Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of six weeks of HIIT on iNOS, COX-2, and Caspase3 proteins in hippocampal tissue of aged Wistar rats

Samira Azarnasab[1], Aliakbar Alizadeh[2]*, Saeid Shakerian[3]

1. MSc in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

*** Corresponding Author, Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran;**
Email: a.alizadeh@scu.ac.ir

Issue in Progress

Extended Abstract

Background and Aim: Aging is a progressive, dynamic, and unavoidable biological process that can lead to cognitive decline, memory impairment, and overall decline in brain function. The hippocampus, a key and vital structure in the mammalian brain responsible for information processing, learning, and consolidation of short-term and long-term memory, is highly sensitive and vulnerable to damage caused by aging and degenerative processes. Numerous scientific evidence shows that aging is associated with the establishment of a chronic low-grade inflammatory state, a progressive increase in oxidative stress, and widespread activation of neuronal apoptosis (programmed cell death) pathways in the brain. Today, high-intensity interval training (HIIT) is considered a non-pharmacological, cost-effective, and highly effective strategy to combat the negative effects of aging on the nervous system. Therefore, the present study aimed to accurately investigate the molecular effect of a six-week HIIT training period on the expression levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS), Cyclooxygenase-2 (COX-2), and Caspase-3 proteins in the hippocampal tissue of aged Wistar rats to determine whether this training model can modulate the inflammation-apoptosis axis.

Materials and Methods: The present study was an experimental and laboratory-based research utilizing a post-test design with a control group, and all ethical requirements were fully approved. The statistical sample consisted of 30 male Wistar rats, which were randomly assigned into 3 equal groups (n=10 per group) including young-control group (10 weeks old, mean weight 190 g) serving as the healthy baseline, aged-control group, and aged-training group (both aged groups were 22 months old, mean weight 480 g). All animals were housed in standard laboratory environmental conditions (controlled temperature of 22 °C, 50% humidity, and a standard 12:12 hour light-dark cycle) with completely free ad libitum access to water and specialized standard rat chow. To implement the exercise intervention, the rats were first familiarized with the motorized treadmill, and then an incremental exercise test to exhaustion was performed to determine the peak running velocity. The HIIT protocol for the aged-training group was executed on a specialized rodent treadmill for 6 consecutive weeks with a frequency of 5 sessions per week. In the first week, training initiated at an intensity of 80% of maximal velocity, consisting of 5 high-intensity intervals lasting 2 minutes each, and with gradual progression of overload factors, it reached an intensity of 100% of maximal velocity consisting of 12 high-intensity intervals lasting 2 minutes each by the sixth week. Between each high-intensity exercise bout, a 1-minute active recovery at a low speed (10 m/min) was provided for relative recovery. Exactly 48 hours after the final training session and following a brief fasting period, the rats were anesthetized via intraperitoneal injection of a specified dose of Ketamine and Xylazine. The hippocampal tissue was rapidly and carefully surgically extracted, placed in microtubes, and immediately frozen at -70 °C. To quantify the concentration and expression

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

levels of the target proteins, the specialized western blot technique was utilized. Statistical analysis of the data was performed using One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post-hoc test at a statistical significance level of $p \leq 0.05$.

Findings:

Table 1. Description (Mean±SD) and comparison of relative protein expression between groups.

Variables	Groups	Standard deviation ± mean	F	P
Inducible nitric oxide synthase	Aged Young	1.001±0.06	121.501	0.001*
	Aged Control	4.13±0.14		
	Aged Training	3.16±0.17		
Cyclooxygenase-2	Aged Young	1.00±0.07	142.211	0.001*
	Aged Control	3.31±0.23		
	Aged Training	3.16±0.17		
Caspase 3	Aged Young	1.00±0.04	105.241	0.001*
	Aged Control	58.1±0.09		
	Aged Training	2.41±0.21		

***indicator of significant difference between groups at p<0.05.**

The results of the one-way ANOVA test indicated a statistically significant difference between the groups in the expression levels of iNOS (p=0.001), COX-2 (p=0.001), and caspase-3 (p=0.001) (Table 1). The relative expression level of the iNOS protein in the hippocampal tissue of the aged control group showed a significant increase compared to the young control group (p=0.001), indicating severe oxidative stress. In parallel, the expression of the pro-inflammatory protein COX-2 also significantly increased in inactive aged mice compared to young mice (p=0.001), demonstrating the presence of a highly inflammatory environment in the hippocampus. Consequently, the level of caspase-3 protein, as the final indicator of the apoptotic process, was significantly elevated in the aged control group compared to the young group (p=0.001).

However, applying a 6-week HIIT intervention was effective in reversing these destructive molecular trends in aged mice. The relative expression of the iNOS protein in the aged exercise group experienced a significant decrease compared to the aged control group (p=0.01). Moreover, the regular exercise intervention led to a significant reduction in the level of COX-2 protein in the exercised mice compared to the inactive aged group (p=0.006), confirming the suppression of the chronic inflammation cycle in the brain. Finally, by controlling and reducing these upstream factors, the expression of the final apoptosis protein, caspase-3, also showed a significant decrease in the aged exercise group compared to the aged control group (p=0.01). The quantitative band density findings from the western blot images were completely consistent with these numerical data.

Conclusion: The final findings of this experimental study showed that aging, by establishing a chronic systemic inflammatory state and intensifying oxidative stress, leads to increased expression of iNOS and COX-2 proteins and subsequent activation of the apoptotic factor Caspase-3 in the hippocampus. However, 6-week of HIIT training was able to inhibit and stop this neuronal destructive process. It seems that HIIT significantly inhibited programmed cell death in the hippocampus by suppressing inflammatory factors and stopping the oxidative stress cycle. This training model, by modulating the inflammation-apoptosis axis, is a neuroprotective strategy to combat aging-induced neurodegeneration. Researchers can further investigate this. However, it is recommended that future studies investigate different doses of exercise, longer follow-up periods, and measure behavioral and memory performance indicators, in addition to molecular markers, to gain a more

Issue in Press

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

comprehensive understanding of the protective mechanisms of this exercise model and to evaluate its clinical utility in different elderly populations.

Keywords: High-intensity interval training, Inducible nitric oxide synthase, Cyclooxygenase-2, Caspase-3, Hippocampal tissue.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guideline: Throughout the research, ethical principles were observed in accordance with the principles of working with laboratory animals, approved by Shahid Chamran university of Ahvaz with number IR.SCU.REC.1404.077.

Funding: This article is not sponsored.

Authors contributions: This article is based on a master's thesis in exercise physiology at Shahid Chamran university of Ahvaz. Samira Azarnasb conducted the research, collected and analyzed the data, and Saeed Shakerian and Ali Akbar Alizadeh supervised, guided and consulted on the research.

Conflicts of interest: There is no conflict of interest.

Acknowledgements: Thanks to all those who helped with this research.

Issue in Progress

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

اثر شش هفته HIIT بر پروتئین‌های iNOS، COX-2 و Caspase3 بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی سالمند نژاد ویستار

سمیرا آذرنسب[۱]، علی اکبر علی‌زاده[۲]*، سعید شاکریان[۳]

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
0009-0001-0037-020x

۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
0000-0001-7846-6503

۳. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
0000-0002-3752-8525

*** نویسنده مسئول، آدرس: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی؛**
پست الکترونیک: a.alizadeh@scu.ac.ir

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

چکیده

زمینه و هدف: سالمندی فرآیندی ذاتی، پیشرونده و آسیب‌رسان است که با التهاب سیستمیک در ارتباط است که با انباشت تدریجی آسیب‌های مختلف و کاهش کارایی عملکردی و هموستاز سلول‌ها و بافت‌ها، در گذر زمان همراه است. لذا هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی شدید بر بیان پروتئین‌های iNOS، COX-2 و Caspase-3 بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی سالمند نژاد ویستار است. **روش تحقیق:** در این پژوهش موش‌های صحرایی گروه‌های سالمند با میانگین سنی۲۲ ماه و میانگین وزنی ۴۸۰ گرم و در گروه جوان میانگین سنی ۱۰ هفته و میانگین وزنی ۱۹۰ گرم بودند که پس از آشناسازی با محیط آزمایشگاه به صورت تصادفی به سه گروه شامل: گروه کنترل -جوان، گروه کنترل- سالمند، گروه تمرین -سالمند (هرگروه ۱۰ سر) تقسیم شدند. پروتکل تمرینی برای گروه HIIT در هفته اول شامل دویدن روی تردمیل با تعداد تکرار پنج تناوب دو دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد سرعت بیشینه بود که به تدریج به شدت ۱۰۰ درصد سرعت بیشینه رسید. پروتکل تمرینی تمرین شامل پنج جلسه در هفته به مدت شش هفته انجام شد. در پایان هفته ششم و پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین موش‌ها بیهوش و در شرایط استریل بافت هیپوکمپ آن‌ها استخراج گردید و برای اندازه‌گیری پروتئین‌ها به روش وسترن‌بلات به آزمایشگاه منتقل و اندازه‌گیری‌ها انجام گرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری از روش واریانس یکراهه و همچنین آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. **یافته‌ها:** سالمندی موجب افزایش معنی‌داری بیان پروتئین‌های iNOS، COX-2 و Caspase-3 در بافت هیپوکمپ شده است ($p<۰/۰۵$). همچنین به دنبال تمرین HIIT بیان این پروتئین‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرینات HIIT می‌توانند با کاهش عوامل درگیر در تخریب نورونی تا حدودی نقش حفاظتی از هیپوکمپ در برابر عوارض سالمندی داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی، iNOS، COX-2، Caspase-3، بافت هیپوکمپ

مقدمه

سالمندی یک فرآیند زیستی اجتناب‌ناپذیر است که با بروز تغییرات ساختاری و عملکردی در سیستم عصبی مرکزی همراه بوده و می‌تواند منجر به اختلالات شناختی و کاهش عملکرد مغز شود. یکی از مهم‌ترین نواحی مغزی آسیب‌پذیر در فرآیند سالمندی، هیپوکمپ است که نقش اساسی در یادگیری، حافظه و تنظیم هیجانات دارد (۱). شواهد نوروبیولوژیک نشان می‌دهد که سالمندی با افزایش التهاب عصبی، استرس اکسیداتیو و فعال شدن مسیرهای آپوپتوز در هیپوکمپ همراه است (۲). این سازوکارها با تخریب سلول‌های پیرامیدال، نه تنها منجر به کاهش تراکم نورونی می‌شوند، بلکه زمینه‌ساز بروز بیماری‌های تخریب عصبی در دوران سالمندی می‌گردند (۳). در این راستا، تعامل برخی پروتئین‌ها در تنظیم مسیرهای التهابی و مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی نقش کلیدی ایفا می‌کند. آنزیم القایی نیتریک اکسید سنتاز (iNOS)[1] با افزایش تولید نیتریک اکسید در شرایط التهابی، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد با منشاء نیتروژن و آسیب به میتوکندری نورون‌ها می‌شود (۴). همزمان، افزایش بیان سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2)[2] با سنتز واسطه‌های التهابی، محیط شیمیایی هیپوکمپ را برای القای تخریب بافتی آماده می‌کند (۵). این مسیرهای التهابی در نهایت با افزایش سطوح پروتئین کاسپاز-۳ (Caspase-3)[3] همراه می‌شوند؛ آنزیمی که به‌عنوان عامل نهایی در آبشار آپوپتوز در سلول‌های عصبی در فرآیند سالمندی است (۶، ۷). به عبارتی دیگر افزایش فرآیندهای التهابی در نتیجه سالمندی و به دنبال آن افزایش سطوح سایتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین-۱ بتا (IL-1β)[4] و اینترلوکین-۶ (IL-6)[5] سبب تشدید استرس اکسیداتیو در نورون‌ها از طریق افزایش iNOS و افزایش گونه‌های واکنش پذیر نیتروژن می‌شود (۸). این شرایط فعالیت COX-2 را افزایش داده و با تشدید چرخه التهاب و استرس اکسیداتیو سبب اختلال در فعالیت نورون‌ها شده و از این طریق آپوپتوز سلولی و احتمال بروز شرایط تخریب نورونی در بافتی مانند هیپوکمپ را افزایش می‌دهد (۵).

در سال‌های اخیر، تمرینات ورزشی به‌عنوان یک راهکار غیردارویی مؤثر برای کاهش اثرات منفی پیری عصبی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این میان، تمرین تناوبی شدید (HIIT)[6] به‌دلیل زمان کوتاه اجرا، بهره‌وری بالا در بهبود ظرفیت هوازی و تحریک قوی‌تر فاکتورهای نوروتروفیک، توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است (۹، ۱۰). با وجود مطالعاتی که بر نقش تمرین ورزشی در کاهش التهاب تاکید دارند و بیان کرده‌اند که HIIT می تواند فرآیندهای التهابی را با کاهش سایتوکین‌های التهابی مانند IL-1β و IL-6 کاهش دهد (۸، ۹). تحقیقات مختلفی که به بررسی تغییرات متابولیکی همزمان با سالمندی و تمرینات ورزشی پرداخته‌اند، نتایج متفاوتی را درباره پاسخ همزمان و مسیر زنجیره‌ای، محور التهاب-آپوپتوز در بافت حساس هیپوکمپ به HIIT در دوران سالمندی گزارش کرده‌اند؛ به صورتی که پس از فعالیت ورزشی، در مطالعه‌ای افزایش (۱۱) و در بعضی دیگر از مطالعات کاهش (۱۲، ۱۳) عوامل التهابی گزارش شده است. این تحقیقات بیشتر به سایتوکاین‌های التهابی مانند IL-1β و IL-6 پرداخته‌اند (۸، ۹) و مطالعه با هدف با بررسی تأثیر HIIT بر پروتئین‌های کلیدی iNOS، COX-2 و Caspase-3 در بافت هیپوکمپ و تحلیل تغییرات این محور از فرآیند التهاب و آپوپتوز پس از انجام HIIT بندرت صورت گرفته است.

بنابراین با توجه به نقش عوامل التهابی در بروز عوارض ناشی از سالمندی، بررسی بیشتر فرآیندهای سلولی و مولکولی مرتبط با التهاب و HIIT در سالمندی ضروری به نظر می‌رسد. لذا، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر HIIT بر بیان پروتئین‌های iNOS، COX-2 و Caspase-3 در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی سالمند نژاد ویستار انجام شد.

روش تحقیق

روش نمونه‌گیری: پژوهش حاضر از نوع تجربی و به شیوه‌ی آزمایشگاهی و با طرح پس آزمون با گروه شاهد انجام شد. در این پژوهش ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به سه گروه با تعداد هر گروه ۱۰ موش تقسیم شدند که شامل یک گروه موش جوان با میانگین سنی ۱۰ هفته و میانگین وزنی ۱۹۰ گرم و دو گروه موش سالمند با میانگین سنی ۲۲ ماه با میانگین وزنی

1. Inducible nitric oxide synthase
2. Cyclooxygenase-2
3. Cysteine-aspartic acid protease 3
4. Interleukin-1β
5. Interleukin-6
6. High-intensityiInterval training

۴۸۰ گرم بودند در این تحقیق یکی از گروه‌های سالمند تمرینات HIIT انجام دادند و دو گروه دیگر به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. تمامی موش‌ها در اتاقی در محل نگهداری حیوانات دانشگاه شهید چمران اهواز و جعبه‌های پنج‌تایی در محیطی با میانگین دمای ۲۲ درجه سانتی گراد، و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند و همگی به آب و غذای ویژهٔ موش دسترسی آزاد داشتند. غذای موش‌ها از شرکت خوراک دام پارس تهیه شد. در تمام مراحل پژوهش، موش‌ها توسط یک نفر جابه جا و دستکاری شدند وآب مورد نیاز حیوات به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار داده شد. شماره اخلاق پژوهش، IR.SCU.REC.1404.077 در دانشگاه شهید چمران اهواز ثبت شد.

نحوه اجرای برنامه HIIT: پس از دوره‌ی آشناسازی و پیش از شروع پروتکل تمرینی اصلی، موش‌های صحرایی جهت تعیین اوج سرعت، یک آزمون فزاینده را تا سر حد خستگی انجام دادند. این آزمون با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه با شیب ۱۵ درصد آغاز و در هر دو دقیقه ۳ متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده شد. معیار خستگی موش‌ها به عدم توانایی آنها در ادامه‌ی فعالیت حتی با وجود اعمال شوک الکتریکی بود. تمرینات بر اساس درصدی از این سرعت بیشینه طراحی شد. پروتکل HIIT مورد استفاده در این پژوهش، به مدت ۶ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی تردمیل اجرا شد. پروتکل تمرین در هفته‌ی اول با ۸۰ درصد اوج سرعت آغاز و هر هفته ۱۰ درصد به این سرعت اضافه شد. تناوب‌های تمرینی شامل ۶ وهله ۲ دقیقه‌ای در هفته‌ی اول بود و تا ۱۲ وهله ۲ دقیقه‌ای در هفته ششم ادامه یافت. پس از هر وهله تمرین، یک دقیقه استراحت فعال با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه انجام شد. پروتکل تمرینی برای گروه HIIT در جدول ۱ نشان داده شده است (۱۴).

جدول ۱. برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا.

هفته	شیب	تعداد جلسات در هفته	تعداد تناوب	زمان هر تناوب شدید (دقیقه)	سرعت در تناوب شدید (درصد سرعت بیشینه)	زمان هر تناوب استراحت (دقیقه)	سرعت در تناوب استراحت (درصد سرعت بیشینه)	زمان کل تمرین (دقیقه)
۱	۰	۵	۵	۲	۸۰	۲	۶۰	۱۸
۲	۰	۵	۶	۲	۸۰	۲	۶۰	۲۲
۳	۰	۵	۷	۲	۹۰	۲	۵۰	۲۶
۴	۰	۵	۸	۲	۱۰۰	۲	۵۰	۳۰
۵	۰	۵	۸	۲	۱۰۰	۲	۵۰	۳۰
۶	۰	۵	۸	۲	۱۰۰	۲	۵۰	۳۰

نحوه استخراج بافت هیپوکمپ: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، تمام موش‌ها با تزریق درون صفاقی، ترکیبی از کتامین (۸۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس بافت هیپوکمپ از بدن موش خارج و با نرمال سالین شست‌وشو داده شد و برای سنجش پروتئین‌ها بلافاصله در دمای منفی ۷۰ فریز شد.

روش آزمایشگاهی: برای سنجش پروتئین‌ها از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات استفاده شد. به‌ازای هر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیزکننده سرد افزوده و نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه هموژنایزر (اسپید مایل پلاس) برای سنجش پروتئین‌ها از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات[1] استفاده شد. به‌ازای هر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیزکننده سرد افزوده و نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه هموژنایزر (اسپید مایل پلاس ساخت آلمان) و با دور ۲۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژن شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به

1. Western blots

مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل شد. به‌منظور تعیین مقدار پروتئین در هموژن بافتی، از روش برادفورد[1] استفاده شد. در این روش، نمونه‌ها با بافر نمونه[2] 2X با نسبت یک‌به‌یک مخلوط و به مدت پنج دقیقه جوشانده شدند تا پروتئین‌ها حالت خطی پیدا کنند. سپس برای از بین‌رفتن بخار ایجاد شده، پنج ثانیه سانتریفیوژ سریع انجام داده و درون یخ قرار دادیم. در این مرحله، نمونه‌ها در چاهک‌های الکتروفورز حاوی ژل (SDS-PAGE) ریخته شدند و ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه با ولتاژ ۶۰ و سپس به مدت یک ساعت با ولتاژ ۱۰۰ ولت فرآیند الکتروفورز انجام شد. سپس در مرحله انتقال پروتئین‌ها با ولتاژ ۶۰ و به مدت ۱۰۵ دقیقه در درون بافر انتقال روی کاغذ نیترو- سلولز منتقل شدند. پس از عمل انتقال سه مرتبه و هر مرتبه به مدت پنج دقیقه با محلول سالین بافر فسفات[3](PBS) شست‌وشو داده شد. عمل مسدودسازی توسط بافر بلاک‌کننده به مدت یک شب در یخچال و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد انجام شد. کاغذ نیترو- سلولز با آنتی‌بادی‌های اولیه با رقت ۱/۲۰۰۰ تا ۱/۵۰۰۰ در بافر PBS به مدت یک ساعت در دمای محیط روی شیکر با ۶۵ دور در دقیقه انکوبه گردید. از آنتی‌بادی‌های ثانویه با رقت ۱/۲۰۰۰ در بافر PBS به مدت یک ساعت برای اتصال به آنتی بادی‌های اولیه استفاده شد. در این مرحله کاغذها با دو محلول کیت لومینسانس شیمیایی تقویت‌شده[4](ECL) با شماره سریال ۱۳۳۴۰۸ (ساخت آمریکا) در اتاق تاریک و زیر نور قرمز، به مدت یک دقیقه آغشته و پس از خشک‌شدن در محیط، کاغذها درون کاست محافظ پلاستیکی حاوی فیلم حساس قرار داده و در دستگاه پردازشگر X-RAY (مدل LD-14، ساخت چین) ظهور باندها انجام شد. سرانجام کاغذهای حساس به نور با استفاده از دستگاه اسکنر JS 2000 (مدل BonninTech، ساخت چین) اسکن شده و دانسیته باندها توسط نرم‌افزار دستگاه JS 2000 مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌های تحلیل آماری: پیش از انجام تحلیل‌های آماری، نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک[5] بررسی شد. نتایج نشان داد که سطح معنی داری برای کلیه متغیرها بزرگتر از ۰/۰۵ است. بنابراین فرض توزیع نرمال داده‌ها تأیید گردید. همچنین، برای بررسی همگنی واریانس گروه‌ها در پیش‌آزمون، از آزمون لون[6] استفاده شد که نتایج آن نیز همگنی واریانس‌ها را تأیید کرد. با تأیید پیش‌فرض‌های آماری، برای بررسی تغییرات در بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه[7] و سپس آزمون تعقیبی توکی[8] استفاده شد. سطح معنی‌داری $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

یافته‌ها

یافته‌های توصیفی پروتئین‌های مورد مطالعه در پس‌آزمون نمونه‌های پژوهش حاضر در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. توصیف بیان نسبی پروتئین‌ها

متغیر	کنترل - جوان	کنترل - سالمند	تمرین - سالمند
iNOS	۱/۰۰۱±۰/۰۶	۴/۱۳±۰/۱۴	۳/۱۶±۰/۱۷
COX-2	۱/۰۰۰±۰/۰۷	۳/۳۱± ۰/۲۳	۳/۱۶±۰/۱۷
Caspase-3	۱/۰۰۰±۰/۰۴	۵۸/۱±۰/۰۹	۲/۴۱±۰/۲۱

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه متغیرها

متغیر	Df	F	p
iNOS	۳	۱۲۱/۵۰۱	۰/۰۰۱*
COX-2	۳	۱۴۲/۲۱۱	۰/۰۰۱*

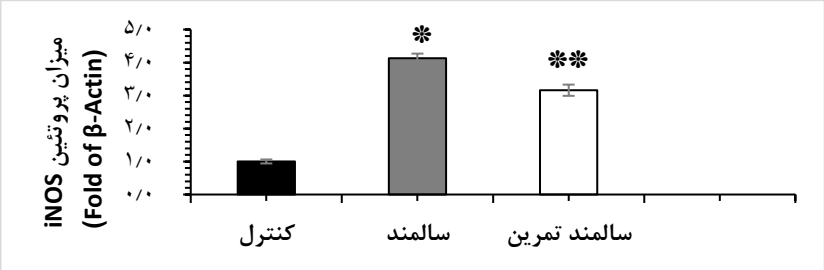
1. Bradford
2. Loading buffer
3. Phosphate-buffered saline
4. Enhanced chemiluminescence
5. Shapiro-Wilk test
6. Levene's test
7. One-way analysis of variance
8. Tukey

Caspase-3	۳	۱۰۵/۲۴۱	۰/۰۰۱*

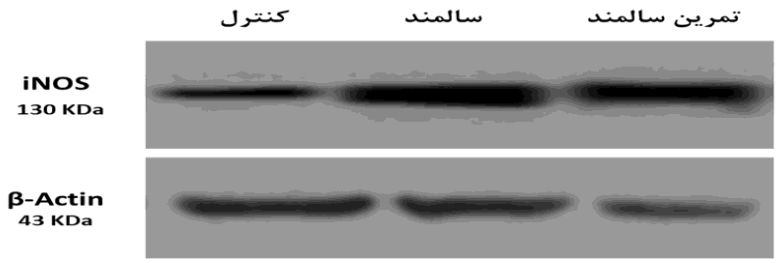
* سطح معنی‌داری ۰/۰۵≥p در نظر گرفته شد.

جدول ۴. نتایج آزمون تعقیبی توکی

متغیر	گروه کنترل و سالمند	گروه	P
iNOS	کنترل	سالمند	۰/۰۰۱*
		سالمند تمرین	۰/۰۰۱*
	سالمند	سالمند تمرین	۰/۰۱۵*
COX-2	کنترل	سالمند	۰/۰۰۱*
		سالمند تمرین	۰/۰۰۱*
	سالمند	سالمند تمرین	۰/۰۰۶*
Caspase3	کنترل	سالمند	۰/۰۰۱*
		سالمند تمرین	۰/۰۰۱*
	سالمند	سالمند تمرین	۰/۰۱۵*

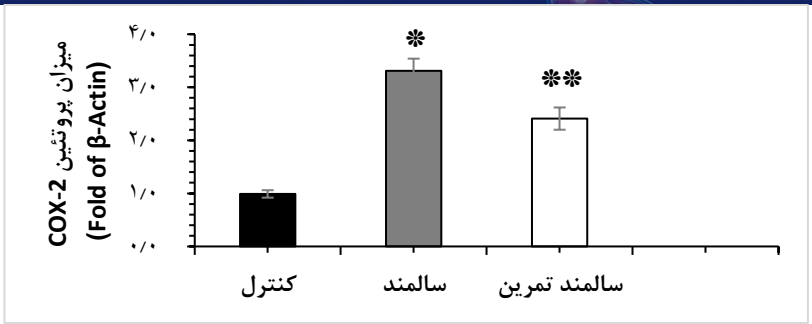


شکل ۱. مقایسه مقدار پروتئین iNOS در گروه‌های مختلف؛ *نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل.
** نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه سالمند؛ سطح معنی داری ۰/۰۵≥p.



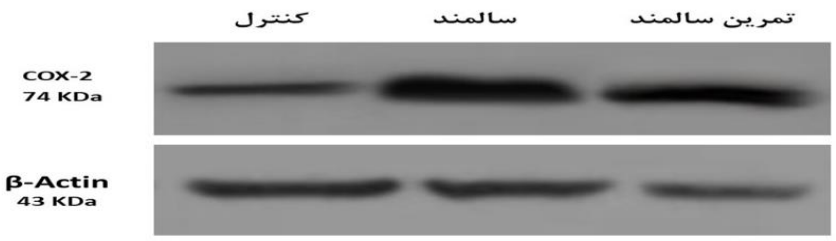
شکل ۲ . میزان پروتئین iNOS در گروه‌های مختلف تمرینی با استفاده از روش وسترن‌بلات.

در این پژوهش از پروتئین β-actin به عنوان کالیبراتور استفاده شده است. برای کمی‌سازی باندها، دانسیته آن‌ها توسط نرم‌افزار دستگاه اسکنر JS 2000 محاسبه شد. نتایج نشان داد که سالمندی سبب افزایش معنی دار پروتئین iNOS در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی گروه سالمند-کنترل در مقایسه با گروه کنترل-جوان می شود؛ اما شش هفته HIIT به طور معنی‌داری بیان آن را در هر دو گروه‌های سالمند p=۰/۰۰۱ و سالمند نر نژاد ویستار p=۰/۰۰۱ کاهش می دهد و این کاهش در گروه‌های سالمند بیشتر از بالغ بود (شکل یک). در شکل دو باندهای وسترن‌بلات پروتئین iNOS در بافت هیپوکمپ رت‌های گروه‌های مختلف نشان داده شده است.



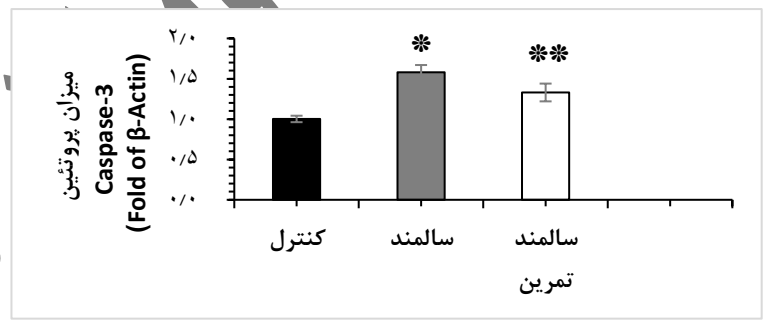
شکل ۳. مقایسه مقدار پروتئین COX-2 در گروه‌های مختلف؛

***نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل. ** نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه سالمند؛ سطح معنی داری ۰/۰۵≥p.**



شکل ۴. میزان پروتئین COX-2 در گروه‌های مختلف تمرینی با استفاده از روش وسترن‌بلات.

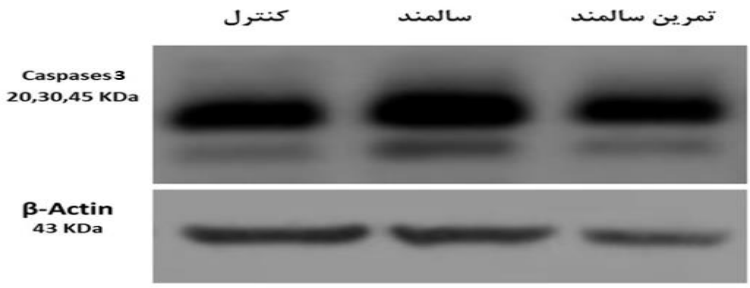
علاوه بر این، HIIT منجر به کاهش معنی دار سطح پروتئین COX-2 در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی گروه سالمند-تمرین در مقایسه با گروه سالمند-کنترل شد. همان‌طور که در شکل شماره سه نشان داده شده است، میزان بیان پروتئین COX-2 به‌طور معنی‌داری در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی سالمند در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است (p=۰/۰۰۱)؛ اما شش هفته HIIT منجر به کاهش معنی دار بیان این پروتئین در گروه تمرین-سالمند نسبت به گروه سالمند گردید (p=۰/۰۰۱). در شکل چهار باندهای وسترن‌بلات پروتئین COX-2 در بافت هیپوکمپ رت‌های گروه‌های مختلف نشان داده شده است.



شکل ۵. مقایسه مقدار پروتئین Caspase-3 در گروه‌های مختلف؛

***نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل. ** نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه سالمند؛ سطح معنی داری ۰/۰۵≥p.**

نسخه پذیرش



شکل ۶. میزان پروتئین Caspase-3 در گروه‌های مختلف تمرینی با استفاده از روش وسترن‌بلات.

دیگر نتایج نشان داد که سالمندی سبب افزایش معنی دار پروتئین Caspase-3 در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی گروه سالمند-کنترل در مقایسه با گروه کنترل-جوان میشود؛ در حالی که شش هفته تمرین تناوبی شدید بیان این پروتئین را در گروه‌های سالمند به طور معنی داری (p=۰/۰۱) کاهش داد (شکل پنج) در شکل شش باندهای وسترن‌بلات پروتئین Caspase-3 در بافت هیپوکمپ رت‌های گروه‌های مختلف نشان داده شده است.

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سالمندی منجر به افزایش معنی دار بیان پروتئین‌های iNOS، COX-2 و Caspase-3 در بافت هیپوکمپ می‌شود. این وضعیت نشان‌دهنده استقرار یک حالت التهابی مزمن در مغز سالمند است. با افزایش سن، مسیرهای التهابی از جمله مسیر سیگنالینگ NF-KB به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو و تجمع آسیب‌های سلولی، فعال می‌شوند. فعال‌شدن NF-KB، محرک اصلی رونویسی از پروتئین iNOS است. افزایش بیان iNOS و تولید بیش از حد نیتریک اکساید (NO)، از یک سو، از طریق تشکیل گونه‌های واکنش‌پذیر نیتروژن ۱(RNS) مانند پراکسی نیتریت ۲($ONOO^-$)، استرس اکسیداتیو را تشدید کرده و از سوی دیگر منجر به آسیب مستقیم میتوکندری نورون‌ها می‌گردد. هم‌زمان با این تغییرات، افزایش بیان COX-2 به عنوان یک آنزیم کلیدی در سنتز پروستاگلاندین‌های التهابی مانند پروستاگلاندین۳ E2(PGE2)، محیط شیمیایی هیپوکمپ را به سمت التهاب مزمن و افزایش حساسیت به آپوپتوز سوق می‌دهد. در نهایت Caspase-3 به عنوان عامل نهایی اجرای آپوپتوز فعال شده و آبشار مرگ سلولی را تکمیل می‌کند(۷،۱۵،۱۶).

در تایید نقش تعدیلی HIIT، یافته‌های ما نشان داد که شش هفته HIIT بیان پروتئین‌های iNOS، COX-2 و Caspase-3 در بافت هیپوکمپ را کاهش داده و پتانسیل بالایی در بازگرداندن این شرایط به حالت طبیعی دارد. همسو با نتایج حاضر مطالعه رمی و دیگران در سال ۲۰۲۴ احتمالاً در مهار بیان iNOS و COX-2، سد خونی-مغزی را در برابر نفوذ سایتوکیان‌های مخرب محافظت کرده و التهاب عصبی را در منشأ مهار کند (۱۷). در همین راستا، برخی تحقیقات تایید کردند که وقتی شرایط التهابی مانند افزایش COX-2 بر اثر تمرین ورزشی کاهش می‌یابند، بیان Caspase-3 به عنوان عامل نهایی آپوپتوز نیز به دنبال آن فروکش می‌کند (۱۸، ۱۹).

از نظر مکانیسمی، یکی از دلایل کلیدی اثربخشی پروتکل HIIT، بازگرداندن تعادل به مسیرهای بازیافت سلولی است. برخی تحقیقات تبیین کرده‌اند که تولید بیش از حد NO ناشی از فعالیت iNOS، می‌تواند از طریق نیتروزیلاسیون‌کردن پروتئین‌های کلیدی مسیر اتوفاژی مانند برخی پروتئین‌های مرتبط با اتوفاژی مانند ۴(ATG4) و پارکین۵، سبب اختلال در فرآیند حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده یا میتوفاژی شده و به دنبال آن افزایش تجمع میتوکندری‌های معیوب شود. این شرایط سبب آزاد شدن بیشتر سیتوکروم C از میتوکندری‌ها و فعال شدن Caspase-3 می‌شود و زمینه بروز آپوپتوز را افزایش دهد (۱۶). یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات تناوبی با کاهش بیان iNOS، این مانع بازدارنده را برطرف کرده و اجازه می‌دهند احتمالاً

1. Reactive nitrogen species
2. Peroxynitrite
3. Prostaglandin E_2
4. Autophagy-Related Gene 4
5. Parkin

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

فرآیند اتوفاژی به طور موثر عمل کند. موازی با این تغییرات، کاهش بیان COX-2 به عنوان شاخص التهاب و استرس اکسیداتیو نیز مشاهده شد که خود یکی از محرک‌های بالادستی فعال‌سازی iNOS در شرایط پاتولوژیک است(۱۵). بنابراین در نتیجه این تعدیل‌های مولکولی، کاهش معنی‌دار فعالیت Caspase-3 رخ داد که نشان‌دهنده مهار مسیر آپوپتوز میتوکندریایی است. در واقع، به نظر می‌رسد تمرینات HIIT از طریق این روش پیشگیرانه، آستانه تحمل سلول در برابر استرس‌های دوران سالمندی را افزایش می‌دهد (۷،۴).

قصدی و دیگران در پژوهشی که در سال ۲۰۲۵ انجام دادند نشان دادند که پس از شش هفته HIIT، سطوح سایتوکین‌های التهابی IL-6 و IL-1β به طور قابل توجهی کاهش یافت، در حالی که بیان سایتوکین ضد التهابی IL-10 به طور قابل توجهی در هیپوکامپ موش‌های مسن تمرین‌کرده در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. که تاییدکننده نقش ضدالتهابی تمرینات HIIT می‌باشد (۸) همچنین مالکزینسکا[1] و همکاران در سال ۲۰۲۲ در پژوهشی نشان دادند که دوازده هفته تمرینات HIIT سبب کاهش فاکتورهای التهابی مانند فاکتور نکروز توموری آلفا[2](TNFa) و افزایش سایتوکین ضد التهابی IL-10 و همچنین کاهش سطح نوتروفیل‌ها، کاهش نسبت نوتروفیل به لنفوسیت و کاهش نسبت نوتروفیل به مونوسیت می‌شود که این تغییرات همراه با افزایش سطح آنزیم ضداکسایشی سوپراکسید دیسموتاز می باشد (۲۰). با توجه به این شواهد، می‌توانیم کاهش بیان پروتئین‌های iNOS، COX-2 در بافت هیپوکمپ در تحقیق حاضر را در نتیجه این سازگاری‌های سلولی مولکولی ناشی از توقف چرخه التهاب و استرس اکسایشی در بافت هیپوکمپ به دنبال تمرینات HIIT بدانیم. البته برخی تحقیقات نتایج متفاوتی گزارش کرده‌اند و افزایش در سطوح iNOS، COX-2 در نتیجه تمرینات HIIT را بیان کرده‌اند که ناشی از بررسی پاسخ‌های حاد بدن به تمرینات HIIT بوده یا به دلیل اندازگیری این شاخص‌ها در بافت‌های دیگر مانند قلب و عروق می‌باشد. از جمله این تحقیقات کورگر[3] و همکاران در سال ۲۰۱۶ بودند که افزایش سطوح نشانگرهای التهابی را در پاسخ به تمرینات حاد HIIT را نشان دادند و البته بیان کرده‌اند تمرین طولانی مدت و سازگاری ناشی از تمرین سبب کاهش این شاخص‌ها می‌شود (۲۱). هی[4] و همکاران نیز افزایش iNOS، COX-2 را در بافت اندوتلیال عروق به دنبال تمرینات HIIT را مشاهده کردندکه بیان شده افزایش این شاخص‌ها در جهت تاثیر این عوامل بر بافت اندوتلیال و کمک به بهبود در اتساع عروق می‌باشد (۲۱،۲۲). در مطالعه دیگری که فریتاز[5] و همکاران ۲۰۱۸ انجام شد، اثر انجام شش هفته تمرینات HIIT را بر وضعیت آسیب اکسیداتیو و دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی بافت هیپوکمپ مورد بررسی قرار دادند، کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیمی ضداکسایسی در هیپوکامپ را در نتیجه تمرینات HIIT نشان دادند. علاوه بر این، نتایج این تحقیق نشان داد که تمرینات HIIT سبب کاهش محتوای سیتوکین التهابی و افزاش سایتوکین‌های ضدالتهابی و همچنین افزایش مقادیر فاکتور نورون‌زایی مشتق از مغز[6] (BDNF) در هیپوکامپ شد (۲۳). همچنین در مطالعه دیگری که توسط زیو[7] و همکاران ۲۰۲۵ انجام شد مشخص شد که انجام تمرینات HIIT در درازمدت اثر ضد التهابی بر مغز دارد و به بهبود عملکرد عصبی عروقی و کاهش التهاب عصبی مزمن درمغزکمک می کند (۲۴). با توجه به این پژوهش‌ها به نظر می‌رسد کاهش پروتئین Caspase-3، در تحقیق حاضر در نتیجه تمرینات HIIT به دلیل نقش اثرگذار تمرینات HIIT در تغییر موازنه التهاب، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز به سمت بهبود شرایط التهابی و اکسایشی و در نهایت حفاظت نورونی در هیپوکمپ با افزایش سطوح عوامل حفاظت نورونی مانند BDNF باشد. همچنین میلنیچک[8] و همکاران در سال ۲۰۲۴ بهبود در عملکرد میتوکندریایی و افزایش رگ‌زایی مغزی به دلیل افزایش سطوح BDNF را در نتیجه تمرینات HIIT گزارش کردند (۲۵). این تغییرات ذکر شده می‌تواند از دیگر عوامل موثر در کاهش سطوح پروتئین‌های مرتبط با آپوپتوز مانند پروتئین Caspase-3 در تحقیق حاضر باشد. در مجموع، این پژوهش تایید می‌کند که HIIT با سرکوب همزمان محرک‌های التهابی و پروتئین‌های دخیل در آپوپتوز، ظاهراً راهکاری مولکولی کارآمدی برای مقابله با زوال عصبی ناشی از التهاب و استرس اکسیداتیو در دوران سالمندی در بافت هیپوکمپ فراهم می‌آورد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد این مدل تمرینی احتمالاً از طریق تعدیل محور التهاب-آپوپتوز، راهکاری برای مقابله با زوال عصبی

1. Malczynska
2. He
3. Freitas
4. Brain-Derived Neurotrophic Factor
5. Zhu
6. Mielniczek
7.Tumor necrosis factor alpha
1. Krüger

ناشی از سالمندی فراهم می‌کند. بر این اساس، انجام مطالعات آینده‌نگر با تمرکز بر بررسی اثرات محافظت عصبی تمرینات HIIT در جمعیت‌های سالمند انسانی، به محققان این حوزه توصیه می‌شود.

تعارض منافع

هیچ تعارض منافعی در تحقیق حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

از تمامی افرادی که در این پژوهش کمک داشتند، تشکر می‌شود.

منابع

1. Lee J, Kim HJ. Normal aging induces changes in the brain and neurodegeneration progress: review of the structural, biochemical, metabolic, cellular, and molecular changes. Frontiers in Aging Neuroscience. 2022 Jun 30;14:931536. https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.931536.

2. Ojo JO, Rezaie P, Gabbott PL, Stewart MG. Impact of age-related neuroglial cell responses on hippocampal deterioration. Frontiers in Aging Neuroscience. 2015 Apr 29;7:57. https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00057.

3. Jiang Q, Liu J, Huang S, Wang XY, Chen X, Liu GH, Ye K, Song W, Masters CL, Wang J, Wang YJ. Antiageing strategy for neurodegenerative diseases: from mechanisms to clinical advances. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2025 Mar 10;10(1):76. https://doi.org/10.1038/s41392-025-02145-7.

4. Iova OM, Marin GE, Lazar I, Stanescu I, Dogaru G, Nicula CA, Bulboacă AE. Nitric oxide/nitric oxide synthase system in the pathogenesis of neurodegenerative disorders—An overview. Antioxidants. 2023 Mar 20;12(3):753. https://doi.org/10.3390/antiox12030753.

5. Strekalova T, Pavlov D, Trofimov A, Anthony DC, Svistunov A, Proshin A, Umriukhin A, Lyundup A, Lesch KP, Cespuglio R. Hippocampal over-expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) is associated with susceptibility to stress-induced anhedonia in mice. International Journal of Molecular Sciences. 2022 Feb 13;23(4):2061. https://doi.org/10.3390/ijms23042061.

6. Wójcik P, Jastrzębski MK, Zięba A, Matosiuk D, Kaczor AA. Caspases in Alzheimer's disease: mechanism of activation, role, and potential treatment. Molecular Neurobiology. 2024 Jul;61(7):4834-53. https://doi.org/10.1007/s12035-023-03847-1.

7. D'Amelio M, Sheng M, Cecconi F. Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis. Trends in Neurosciences. 2012 Nov 1;35(11):700-9. https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.06.004.

8.Ghasdi S, Rami M, Habibi A. The effect of six weeks HIIT exercise on the gene expression of some inflammatory and anti-inflammatory markers of hippocampal tissue in aged male Wistar rats. Jorjani Biomedicine Journal. 2025 Jan 1;13(1):37. https://doi.org/10.1163/17552559-00001004.

9. Martín-Rodríguez A, Dalamitros AA, Madrigal-Cerezo R, Sánchez-Conde P, Clemente Suárez VJ, Tornero Aguilera JF. Move to remember: the role of physical activity and exercise in preserving and enhancing cognitive function in aging—a narrative review. Geriatrics. 2025 Nov 5;10(6):143. https://doi.org/10.3390/geriatrics10060143.

10. Liu K, Zhao W, Li C, Tian Y, Wang L, Zhong J, Yan X, Wang Y, Wang L, Wang H. The effects of high-intensity interval training on cognitive performance: a systematic review and meta-analysis. Scientific Reports. 2024 Dec 30;14(1):32082. https://doi.org/10.1038/s41598-024-83802-9.

11. Packer N, Hoffman-Goetz L. Acute exercise increases hippocampal TNF-α, Caspase-3 and Caspase-7 expression in healthy young and older mice. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2015 Apr 1;55(4):368-76.

12. da Silva Fiorin F, Chung MK. The effects of physical exercise on inflammation-induced maladaptive neuroplasticity in post-traumatic headache. Neuroscience. 2026 Mar 9. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2026.03.007.

13. Freitas DA, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, Mendonça VA, Lacerda AC, Massensini AR, Poortamns JR, Meeusen R, Leite HR. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. Physiology & Behavior. 2018 Feb 1;184:6-11. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.10.027.

14. Soori R, Amini AA, Choobineh S, Eskandari A, Behjat A, Ghram A, Voltarelli FA. Exercise attenuates myocardial fibrosis and increases angiogenesis-related molecules in the myocardium of aged rats. Arch Physiol Biochem. 2022 Feb;128(1):1-6. https://doi.org/10.1080/13813455.2019.1660370.

15. Kim ME, Lee JS. Advances in the regulation of inflammatory mediators in nitric oxide synthase: implications for disease modulation and therapeutic approaches. International Journal of Molecular Sciences. 2025 Jan 30;26(3):1204. https://doi.org/10.3390/ijms26031204.

16. Dash UC, Bhol NK, Swain SK, Samal RR, Nayak PK, Raina V, Panda SK, Kerry RG, Duttaroy AK, Jena AB. Oxidative

stress and inflammation in the pathogenesis of neurological disorders: Mechanisms and implications. Acta Pharmaceutica Sinica B. 2025 Jan 1;15(1):15-34. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.10.004.

17. Rami M, Shakerian S, Fatemi Tabatabaei SR. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on hippocampal neuroinflammation and apoptosis markers in elderly rats. Journal of Aging and Exercise. 2024; 12(1): 45-58.

18. Yousaf F, Kao S, Ishaq S, Lee SD. Cortical Neuroprotective Mechanisms of Exercise Training in Post-Traumatic Brain Injury: A Systematic Review. International Journal of Molecular Sciences. 2025 Dec 20;27(1):52. https://doi.org/10.3390/ijms27010052.

19. Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK, Lee SS. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-κB activation. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2001 Sep 1;480:243-68. https://doi.org/10.1016/s0027-5107(01)00183-x.

20. Malczynska-Sims P, Chalimoniuk M, Wronski Z, Marusiak J, Sulek A. High-intensity interval training modulates inflammatory response in Parkinson's disease. Aging Clinical and Experimental Research. 2022 Sep;34(9):2165-76. https://doi.org/10.1007/s40520-022-02153-5.

21. Krüger K, Bredehöft J, Mooren FC, Rummel C. Different effects of strength and endurance exercise training on COX-2 and mPGES expression in mouse brain are independent of peripheral inflammation. Journal of Applied Physiology. 2016 Jul 1;121(1):248-54. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00284.2016.

22. He H, Wang C, Chen X, Sun X, Wang Y, Yang J, Wang F. The effects of HIIT compared to MICT on endothelial function and hemodynamics in postmenopausal females. Journal of Science and Medicine in Sport. 2022 May 1;25(5):364-71. https://doi.org/10.1016/j.jsams.2022.01.007.

23. Freitas DA, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, Mendonça VA, Lacerda AC, Massensini AR, Poortamns JR, Meeusen R, Leite HR. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. Physiology & Behavior. 2018 Feb 1;184:6-11. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.10.027.

24. Zhu L, Cai M, Lu Z, Wang Q, Zhai T, Hu J. The impact of high-intensity interval training on cerebrovascular function in the APP/PS1 mice. Frontiers in Aging. 2025 Oct 14;6:1647628. https://doi.org/10.3389/fragi.2025.1647628.

25. Mielniczek M, Aune TK. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on brain-derived neurotrophic factor levels (BNDF): A systematic review. Brain Sciences. 2024 Dec 30;15(1):34. https://doi.org/10.3390/brainsci15010034.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده