناپسی و شناختی ناشی از دیابت مطرح می‌سازد. برای تعیین دقیق‌تر برتری هر پروتکل و واکاوی جزئیات زمانی و مولکولی این پاسخ‌ها، مطالعات آتی با طراحی‌های طولی و استفاده از مهارکننده‌های اختصاصی مسیرهای سیگنالینگ پیشنهاد می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

قدردانی و تشکر

از تمامی دوستان و همکاران که در اجرای این پژوهش کمک کردند و همچنین از مجله مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش برای کمک به نشر علم، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

1. Ramzan MA, Rehman H, Kumar B, Ghafoor A, Maheshwary N, Asif W, et al. Neurological Complications of Type 2 Diabetes Mellitus: A Duration-Based Comparative Study at a Secondary Care Hospital in Karachi, Pakistan. Cureus. 2025;17.(7) doi.org/10.7759/cureus.88562
2. Gupta M, Pandey S ,Rumman M, Singh B, Mahdi AA. Molecular mechanisms underlying hyperglycemia associated cognitive decline. IBRO neuroscience reports. 2023;14:57-63. doi.org/10.1016/j.ibneur.2022.12.006
3. McNeilly AD, Gallagher JR, Evans ML, de Galan BE, Pedersen-Bjergaard U, Thorens B, et al. Chronic hyperglycaemia increases the vulnerability of the hippocampus to oxidative damage induced during post-hypoglycaemic hyperglycaemia in a mouse model of chemically induced type 1 diabetes. Diabetologia. 2023;66(7):1340-52. doi.org/10.1007/s00125-023-05907-6
4. Zhong Y, Zhu Y, He T, Li W, Li Q, Miao Y. Brain-derived neurotrophic factor inhibits hyperglycemia-induced apoptosis and downregulation of synaptic plasticity-related proteins in hippocampal neurons via the PI3K/Akt pathway. International journal of molecular medicine. 2019;43(1):294-304. doi.org/10.3892/ijmm.2018.3933
5. 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. Journal of diabetes research. 2017;2017(1):2823671. doi.org/10.1155/2017/2823671

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

6. Cappoli N, Tabolacci E, Aceto P, Russo CD. The emerging role of the BDNF-TrkB signaling pathway in the modulation of pain perception. Journal of neuroimmunology. 2020;349:577406. doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577406
7. Schirò G, Iacono S, Ragonese P, Aridon P, Salemi G, Balistreri CR. A brief overview on BDNF-Trk pathway in the nervous system: a potential biomarker or possible target in treatment of multiple sclerosis? Frontiers in neurology. 2022;13:917527. doi.org/10.3389/fneur.2022.917527
8. Li P, Hu Y, Tong L, Bi X. High-intensity training on CREB activation for improving brain health: a narrative review of possible molecular talks. Frontiers in Endocrinology. 2025;15:1498495. doi.org/10.3389/fendo.2024.1498495
9. Nicoll RA, Schulman H. Synaptic memory and CaMKII. Physiological reviews. 2023;103(4):2897-945. doi.org/10.1152/physrev.00034.2022
10. Cheng S-M, Lee S-D. Exercise training enhances BDNF/TrkB signaling pathway and inhibits apoptosis in diabetic cerebral cortex. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(12):6740. doi.org/ 10.3390/ijms23126740
11. Li B, Lang N, Cheng Z-F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor are associated with diabetes risk ,complications, and obesity: a cohort study from Chinese patients with type 2 diabetes. Molecular neurobiology. 2016;53(8):5492-9. doi.org/ 10.1007/s12035-015-9461-2
12. Fujinami A, Ohta K, Obayashi H, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with type 2 diabetes mellitus: relationship to glucose metabolism and biomarkers of insulin resistance. Clinical biochemistry. 2008;41(10-11):812-7. doi.org/ 10.1016/j.clinbiochem.2008.04.010
13. Benchoula K, Parhar IS, Madhavan P, Hwa WE. CREB nuclear transcription activity as a targeting factor in the treatment of diabetes and diabetes complications. Biochemical Pharmacology. 2021;188:114531. doi.org/ 10.1016/j.bcp.2021.114531
14. Amin NG, Rahim AA, Rohoma K, Elwafa RAA, Dabees HM, Elrahmany S. The relation of mTOR with diabetic complications and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetology & Metabolic Syndrome. 2024;16(1):222. doi.org/ 10.1186/s13098-024-01450-5
15. Han R, Liu Z, Sun N, Liu S, Li L, Shen Y, et al. BDNF alleviates neuroinflammation in the hippocampus of type 1 diabetic mice via blocking the aberrant HMGB1/RAGE/NF-κB pathway. Aging and disease. 2019;10(3):611. doi.org/10.14336/ad.2018.0707
16. Sulastri N, Mudjanarko SW, Laswati H. Six Weeks of Swimming Exercise Improve Memory and Brain Derived Neurotrophic Factor in CA1 Hippocampus of Diabetic Rats. Bahrain Medical Bulletin. 2025;47.(1)
17. Sadri I, Nikookheslat SD, Karimi P, Khani M, Nadimi S. Aerobic exercise training improves memory function through modulation of brain-derived neurotrophic factor and synaptic proteins in the hippocampus and prefrontal cortex of type 2 diabetic rats. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. 2024;23(1):849-58. doi.org/ 10.1007/s40200-023-01360-9
18. Romero Garavito A, Díaz Martínez V, Juárez Cortés E, Negrete Díaz JV, Montilla Rodríguez LM. Impact of physical exercise on the regulation of brain-derived neurotrophic factor in people with neurodegenerative diseases. Frontiers in Neurology. 2025;15:1505879. doi.org/10.3389/fneur.2024.1505879
19. 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. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 2020;42(5):591-600. doi.org/ 10.34172/mj.2020.083
20. Vecchio LM, Meng Y, Xhima K, Lipsman N, Hamani C, Aubert I. The neuroprotective effects of exercise: maintaining a healthy brain throughout aging. Brain plasticity. 2018;4(1):17-52. doi.org/10.3233/bpl-180069
21. Toader C, Serban M, Munteanu O, Covache-Busuioc R-A, Enyedi M, Ciurea AV, et al. From synaptic plasticity to Neurodegeneration: BDNF as a transformative target in medicine. International Journal of Molecular Sciences. 2025;26(9):4271. doi.org/10.3390/ijms26094271
22. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak Z. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. Sports Medicine and Health Science. 2019;1(1):24-32. doi.org/10.1016/j.smhs.2019.08.003
23. Saleh Rahmati-Ahmadabad FR, Gholam Hossein Meftahi, Hossein Shirvani. Comparative effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on soleus muscle fibronectin type III domain-containing protein 5, myonectin and glucose transporter type 4 gene expressions: a study on the diabetic rat model. Molecular Biology Reports. 2021. doi.org/ 10.1007/s11033-021-06633-1
24. Shabab S, Mahmoudabady M, Gholamnezhad Z, Fouladi M, Asghari AA. Diabetic cardiomyopathy in rats was attenuated by endurance exercise through the inhibition of inflammation and apoptosis. Heliyon. 2024;10.(1) doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23427
25. Iaccarino G, Franco D, Sorriento D, Strisciuglio T, Barbato E, Morisco C. Modulation of insulin sensitivity by exercise training: implications for cardiovascular prevention. Journal of cardiovascular translational research. 2021;14(2):256-70. doi.org/10.1007/s12265-020-10057-w

26. Onu A, Trofin D-M, Tutu A ,Onu I, Galaction A-I, Sardaru D-P, et al. Integrative Strategies for Preventing and Managing Metabolic Syndrome: The Impact of Exercise and Diet on Oxidative Stress Reduction—A Review. Life. 2025;15(5):757. doi.org/10.3390/life15050757
27. Rose AJ, Hargreaves M. Exercise increases Ca2+–calmodulin-dependent protein kinase II activity in human skeletal muscle. The Journal of physiology. 2003;553(1):303-9. doi.org/10.1113/jphysiol.2003.054171
28. Esvald E-E, Tuvikene J, Sirp A, Patil S, Bramham CR, Timmusk T. CREB family transcription factors are major mediators of BDNF transcriptional autoregulation in cortical neurons. Journal of Neuroscience. 2020;40(7):1405-26. doi.org/10.1523/jneurosci.0367-19.2019
29. Zare N, Bishop DJ, Levinger I, Febbraio MA, Broatch JR. Exercise intensity matters: A review on evaluating the effects of aerobic exercise intensity on muscle-derived neuroprotective myokines. Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions. 2025;11(1):e70056. doi.org/10.1002/trc2.70056
30. Xu J-T, Zhao X, Yaster M, Tao Y-X. Expression and distribution of mTOR, p70S6K, 4E-BP1, and their phosphorylated counterparts in rat dorsal root ganglion and spinal cord dorsal horn. Brain research. 2010;1336:46-57. doi.org/10.1016/j.brainres.2010.04.010
31. Abe T, Kitaoka Y, Kikuchi DM, Takeda K, Numata O, Takemasa T. High-intensity interval training-induced metabolic adaptation coupled with an increase in Hif1-α and glycolytic protein expression. Journal of applied physiology. 2015;119(11):1297-302. doi.org/10.1152/japplphysiol.00499.2015

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده