

تأثیر تمرین تناوبی شدید و عصاره آویشن بر بیان ژن‌های CREBT و TRKB هیپوکمپ موش‌های دیابتی نوع دوم

چکیده

زمینه و هدف: دیابت شایع‌ترین ناهنجاری متابولیکی غدد درونریز بدن است. هدف از انجام تحقیق حاضر تعیین تأثیر تمرین تناوبی شدید و عصاره آویشن بر بیان ژن‌های CREBT و TRKB هیپوکمپ موش‌های دیابتی نوع دوم بود. **روش کار:** روش انجام تحقیق آزمایشی و کاربردی حاضر بدین صورت بود که 36 سر رت نر ویستار 4 هفته‌ای در دامنه وزنی 110 ± 20 گرم جهت آشنایی با محیط و رسیدن به وزن 190 ± 20 گرم، دو هفته نگهداری و سپس به مدت 5 ماه با رژیم پر چرب (45 تا 60 درصد چربی) تا رسیدن به میانگین وزنی حدود 407 ± 50 گرم تغذیه شدند. برای ایجاد مدل دیابتی نوع دو، 25 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن STZ به شیوه تزریق درون صفاقی دیابتی شدند. سپس به 4 گروه (کنترل دیابتی 6 سر، تمرین هوازی تناوبی 8 سر، آویشن 4 سر و تمرین-آویشن 7 سر) تقسیم شدند. گروه تجربی تمرین تناوبی و تمرین-آویشن، تمرین هوازی شدید تناوبی را با شدت 30 تا 36 متر در دقیقه (80 تا 95 درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) 15 تا 33 دقیقه در هر جلسه و 5 جلسه در هفته برای مدت دو ماه انجام دادند. گروه‌های آویشن تنها و آویشن-تمرین مقدار 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی را بصورت حل شده در آب مقطر 5 روز در هفته قبل از تمرین بصورت گاواژ دهانی مصرف می‌کردند. اندازه‌گیری بیان ژن-های بافت هیپوکمپ با استفاده از روش Real time PCR انجام شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که بیان ژن‌های CREBT و TRKB بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین، آویشن و تمرین-آویشن افزایش معنی‌داری یافت ($P=0/0001$). **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج استفاده از تمرین تناوبی شدید و آویشن جهت بهبود وضعیت هیپوکمپ توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی شدید، عصاره آویشن، هیپوکمپ، CREBT، TRKB

The effect of high-intensity interval training and thyme extract on the expression of CREBT and TRKB genes in the hippocampus of type 2 diabetic mice

Background and Objective: Diabetes is the most common endocrine metabolic disorder in the body. The aim of the present study was to determine the effect of

high-intensity interval training and thyme extract on the expression of CREBT and TRKB genes in the hippocampus of type 2 diabetic mice. Methods: The method of conducting the present experimental and applied research was as follows: 36 4-week-old male Wistar rats weighing 110 ± 20 g were kept for two weeks to familiarize themselves with the environment and reach a weight of 190 ± 20 g, and then fed a high-fat diet (45 to 60% fat) for 5 months until reaching an average weight of about 407 ± 50 g. To create a type 2 diabetic model, 25 mg/kg of STZ were injected intraperitoneally to induce diabetes. Then they were divided into 4 groups (diabetic control 6 heads, interval aerobic training 8 heads, thyme 4 heads, and training-thyme 7 heads). The experimental interval training and training-thyme groups performed high-intensity interval aerobic training at an intensity of 30 to 36 meters per minute (80 to 95% of maximum oxygen consumption) for 15 to 33 minutes per session, 5 sessions per week for two months. The thyme alone and thyme-training groups consumed 200 mg/kg of hydroalcoholic extract of Shirazi thyme dissolved in distilled water by oral gavage 5 days a week before training. Measurement of hippocampal tissue gene expression was performed using Real-time PCR. Results: The results showed that the expression of CREBT and TRKB genes in the hippocampal tissue of the rat brain was significantly increased in the experimental groups of exercise, thyme, and exercise-thyme ($P=0.0001$). Conclusion: According to the results, the use of high-intensity interval training and thyme is recommended to improve the condition of the hippocampus.

Keywords: High-intensity interval training, thyme extract, hippocampus, CREBT, TRKB

مقدمه

شیوع چاقی و کم تحرکی و نتایج منفی آن بر سلامت مردم کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، هم چنین در ایران به سرعت در حال افزایش است. چاقی و اضافه وزن بیماری مزمنی است که به عنوان مشکل سلامت عمومی محسوب شده و دارای شیوع بالایی در سراسر جهان می باشد که به عنوان یک مشکل سلامتی همه گیر، باعث افزایش خطر ابتلاء به برخی بیماری های مزمن مانند: بیماری های قلبی-عروقی آترواسکلروز، سندروم متابولیک و دیابت نوع ۲ شده است (Lu et al., 2024).

همان طور که ذکر شد چاقی در حال افزایش است و مشکلات بهداشتی فراوانی را در پی دارد. ازاین رو اجرای تمرینات ورزشی به آنها توصیه می شود. امروزه تمرینات شدید با حجم کم به علت تأثیرات بالقوه در ترکیب بدنی و آمادگی جسمانی طرفداران زیادی پیدا کرده است (Ma et al., 2023). بیشتر پروتکل های فعالیت ورزشی طراحی شده برای کاهش وزن، بر فعالیت یکنواخت منظم مانند راه رفتن و جاگینگ با شدت متوسط تمرکز دارند؛ ولی این نوع پروتکل ها به کاهش وزن کمی منجر می شوند و حتی برخی افراد تمرین های هوازی را یکنواخت، خسته کننده و زمان بر می دانند (McGregor et al., 2023)؛ بنابراین، به آن دسته از پروتکل های تمرینی نیاز است که با وجود تنوع تمرینی افراد با اضافه وزن چاق و غیرفعال بتوانند آنها را انجام دهند و به لحاظ کاهش چربی بدن به ویژه چربی احشایی مؤثرتر باشد. شواهد نشان می دهند که تمرین تناوبی شدید¹ (HIIT) می تواند به طور بالقوه برای کاهش چربی افراد با اضافه وزن چاق مؤثرتر باشد و به لحاظ زمانی نیز اقتصادی تر باشد (Yin et al., 2023). پروتکل تمرین تناوبی شدید برگرفته از آزمون وینگیت با تلاش حداکثری و بسیار شدید و ناراحت کننده است. تمرین تناوبی شدید با استفاده از آزمون وینگیت برای افراد فعال و با برانگیختگی بالا مناسب است؛ اما شواهد روبه رشد نشان می دهند که در افراد چاق/اضافه وزن غیرفعال نیز به خوبی اجرا می شود (Alahmadi, 2014)؛ ولی نیاز به چرخ کارسنج و سطح بالای انگیزتگی از محدودیت های این آزمون هستند؛ بنابراین، پروتکل تعدیل شده تمرین تناوبی شدید با حجم کم توسط مطالعات استفاده شده است که برای جمعیت چاق/اضافه وزن و غیر فعال، کاربردی تر از تکرار آزمون وینگیت است (Amorim Oliveira et al., 2022).

¹ High intensity interval training

در کنار ورزش و اثرات مفید آن، استفاده از مکمل‌های گیاهی یا آنتی اکسیدان‌ها نیز می‌تواند اثر بخش باشد (Moghadam et al., 2013). در عین حال به کارگیری عوامل تغذیه‌ای و استفاده از مکمل‌های آنتی اکسیدانی به عنوان یک روش درمانی در افزایش شرایط ضد اکسایشی و یا پاکسازی رادیکال‌های، آزاد توجه فراوانی را به خود معطوف داشته است.

آویشن با نام علمی *Thymus vulgaris* از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان و متعلق به تیره نعنائیان و حاوی ترکیبات تانن، فلاونوئید، ساپونین و مواد تلخ و ترکیب فنولی به نام تیمول، کارواکرول، پاراسمین، لینالول، سینئول، ترپنوئید، گلیکوزید، کافئیک و رزمارینیک اسید می‌باشد. این گیاه دارای اثر نیرو دهنده، هضم کننده، ضداسپاسم، بادشکن، ضد قارچی، باکتریایی، ضد عفونی کننده، ضد تشنج، ضد کرم، ضد رماتیسم، خلط آور، آنتی اکسیدان می‌باشد. عصاره گیاه آویشن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار بالایی باشد که علاوه بر کاهش چربی خون می‌تواند در مهار اکسیداسیون LDL نقش داشته باشد (یقمایی و همکاران، 1390). عصاره آویشن می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی اکسیدانی جهت تولید محصولات غذایی پایدار مورد استفاده قرار گیرد (هیل‌ماریام و امیره، 2013)². مشاهده شده که تیمول و کارواکرول موجود در عصاره آویشن مثل فلاونوئید و دیگر پلی فنول‌ها در فعالیت‌های آنتی اکسیدانی در گیر می‌شوند. رزماریتیک اسید از مشتقات هیدروکسی سینامیک و ترکیبات فلاونوئید فعالیت‌های مهم آنتی اکسیدانی را در شرایط آزمایشگاهی با مهار تشکیل آنیون سوپر اکسید آهن و پر اکسیداسیون لیپید در سیستم‌های میکروزمی و میتوکندریایی انجام می‌دهد. علاوه بر این تیمول موجود در آویشن به وسیله خنثی سازی رادیکال 2،2-دیفینیل-1-پیکریل هیدریزیل (DPPH) فعالیت آنتی اکسیدانی دارد (هیل‌ماریام و امیره 2013). مطالعات نشان داده اند در بیمارانی که دیابت آنها کنترل نشده، سطح آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و آنتی اکسیدان‌هایی مانند ویتامین E و α لیپوئیک اسید کاهش می‌یابد (طاهری و همکاران 1391). عصاره آویشن می‌تواند برای کنترل دیابت و کاهش ریسک افزایش عوارض قلبی عروقی ناشی از بیماری‌های متابولیک استفاده گردد (Ekoh et al., 2014). با این حال کوهی و همکارانش در سال 2015 نتوانستند تاثیر معنادار عصاره آویشن با یا بدون آتروواستاتین را گزارش کنند (کوهی و همکاران 2015). درک ارتباط بین تمرین ورزشی، آویشن و کاهش آسیب کبدی برای سلامت عمومی مفید خواهد بود (رحیم، اوی و عبدالحمید 2017). بنابراین با

² . Hailmariam & Emire 2013

توجه به کاستی‌های موجود در مطالعات پیشین و وجود تناقض در نتایج، هدف از مطالعه حاضر مطالعه تاثیر تمرین هوازی تناوبی و مصرف عصاره آویشن بر شاخص‌های آپوتوزی و استرس اکسیداتیو بافت کبد می‌باشد. درک ارتباط بین تمرین ورزشی، آویشن و کاهش عوارض ناشی از دیابت مانند آلزایمر برای سلامت عمومی مفید خواهد بود. بنابراین با توجه به کاستی‌های موجود در مطالعات پیشین، هدف از پژوهش حاضر تعیین میزان تاثیر تمرین تناوبی و عصاره آویشن و همچنین تاثیر تعاملی این دو بر بیان ژن‌های هیپوکمپ موش‌های چاق دیابتی می‌باشد.

با توجه به تاثیر مثبت تمرین و فعالیت ورزشی بر فاکتورهای مختلف درگیر در دیابت از یک طرف اثبات نقش آنتی اکسیدانی آویشن از طرف دیگر و نقش ژن‌های CREBT و TRKB در هیپوکمپ و از آنجا که با مرور تحقیقات انجام شده در داخل و خارج از کشور تحقیقی در زمینه موضوع مورد نظر یافت نشد لذا محققین در پی کشف این سوال هستند که آیا تمرین تناوبی شدید و عصاره آویشن بر بیان ژن‌های CREBT و TRKB هیپوکمپ موش‌های دیابتی نوع دوم تاثیر دارند یا خیر؟

روش کار

روش انجام تحقیق توسعه‌ای، مقطعی و آزمایشگاهی حاضر که کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1402.291 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات را دریافت کرد 36 سر رت نر و 4 هفته‌ای در دامنه وزنی 110 ± 20 گرم انتخاب و جهت رسیده به وزن حدود 190 ± 20 گرم و آشنایی با محیط برای دو هفته نگهداری شدند. کلیه رت‌های مورد مطالعه در شرایط کنترل شده نور (12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی) با دمای (3 ± 22 سانتی گراد)، و رطوبتی در دامنه 30 تا 60 در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران نگهداری شدند. سپس به مدت 5 ماه با رژیم پر چرب (45 تا 60 درصد چربی) خریداری شده از پژوهشکده زیست فناوری رویان تا رسیدن به میانگین وزنی حدود 407 ± 50 گرم تغذیه شدند. برای ایجاد مدل دیابتی نوع دو، 25 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن STZ به شیوه تزریق درون صفاقی به آنها تزریق شد. یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه‌گیری و قند خون بالای 150 تا 400 میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع 2 در نظر گرفته شد. سپس موش‌های دیابتی نوع دو به 4 گروه (کنترل دیابتی 6 سر، تمرین هوازی تناوبی 8 سر، آویشن 4 سر و تمرین - آویشن 7 سر) تقسیم شدند. گروه تجربی تمرین تناوبی و تمرین - آویشن، تمرین هوازی شدید تناوبی را با شدت 03 تا 36 متر در دقیقه (80 تا 95 درصد

حداکثر اکسیژن مصرفی) 15 تا 33 دقیقه در هر جلسه و 5 جلسه در هفته برای مدت دو ماه (8 هفته) انجام دادند. گروه‌های تجربی مصرف آویشن (گروه آویشن تنها و گروه آویشن - تمرین) مقدار 200 میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی را بصورت حل شده در آب مقطر 5 روز در هفته قبل از تمرین بصورت گاواژ دهانی مصرف می کردند.

روش تهیه و مصرف آویشن بدین صورت بود که برگ و سرشاخه‌های جوان گیاه آویشن از ارتفاعات ارسنجان فارس جمع آوری شد و نمونه هرباریوم در دانشگاه شیراز (با کد 24993) تأیید شد. پس از خشک کردن نمونه‌های جمع آوری شده در سایه، توسط آسیاب پودر شدند. سپس پودر در ظروف شیشه‌ای یک لیتری دربسته ریخته شد و به نسبت 70 درصد الکل طبی و 30 درصد آب مقطر اضافه شد و به مخلوط 72 ساعت فرصت داده شد تا خوب خیس بخورد. بعد از این مدت از مخلوط به روش پرکوالسیون (عصاره گیری تحت فشار) عصاره گیری انجام شد. آنالیز عصاره جمع آوری شده به وسیله روتاری تغلیظ شد و سپس با دستگاه انکوباتور تا حد امکان رطوبت گیری شد. هنگام استفاده عصاره جامد با آب مقطر به محلول تبدیل شد و استفاده شد. در طی دوره آزمایش به موش‌های گروه آویشن و گروه آویشن و تمرین تناوبی، آویشن با دوز 200 میلی گرم بر کیلوگرم (200 میلی گرم/کیلوگرم) رقیق شده در آب مقطر و به روش گاواژ، پنج روز در هفته برای هشت هفته اجرای پروتکل خورانده شد (Mehran et al., 2016; Yaghmaie et al., 2016).

همچنین پروتکل تمرین تناوبی به صورت هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت 30 تا 36 متر در دقیقه (80 تا 95 درصد VO_{2max}) و تناوب استراحت با سرعت 16 تا 22 متر در دقیقه (50 تا 56 درصد VO_{2max}) و زمان 15 تا 33 دقیقه به صورت دویدن روی تردمیل انجام شد؛ به طوری که زمان دویدن از 15 دقیقه در هفته اول به 33 دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت (جدول شماره یک). رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت پنج متر در دقیقه با شیب صفر درصد با زمان 10، 12 و 15 دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند. برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل رودریگرز و همکاران (2007)^۲ استفاده شد. برای اندازه گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) به دلیل نبود دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با

¹- Rodrigues and et.al (2007)

توجه به پژوهش‌های انجام‌شده، پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد استفاده شد؛ به این ترتیب که هر دو هفته یک‌بار موش‌ها در یک وهله تمرینی پس از پنج دقیقه گرم کردن با سرعت 10 متر در دقیقه، سپس با سرعت 15 متر در دقیقه به مدت دو دقیقه شروع به دویدن کردند و هر سه دقیقه سه متر در دقیقه به سرعت افزوده شد تا اینکه هر کدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد و سرعت حداکثر برای شدت تمرین بین 80 تا 95 درصد MERT لحاظ شد. خلاصه پروتکل در جدول شماره دو آمده است. با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده، ارتباط زیادی بین سرعت نوارگردان و VO_{2max} رت‌ها وجود دارد ($r = 0.94-0.98$, $p < 0.05$)؛ از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن، میزان VO_{2max} رت‌ها را برآورد کرد (Rodrigues et al., 2007; Akbarzadeh et al., 2018; Rezaei et al., 2015).

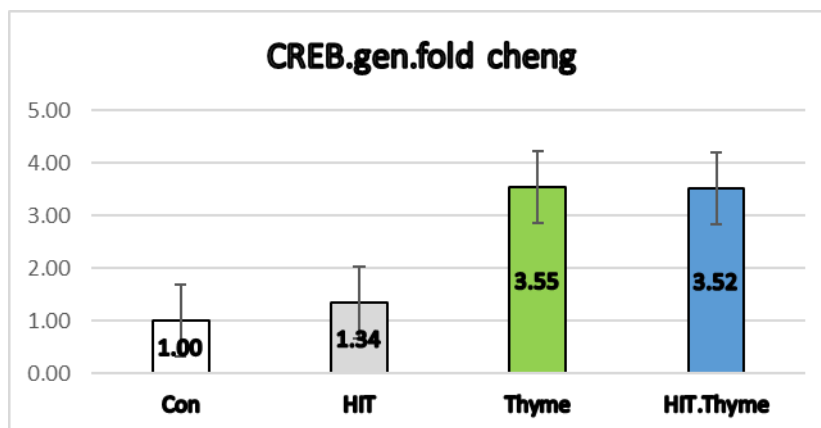
جدول 1- پروتکل تمرین تناوبی

هفته	شدت گرم کردن 5 دقیقه	تعداد تناوب شدید	زمان تناوب شدید	سرعت تناوب شدید	زمان تناوب استراحت	شدت تناوب استراحت	شدت سرد کردن 5 دقیقه	زمان کل (دقیقه)
1&2.th	10m/min	2 interval	2min	30 m/min (80%)	1 min	16 m/min (50%)	10m/min	15
3&4.th	10m/min	4 interval	2min	32 m/min (85%)	1 min	18 m/min (52%)	10m/min	21
5&6.th	10m/min	6 interval	2min	34 m/min (90%)	1 min	20 m/min (54%)	10m/min	27
7&8.th	10m/min	8 interval	2min	36 m/min (95%)	1 min	22 m/min (56%)	10m/min	33

در نهایت و 48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه‌های تجربی تمرینی و پس از 12 ساعت ناشتایی موش‌ها توسط ماده بی‌هوشی اتر بی‌هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری شد و در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. و بیان ژن‌ها با استفاده از روش Real-time-PCR اندازه‌گیری شد. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا حیوان با اتر بی‌هوش شدند و سپس، قفسه سینه حیوان شکافته شد و پس از جدا کردن سر بافت هیپوکمپ از حیوان برداشته شده و سپس در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و در ترازوی

دیجیتالی با دقت 0/0001 گرم وزن کشی شد، سپس بلافاصله با استفاده از ازت مایع منجمد و برای سنجش‌های بعدی در دمای 80- فریز شد. در انتها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد)، آزمون شپرو ویلک، تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی بنفرونی، آزمون دوعاملی در سطح معناداری $p \leq 0/05$ از طریق نرم افزار آماری SPSS²² استفاده شد.

یافته‌ها



نمودار 1- تغییرات بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز در گروه‌های مختلف

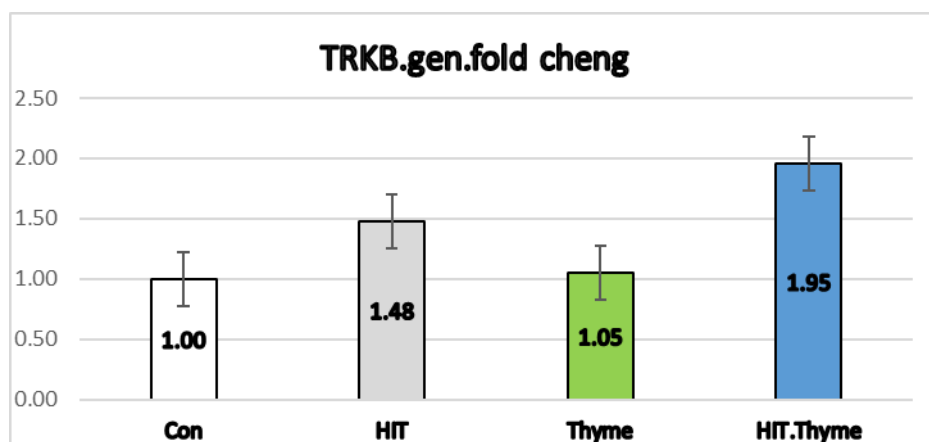
نتایج نشان داد که بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین و عصاره و تمرین-عصاره افزایش داشته است که تغییرات آن معنی دار است ($F=22.338, \text{Sig}=0.0001$). همچنین مشخص شد تاثیر عصاره آویشن بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنا دار است. که بررسی شاخص‌های اندازه اثر نشان می‌دهد که اندازه اثر عصاره آویشن بر بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز از دیگر گروه‌ها بیشتر است (جدول 2) نهایتاً نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد تغییرات بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین - عصاره و گروه عصاره نسبت به گروه کنترل و نیز گروه تمرین - عصاره و گروه عصاره نسبت به گروه تمرین معنی دار است.

جدول 2: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی جهت تعیین اثرات تمرین تناوبی و عصاره آویشن بر بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز موش‌های نر دیابتی نوع دو.

منبع	F	سطح معنی داری	نتیجه	اندازه اثر	توان آزمون
تمرین تناوبی	0.28	0.602		0.013	0.08

عصاره آویشن	64.33	0.0001	**	0.754	1.000
تمرین تناوبی و عصاره آویشن	0.38	0.544		0.018	0.091

نتایج نشان داد که بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز موش ها در گروههای تجربی تمرین و عصاره و تمرین-عصاره افزایش داشته است که تغییرات آن معنی دار است ($F=11.217, Sig=0.0001$). همچنین تاثیر انجام تمرین تناوبی بر بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز گروه های مورد مطالعه معنادار است همچنین تاثیر عصاره آویشن بر بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز گروه های مورد مطالعه معنادار نیست و تاثیر تعاملی تمرین - عصاره آویشن بر بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز گروه های مورد مطالعه معنادار نیست . که بررسی شاخص های اندازه اثر نشان می دهد که اندازه اثر تمرین تناوبی بر بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز از دیگر گروه ها بیشتر است. (جدول 3) نهایتا تغییرات بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین - عصاره نسبت به گروه کنترل و نیز گروه تمرین-عصاره نسبت به گروه عصاره آویشن معنی دار است.



نمودار 4-8- تغییرات بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز در گروه های مختلف

جدول 3: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی جهت تعیین اثرات تمرین تناوبی و عصاره آویشن بر بیان ژن TRKB بافت هیپوکمپ مغز موش های نر دیابتی نوع دو.

منبع	F	سطح معنی داری	نتیجه	اندازه اثر	توان آزمون
تمرین تناوبی	25.94	0.0001	**	0.553	0.998
عصاره آویشن	3.703	0.068		0.150	0.451
تمرین تناوبی و عصاره آویشن	2.463	0.132		0.105	0.322

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین، عصاره و تمرین-عصاره افزایش داشته که تغییرات آن معنی‌دار است ($F=22.338, \text{Sig}=0.0001$). همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس دوعاملی نشان داد که تاثیر عصاره آویشن بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. که بررسی شاخص‌های اندازه اثر نشان می‌دهد که اندازه اثر عصاره آویشن بر بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز از دیگر گروه‌ها بیشتر است. نتایج آزمون تعقیبی جهت تعیین محل تفاوت نیز نشان داد که تغییرات بیان ژن CREB بافت هیپوکمپ مغز در گروه تمرین - عصاره و گروه عصاره نسبت به گروه کنترل و نیز گروه تمرین - عصاره و گروه عصاره نسبت به گروه تمرین معنی‌دار است.

پروتئین CREB در هموستاز گلوکز و سوخت و ساز بافت چربی نقش مهمی دارد؛ فسفور بلاسیون CREB در سلول‌های بافت چربی و فعالیت آنها را در پاسخ به مواد غذایی در بافت چربی و چاقی افزایش می‌یابد مطابق با اثر CREB، همچنین به نظر می‌رسد CRTCs برای سوخت و ساز سلول‌های چربی در بافت چربی مهم است به طور خاص افزایش CRTC بسیار در بافت سفید چربی (WAT) و بافت چربی قهوه‌ای (BAT) برای تنظیم مقاومت به انسولین مهم است (Karimi *et al.*, 2020).

در تحقیقی Bruno و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی میزان پروتئین CREB و CRTC2 و CRTCG بر پاسخ آنابولیک و افزایش کارایی عضله اسکلتی پرداختند. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا به مدت ۸ هفته و جلسه‌ای ۳۰ دقیقه انجام شد. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا منجر به افزایش سطوح فرم فسفریله CREB و دفسفریلاسیون شدن CRTC2 و CRTC3 شد (Bruno *et al.*, 2014). نتایج تحقیق Bruno و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم راستا بود. گرچه نتایج تحقیق حاضر با نتایج کریمی و همکاران (2020) مغایرت داشت، چرا که آنها شاهد تغییر در میزان پروتئین CREB را شاهد نبودند و این در حالی است که در مطالعه کریمی و همکاران (1399) میزان پروتئین CRTC2 افزایش معنی‌داری یافته بود (Karimi *et al.*, 2020). از دلایل مهم این اختلاف نتایج می‌تواند مکان اندازه‌گیری این پروتئین باشد که در تحقیق کریمی و همکاران در بافت چربی زیر جلدی بود و ولی در تحقیق Bruno و همکاران در بافت عضله اسکلتی بوده است و در مطالعه حاضر از بافت هیپوکمپ اندازه‌گیری صورت گرفته بود. البته عوامل دیگر مانند نوع و شدت تمرین ورزشی نیز مهم هستند و باید مورد بررسی قرار گیرند. عامل

بسیار مهم در تحقیق حاضر نسبت به دیگر تحقیقات بیمار بودن آزمودنی‌ها بود که مبتلا به دیابت نوع دو بودند در افراد مبتلا به دیابت انجام فعالیت ورزشی منجر به تنظیم وزن قند خون و مقاومت به انسولین می‌شود؛ بنابراین تمرین HIIT می‌تواند مزیت‌های مهمی تنظیم وزن و قند خون داشته باشد که باید در این حین به عوامل این تمرین مانند شدت مدت و زمان ریکاوری تمرین دقت کرد (Galbo et al., 2007).

در بحث مسیرهای سلولی و ملکولی تنظیم کننده پروتئین CREB می‌توان به مسیرهای متفاوتی اشاره کرد. یکی از این مسیرها، فعال شدن توسط گیرنده‌های GPCR است. اتصال لیگاند به گیرنده G تحریکی، منجر به تشکیل کمپلکس زیر واحدهای آن (α ، β و γ) می‌شود؛ این عمل فعال شدن آدنیلات سیکلاز (AC) و در تسریع سنتز AMP حلقوی می‌شود. افزایش cAMP سلولی منجر به تحریک سیگنالینگ پروتئین کیناز-A (PKA) می‌شود. اتصال cAMP به زیر واحد تنظیمی PKA، سبب ارتقاء تفکیک خود از زیر واحد کاتالیزوری می‌شود. زیر واحدهای کاتالیزوری آزاد شده توسط انتشار غیر فعال و فسفریله شدن عنصر CRE متصل شونده به پروتئین CREB در جایگاه سرین - ۱۳۳ سبب ورود هسته آن به می‌شود و سپس اعمال فیزیولوژیک خود را اعمال می‌کند (Altarejos & Montminy, 2019). هنوز اثرات پروتئین‌های CREB و CRTC2 و نقش فعالیت ورزشی در تنظیم این دو پروتئین در بافت چربی به خوبی مشخص نشده است. همچنین نقش این پروتئین‌ها در انواع بیماری‌های مرتبط با چاقی مانند دیابت نوع دو ناشناخته مانده است؛ بنابراین تحقیقات بیشتری بر روی پروتئین‌های CREB و CRTC2 در بافت چربی مورد نیاز است.

یکی از مهمترین سازوکارهای سلولی درگیر در رشد عصبی، BDNF است. BDNF در بخش‌های مختلف مغز پستان داران از قبیل هیپوکمپ، قشر مغز و مخچه بیان می‌شود و از طریق گیرنده اختصاصی تیروزین کینازی خود، یعنی فعالیت‌های زیستی خود را اعمال می‌کند (Rosa & Fahnstock, 2014). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی از مسیرهای مختلفی از جمله افزایش اکسیژن مصرفی مغز، افزایش انتقال دهنده‌های عصبی مغز و همچنین تنظیم افزایشی نروتروفین‌ها در مغز، اثرات مفید خود را القاء می‌کند (Sheikhzadeh et al., 2015). یکی از این نواحی مغزی هیپوکمپ است که نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه و یادگیری دارد و نشان داده شده است که فعالیت ورزشی از طریق افزایش BDNF سبب بهبود عملکرد و ساختار هیپوکمپ می‌شود (Zagaar et al., 2012). فعالیت ورزشی از طریق مسیر پیام‌رسانی وابسته به $PGC1-\alpha$ منجر به افزایش بیان FNDC5 و در نتیجه

افزایش بیان BDNF در نورون‌های هیپوکم می‌شود (Levada et al., 2016; Shoghi et al., 2024). مطابق با این یافته‌ها، نتایج مطالعه ما نیز برای اولین بار نشان داد که افزایش بیان BDNF ناشی از تمرین هوازی موجب افزایش بیان CREB در بافت هیپوکم رت‌های مورد مطالعه می‌شود.

CREB یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در حفاظت نورونی و بهبود یادگیری و حافظه دارد. CREB علاوه بر این که به طور مستقیم بیان BDNF را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به واسطه بازخورد مثبت بیان PGC1- α را در نئوکورتکس و استریاتوم کنترل می‌کند و می‌تواند به عنوان محرک مسیر پیامرسانی PGC1- α / FNDC5 BDNF/CREB نیز در نظر گرفته شود (Jodeiri Farshbaf et al., 2016).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن TRKB بافت هیپوکم مغز موش‌ها در گروه‌های تجربی تمرین، عصاره و تمرین-عصاره افزایش داشته که تغییرات آن معنی‌دار است ($F=11.217$, $Sig=0.0001$). همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس دوعاملی نشان داد که تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن TRKB بافت هیپوکم مغز گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. همچنین بررسی شاخص‌های اندازه اثر نشان می‌دهد که اندازه اثر تمرین تناوبی بر بیان ژن TRKB بافت هیپوکم مغز از دیگر گروه‌ها بیشتر است. نتایج آزمون تعقیبی جهت تعیین محل تفاوت نیز نشان داد که تغییرات بیان ژن TRKB بافت هیپوکم مغز در گروه تمرین-عصاره نسبت به گروه کنترل و نیز گروه تمرین-عصاره نسبت به گروه عصاره آویشن معنی‌دار است.

در این مطالعه اثر تمرین تناوبی به مدت ۸ هفته بر تغییرات سطوح پروتئینی BDNF و گیرنده TrkB در هیپوکم رت‌های نر بالغ بررسی شد و نتایج نشان داد که تمرین تناوبی و اجرای آن به طور معنی‌داری مقادیر BDNF و TrkB را افزایش می‌دهد.

در زمینه اثر تمرین تناوبی با شدت پایین تا متوسط بر سطوح BDNF و TrkB مطالعات بسیار محدود هستند. ویلهلم و دیگران (۲۰۱۲) در مطالعه خود به بررسی نقش BDNF در نورون‌ها و سلول‌های شوان که توسط ورزش بیان می‌شود پرداخته و موش‌ها را پس از آن که دچار آسیب عصبی شدند، به مدت ۲ هفته ۵ روز در دو شیوه تناوبی با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه با ۲ نوبت ۴ تکراری و تداومی با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای ۱ ساعت به فعالیت دویدن وا داشتند. نتایج آن‌ها نشان داد ضمن این که دویدن روی نوار گردان نوسازی عصبی را افزایش می‌دهد و BDNF در

نورون‌های حرکتی دچار تنظیم مثبت می‌شود؛ بین دو مدل تمرینی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (Wilhelm et al., 2012). در مطالعه‌ای دیگر، محققان به مقایسه تمرین‌های تداومی و تناوبی با شدت بالا (HIIT) پرداخته و افزایش معنی‌دار BDNF در مغز رت‌ها در پی هر دو مدل تمرینی را گزارش کرده‌اند (Afzalpour et al., 2015). یافته‌های فوق با نتایج تحقیق حاضر همسو هستند. اما برزگر و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده‌اند که دویدن به شیوه HIIT در طول ۸ هفته نتوانست افزایش معنی‌داری را در مقادیر BDNF هیپوکمپ ایجاد نماید (Barzegar et al., 2015). دلیل این ناهم‌سویی شاید شدت بالای (HIIT) تا ۳۵ متر بر دقیقه در مطالعه حاضر باشد، چرا که شدت‌های بالای تمرین می‌تواند عاملی تحریکی جهت ره‌ایش هورمون‌های استرس نظیر کورتیزول باشد که اثر سرکوب‌کنندگی بر BDNF دارند (Soya et al., 2007).

تاکنون در زمینه مطالعه اثر تمرین تداومی مطالعات متعددی انجام شده است. دویدن تداومی هوازی سبک با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه منجر به افزایش سطوح پروتئینی BDNF و TrkB در هیپوکمپ رت‌های نر بالغ سالم شده است (Hosseini et al., 2012). همچنین پس از ۷ روز دویدن پیاپی در سه گروه با شدت پایین (۱۱ متر بر دقیقه) متوسط (۱۴ متر بر دقیقه) و بالا (۲۲ متر بر دقیقه) بیان ژن BDNF در هیپوکمپ موش‌های صحرایی پس از دویدن با شدت پایین افزایش یافت؛ در حالی که دویدن با شدت بالا منجر به کاهش این شاخص گردید (Lou et al., 2008). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که دویدن در شدت‌های بالاتر نیز منجر به افزایش معنی‌دار BDNF می‌شود که همسو با نتایج فوق است. ثابت شده است که ۵ هفته تمرین روی نوارگردان از کاهش وابسته به سن BDNF و TrkB در هیپوکامپ موش‌های صحرایی میانسال جلوگیری می‌کند (Wu et al., 2008). مطالعه‌ای دیگر نشان داده که افزایش در بیان ژنی و پروتئین BDNF تنها در شدت پایین (۱۵ متر بر دقیقه) پس از یک وهله دویدن روی نوارگردان رخ می‌دهد؛ در حالی که در شدت‌های بالاتر به دلیل افزایش سطوح کورتیزول خون، سطوح mRNA و نه پروتئین BDNF کاهش می‌یابد (Soya et al., 2007). در مطالعه‌ای دیگر، محققان همسو با نتایج ما نشان داده‌اند که ۸ هفته دویدن تداومی روی نوارگردان با شدت ۱۵-۲۲ متر بر دقیقه منجر به افزایش سطوح پروتئینی BDNF هیپوکمپ در رت‌ها می‌شود (Shahandeh et al., 2013). با هدف مقایسه بین تمرین اجباری شنا به مدت ۶۰ دقیقه و اختیاری روی چرخ گردان برای مدت زمان ۶ هفته، نویسندگان نتیجه گرفتند که هر دو مدل تمرینی منجر به افزایش معنی‌دار BDNF و TrkB در هیپوکمپ رت‌های ویستار می‌شود و بین دو مدل تمرینی هیچ تفاوت

معنی داری وجود ندارد (Alomari et al., 2013). با استناد به شواهدی که وجود دارد در کل ورزش تقریباً از هر نوع و شدتی منجر به افزایش سطوح BDNF هیپوکمپ می شود. اما شدت های پایین تر تغییرات برجسته تری را نشان می دهند. با مطالعات حیوانی، شواهدی در خصوص مکانیسم های متنوعی که بوسیله آن ها BDNF از طریق ورزش افزایش می یابد، فراهم شده است. دقیق ترین مکانیسم تاثیرگذار بر تقویت حافظه و یادگیری وابسته به BDNF افزایش رهایش انتقال دهنده های عصبی پیش سیناپسی و تنظیم افزایشی گیرنده های پپس سیناپسی ان متیل دی آسپاراتات (NMDA) و آلفا آمینو ۳ هیدروکسی ۵ متیل ۴ ایزوکسازول پروپیونیک اسید (AMPA) و راه اندازی مسیرهای پایین دست آن هاست، که همگی در تقویت بلند مدت حافظه نقش دارند (Vaynman et al., 2004).

علاوه بر این از منظر تغییرات ساختاری طولانی مدت به نظرمی رسد ورزش می تواند از طریق ارتقای BDNF هیپوکمپی زوال هیپوکمپ و کارآیی کاهش یافته شبکه هیپوکمپی را در حیوانات بیمار، مسن و یا آسیب دیده؛ معکوس کند. در این راستا جئونگ و همکاران (۲۰۱۴) به اثر ۲۸ روز دویدن روی نوار گردان با مدت های بررسی ۱۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه و با شدت ۸ متر بر دقیقه برای ۵ روز در هفته روی رت های با اختلال نقص توجه بیش فعالی (ADH) پرداخته اند. این محققان نشان داده اند که هر چه مدت دویدن در روز بیشتر می شود، بیان هر دوی او TRKB و BDNF افزایش می یابد و توانایی یادگیری فضایی با افزایش این متغیرها بهبود می یابد (Jeong et al., 2014). در واقع ۲۸ روز دویدن متوالی ۳۰ دقیقه ای در روز میزان تکثیر سلولی و مقادیر BDNF و TrKB را در هیپوکمپ رت های آلزایمری شده افزایش داد و منجر به ارتقای توانایی یادگیری فضایی در رت ها شد (Sim, 2014).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج پژوهش می توان نتیجه گرفت که تمرینات تناوبی به ویژه همراه با آویشن می تواند همچنین در بهبود سطوح گلوکز به واسطه تأثیر مؤلفه های ژنی مؤثر در رهایی گلوکز کبدی و در بیماران دیابتی نوع دو مؤثر بوده و آویشن هم به دلیل داشتن ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی جایگزینی خوب برای نقش گلوکز و نیز نقش های متعدد آنتی اکسیدانی و ضد التهابی و غیره است و موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات ها به ویژه گلوکز تنظیم متابولیسم لیپید کاهش هیپرگلیسمی و دیس لیپیدمی و کاهش مقاومت به انسولین می شود. همچنین آویشن از استرس اکسیداتیو و پاسخ های التهابی افراد دیابتی نوع دو که دیابت مرتبط با ورزش و معمولاً همراه با

اضافه وزن و چاقی نیز است ممانعت می کند اما مصرف آویشن به تنهایی نمی تواند در این زمینه ها و تغییرات ژن های آپوپتوزی و آنتی آپوپتوزی مؤثر باشد؛ بلکه استفاده از برنامه های تمرینی ورزشی هوازی از نوع تمرینات تناوبی می تواند اثر بخشی آن را بهبود بخشد؛ با وجود این انجام دادن مطالعات بیشتر و تکمیلی در این زمینه ضروری است. در نهایت با توجه به پژوهش های پیرامون این موضوع می توان گفت تمرین تناوبی شدید منجر به جلوگیری از آپوپتوز در موش های دیابتی می شود و می تواند روند تحلیل سلولی عصبی و دیگر عوارض را به تاخیر اندازد. با توجه به تمامی موارد فوق و بررسی های صورت گرفته، تمرین تناوبی شدید اثر معنی داری بر بیان ژن BDNF دارد و می تواند از تحلیل بافت هیپوکامپ که بر اثر دیابت اتفاق می افتد، جلوگیری کند. گروه های دیابتی که تحت تاثیر تمرین تناوبی شدید قرار گرفتند دچار افزایش عوامل نورونزایی شده و این عامل احتمالاً از اثرات سازگاری تمرین تناوبی شدید در کاهش عوامل آپوپتوزی است. همچنین تمرین تناوبی شدید بر حفظ میزان آمادگی جسمانی افراد دیابتی مؤثر است. میزان ترشح انسولین در دیابت تمرین تناوبی شدید نسبت به گروه دیابتی بهبود داشته است. میزان بیان α -TNF که عاملی پیش التهابی و آپوپتوزی است نیز در اثر تمرین تناوبی شدید، کاهش یافته است. با این حال پژوهش های بسیاری لازم است تا نتایج فوق را در افراد دیابتی به اثبات برساند. با کاهش عواملی همچون، استرس اکسیداتیو، التهاب و همچنین افزایش ترشح نوروتروفین ها و نورونزایی، می توان به آثار سودمند فعالیت ورزشی در ساختار و عملکرد مغز، به خصوص هیپوکامپ دیابتی که در معرض آسیب است، دست یافت. استفاده از این نوع تمرین در افراد مبتلا به دیابت برای بهبود عملکرد استفاده شود، اما قبل از شروع، باید افراد از تمرینات سبک شروع کنند تا به سطحی از آمادگی برسند. استفاده از این نوع تمرین در افراد مبتلا به دیابت برای بهبود عملکرد استفاده شود.