

## Original Article

**The effect of high-intensity interval swimming training on CREB and ERK proteins of hippocampus tissue in elderly rats**Zahra Sabri<sup>✉</sup>, Mozghan Ahmadi\*<sup>✉</sup>

Department of Physical Education and Sport Science Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Abstract**

**Background and Purpose:** Cognitive impairment caused by aging has become one of the most common health threats in many countries. Signaling pathways are important moderators of various physiological and pathological processes, and abnormal activation of some signaling pathways can play a role in disease progression in old age. Targets of intracellular signaling in response to exercise have been extensively studied as a measure of cellular processes that occur following specific conditions. It has been found that exercise training increases neurogenesis through the induction of neural factors in the hippocampus, which is associated with improved cognitive performance. Since long-term training can improve the age-related impairment in hippocampal neurogenesis, the aim of this study was to evaluate the effect of high-intensity interval swimming training on cAMP-response element binding protein (CREB) and Extra-cellular signal-regulated protein kinases (ERK) proteins of hippocampus tissue in elderly rats. **Materials and Methods:** In this experimental study, 12 aged male Sprague-Dawley rats (20 months old and average weight 300-450 gr) were placed into two control groups (n= 6 rats) and high-intensity interval swimming training (n= 6 rats). Rats in the training group performed high-intensity interval training (HIIT), including 14 repetitions of 20 seconds swimming interspersed by 10 seconds rest. The exercise program was carried out for six weeks (three days a week, one day in between). Forty eight hours after the last training session, rats were anesthetized and immediately, by using a surgical blade the skull was split and the brain was carefully removed. The healthy brain was divided into two halves by a surgical blade, and according to the coordinates of the hippocampus, the hippocampal sinus was separated from the limbic system with the help of a clean atlas. The content of CREB and ERK proteins in hippocampal tissue was measured by Western blotting. Data were analyzed using independent t-test at the  $P < 0.05$ .

**Results:** The results showed that the protein content of ERK and CREB in the hippocampus of elderly rats were significantly higher ( $P=0.03$  and  $P=0.001$ , respectively) after six weeks of training than untrained rats.

**Conclusion:** According to the results, HIIT swimming leads to a significant increase in the content of CREB and ERK of the hippocampus tissue in aged rats. Therefore, HIIT swimming might help in improving the factors involved in cognitive ability during aging.

**Keywords:** Interval Training, Aging, Rats, CREB, ERK

**How to cite this article:** Sabri Z, Ahmadi M. The effect of high-intensity interval swimming training on CREB and ERK proteins of hippocampus tissue in elderly rats. *J Sport Exerc Physiol*. 2023;16(2):36-45.

\*Corresponding Author's E-mail: mahmadi@iausr.ac.ir  
<https://doi.org/10.48308/joeppa.2023.103548>

Received: 08/10/2022

Revised: 18/01/2023

Accepted: 29/01/2023



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های ERK و CREB بافت هیپوکمپ در موش‌های صحرایی سالمند

زهرا صبری<sup>۱</sup>، مرگان احمدی<sup>۲\*</sup>

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** اختلال شناختی ناشی از افزایش سن در بسیاری از کشورها به یکی از شایع‌ترین تهدیدهای سلامتی تبدیل شده است. مسیرهای پیام‌رسانی، تعدیل‌کننده‌های مهم انواع فرایندهای فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی اند و فعال شدن غیرطبیعی برخی از مسیرهای پیام‌رسانی می‌تواند در پیشرفت بیماری در سنین بالا نقش داشته باشد. اهداف پیام‌رسانی درون سلولی در پاسخ به تمرین به عنوان معیاری برای فرایندهای سلولی که در پی شرایط خاص رخ می‌دهند، به شدت بررسی شده است. مشخص شده است که تمرین موجب افزایش نورونز از طریق القای عوامل عصبی در هیپوکمپ می‌شود که با بهبود عملکرد شناختی همراه است. از آنجایی که تمرین بلندمدت می‌تواند اختلال ناشی از افزایش سن در نورونز هیپوکمپ را بهبود بخشد، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های ERK و CREB بافت هیپوکمپ در موش‌های صحرایی سالمند انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ‌داولی سالمند (۲۰ ماه سن و میانگین وزن ۳۰-۴۵ گرم) در دو گروه کنترل (شش سر موش) و تمرین تناوبی شنا با شدت بالا (شش سر موش) قرار گرفتند. موش‌های صحرایی گروه تمرین، تمرین تناوبی شنا با شدت بالا (HIIT)، شامل ۱۴ نوبت ۲۰ ثانیه‌ای شنا با ۱۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. برنامه ورزشی به مدت شش هفته (سه روز در هفته یک روز در میان) انجام گرفت. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی بی‌هوش شدند و بلافاصله با استفاده از تیغ جراحی جمجمه شکافته شده و مغز با احتیاط خارج شد. مغز سالم توسط تیغ جراحی دقیقاً از وسط به دو نیم تقسیم شد و با توجه به مختصات هیپوکمپ به کمک اطلس پاک سینوس هیپوکمپ از دستگاه لمبیک جدا شد. محتوای پروتئین متصل‌شونده به عنصر پاسخگو به cAMP (CREB) و کیناز تنظیم‌شده با پیام خارج سلولی ۱ و ۲ (ERK1/2) بافت هیپوکمپ به روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تی مستقل در سطح معناداری  $P < 0.05$  تجزیه و تحلیل شدند.

**نتایج:** نتایج نشان داد محتوای پروتئین ERK و CREB هیپوکمپ موش‌های صحرایی سالمند پس از شش هفته تمرین به طور معناداری (به ترتیب  $P = 0.03$  و  $P = 0.001$ ) بیشتر از موش‌های صحرایی تمرین‌نکرده بود. **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج، تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا به افزایش معنادار محتوای پروتئین متصل‌شونده به عنصر پاسخگو به cAMP و کیناز تنظیم‌شده با پیام خارج سلولی ۱ و ۲ بافت هیپوکمپ در موش‌های صحرایی سالمند منجر می‌شود. بنابراین شاید تمرینات تناوبی با شدت بالا بتواند به بهبود عوامل درگیر در توانایی شناختی طی سالمندی کمک کند.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین تناوبی، سالمندی، موش‌های صحرایی، CREB، ERK

**نحوه استناد به این مقاله:** صبری ز، احمدی م. تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های CREB و ERK بافت هیپوکمپ در موش‌های صحرایی سالمند. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۲؛ ۱۶(۲): ۳۶-۴۵.

\* رایانامه نویسنده مسئول: mahmadi@iausr.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۹

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۶

## مقدمه

با میتوزن (MAPK) است که بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی از جمله رشد، تمایز، مرگ سلولی (آپوپتوز) و بقای سلول‌ها را طی تکامل عصبی تنظیم می‌کند (۱۳). در دستگاه عصبی، ERK1/2 شکل‌پذیری سیناپسی، رشد و ترمیم مغز و همچنین شکل‌گیری حافظه را تنظیم می‌کند (۱۴). تغییرات مرتبط با سن در بیان و فعال‌سازی ERK1/2 مشاهده شده است. سانگ و همکاران (۲۰۰۷) افزایش ERK1/2 را در هیپوکامپ در حیوانات ۲۴ ماهه گزارش کردند (۱۵).

مشخص شده است که ورزش موجب افزایش نوروزن از طریق القای عوامل عصبی در هیپوکامپ می‌شود که با بهبود عملکرد شناختی همراه است (۱۶). فعالیت بدنی می‌تواند نوروزن هیپوکامپ و عملکرد سلول‌های عصبی را تنظیم کند. ورزش طولانی مدت می‌تواند اختلال ناشی از افزایش سن در نوروزن هیپوکامپ را بهبود بخشد (۱۷). یانگ و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که نوروزن هیپوکامپ تا نه ماهگی موش‌ها به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد. آن‌ها همچنین دریافتند که پنج هفته دویدن روی نوار گردان می‌تواند کاهش تعداد سلول‌های بنیادی/پیش‌ساز عصبی را در دوران پیری کاهش و بلوغ سلول‌های عصبی تازه متولدشده را افزایش دهد (۱۷). گزارش شده است که ورزش موجب فعال شدن نورون‌ها در مناطق گوناگون مغز، به‌ویژه هیپوکامپ می‌شود. این فعال‌سازی هیپوکامپ ناشی از ورزش با مزایای ناشی از ورزش در عملکردهای حافظه وابسته به هیپوکامپ مرتبط است (۱۸). افزون‌بر این، افزایش فسفوریلاسیون CREB هیپوکامپ با فعال شدن هیپوکامپ در حین ورزش همراه است (۱۸، ۱۹). با این همه، کاهش فسفوریلاسیون ERK1/2 در افراد مسن پس از یک دورهٔ حاد تمرین مقاومتی مشاهده شد (۲۰).

اختلال شناختی ناشی از افزایش سن در بسیاری از کشورها به یکی از شایع‌ترین تهدیدهای سلامتی تبدیل شده است. اهداف مسیرهای پیام‌رسانی، تعدیل‌کننده‌های مهم انواع فرایندهای فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی‌اند و فعال شدن غیرطبیعی برخی از مسیرهای پیام‌رسانی می‌تواند در پیشرفت بیماری در شرایط گوناگون نقش داشته باشد. در نتیجه، پاسخ این مسیرهای پیام‌رسانی به فعالیت ورزشی به‌عنوان یک ابزار مهم پدیدار شده‌اند که از طریق آن‌ها می‌توان وقوع و توسعهٔ بیماری‌ها را بررسی کرد که ممکن است به شناسایی

بهبود مراقبت‌های پزشکی و کاهش نرخ باروری به پیری جمعیت در سراسر جهان منجر می‌شود. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، پیش‌بینی می‌شود شمار افراد ۶۵ سال به بالا از ۵۲۴ میلیون نفر در سال ۲۰۱۰ به ۱/۵ میلیارد نفر در سال ۲۰۵۰ برسد که ۱۶ درصد از جمعیت جهان را تشکیل می‌دهند. پیری با از دست دادن حجم کلی مغز در انسان و حیوانات و در نتیجه کاهش عملکرد شناختی همراه است (۱، ۲). کاهش شناختی مربوط به سن با کاهش حجم و آتروفی دندریتیک در مناطق درگیر در توانایی‌های شناختی گزارش شده است (۳). باور بر این است که در حیوانات مسن، کاهش تحریک‌پذیری ذاتی نورون‌های هرمی هیپوکامپ به اختلالات شناختی مربوط به سن کمک می‌کند (۴).

نشان داده شده است که افزایش فعالیت عامل رونویسی پروتئین متصل‌شونده به عنصر پاسخگو به cAMP (CREB) موجب تسهیل شناختی و افزایش تحریک‌پذیری ذاتی سلول‌های عصبی در سنین بالا می‌شود (۵). CREB یک عامل رونویسی هسته‌ای است که در همهٔ سلول‌های مغز بیان می‌شود و در بقای عصبی، تثبیت حافظه و حفاظت عصبی در برابر آسیب ایسکمیک نقش دارد (۶). نقش CREB در تنظیم انواع عملکردهای زیستی مغز، مانند شکل‌پذیری سیناپسی و توسعهٔ عصبی نیز ثابت شده است. CREB تراکم سیناپس و پیچیدگی دندریت و نوروزن و نیز بیان پروتئین‌های سیناپسی را افزایش می‌دهد (۷). تحقیقات نشان داده‌اند که بیان CREB به تدریج با افزایش سن در هیپوکامپ و قشر پیش‌پیشانی کاهش می‌یابد و می‌تواند به نقایص شناختی منجر شود (۸، ۹). از طرفی، حذف CREB به انحطاط عصبی در هیپوکامپ منجر می‌شود که به پاتوزن بیماری‌های عصبی کمک می‌کند (۱۰). فعالیت رونویسی CREB به انواع نشانه‌های بالادست پاسخ می‌دهد و توسط کوفاکتورهای سلولی یا فعال‌کننده‌های رونویسی بیشتر تغییر می‌کند (۱۱). CREB توسط پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن/کیناز تنظیم‌شده با پیام خارج سلولی (MAPK/ERK) در ناحیهٔ SER 133 از طریق کیناز ریبوزومی S6 فسفریله می‌شود. فسفوریلاسیون CREB زمانی اتفاق می‌افتد که کیناز تنظیم‌شده با پیام خارج سلولی ۱ و ۲ (ERK1/2) به هسته منتقل می‌شود تا CREB کینازها را فسفریله کند (۱۲). ERK1/2 از اعضای خانوادهٔ پروتئین کیناز فعال شده

پزشکی شیراز در قفس از جنس پلی کربنات (هر قفس سه سر) در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای  $23 \pm 1$  درجه سانتی گراد، رطوبت 50-55 درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲/۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش های صحرایی آزادانه و استاندارد ویژه حیوانات آزمایشگاهی از غذای ویژه حیوانات آزمایشگاهی که از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد، استفاده کردند. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری 500 میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن ها قرار داده شد. در این پژوهش اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا و شرایط نگهداری مناسب مدنظر قرار گرفت. همه آزمایش ها بر اساس خط مشی های قرارداد هلسینکی اجرا شد.

**روش اجرای پژوهش:** در پژوهش حاضر، همه موش های صحرایی به مدت یک هفته مرحله آشنایی با استخر حیوانات (قطر 160 سانتی متر و ارتفاع 80 سانتی متر) را پیش از شروع تمرین اصلی گذراندند. در روز اول آشنایی موش ها با استخر، موش های صحرایی با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب 50 سانتی متر و میانگین دمای  $30 \pm 0.5$  درجه سانتی گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت پنج دقیقه شنا کردند. در جلسات بعد که موش های صحرایی به خوبی با استخر حیوانات آشنا شدند، برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، چندین بار پس از یک دقیقه شنا به وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده شدند و دوباره در آب قرار گرفتند. روش تناوبی شنا با شدت بالا: پس از گذشت 48 ساعت از زمان آخرین جلسه آشنایی، رت ها تصادفی به دو گروه کنترل و تمرین تقسیم شدند. موش های صحرایی گروه تمرین، تمرین HIIT شنا، شامل 14 نوبت 20 ثانیه ای شنا با 10 ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. برنامه ورزشی به مدت شش هفته (سه روز در هفته یک روز در میان) انجام گرفت. در تمرین تناوبی بار اعمال شده در هفته اول، وزنه ای به میزان 9 درصد وزن بدن هر موش بود و هر هفته 1 درصد به آن اضافه شد، به طوری که در هفته آخر (ششم) موش های صحرایی با وزنه ای به میزان 14 درصد وزن بدن خود که به ریشه دم آن ها بسته شد، شنا کردند (26) (جدول 1).

راهبردهای درمانی جدید منجر شود. از آنجایی که تمرین با شدت بالا می تواند تأثیر بیشتری بر مغز داشته باشد و رابطه مثبتی بین شدت ورزش و سازگاری مغز با تمرین وجود دارد (21,22)، تحقیقات بر لزوم تمرین با شدت بالا در افراد مسن تأکید می کنند، تمرین تناوبی با شدت بالا این امکان را به افراد سالمند می دهد که با زمان کمتر و شدت بیشتر به فعالیت بپردازند و نیز امکان استراحت و بازیابی بین وهله های تمرین را داشته باشند (23,24). افزون بر این، این نوع تمرینات نقش مهمی در رشد و بلوغ دستگاه عصبی مرکزی دارد (25). بنابراین یافته ها این فرضیه را ارائه می کند که تمرین با شدت بالا ممکن است راهبردی بهینه برای تقویت عملکرد شناختی در بزرگسالان مسن تر ارائه کند. اختلال در مسیر CREB و ERK با چندین بیماری انسانی مانند بیماری دستگاه عصبی مرکزی مرتبط است. با توجه به اهمیت CREB و ERK در گستره وسیعی از فرایندهای زیستی در بیماری دستگاه عصبی مرکزی (CNS) درک بهتر تغییرات این پروتئین ها ممکن است به شناسایی اهداف جدید برای کاربردهای درمانی در سنین بالا کمک کند. از این رو در این پژوهش تأثیر تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر محتوای پروتئین های CREB و ERK بافت هیپوکمپ در موش های صحرایی سالمند بررسی شد.

### روش پژوهش

پژوهش حاضر، تحقیق تجربی است که با توجه به سیاست های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی های قرارداد هلسینکی) و تأیید کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی بررسی شده و با شناسه IR.SSRC.REC.1401.007 به تصویب رسیده است.

**نمونه های پژوهش:** در این تحقیق 12 سر موش صحرایی نر 20 ماهه پیر نژاد اسپراگ داوولی با دامنه وزنی 300-450 گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و جهت سازگاری به مدت یک هفته در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی نگهداری شدند. در ادامه موش های صحرایی سالمند به طور تصادفی به گروه های کنترل (شش سر موش) و تمرین تناوبی شنا با شدت بالا (شش سر موش) تقسیم شدند. موش های صحرایی در حیوانخانه دانشگاه علوم

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده به منظور همسان سازی ژن ها

تعداد (نوبت)	مدت (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان بار (درصد وزن بدن)
۱۴	۲۰	۱۰	۹
۱۴	۲۰	۱۰	۱۰
۱۴	۲۰	۱۰	۱۱
۱۴	۲۰	۱۰	۱۲
۱۴	۲۰	۱۰	۱۳
۱۴	۲۰	۱۰	۱۴

روش های آزمایشگاهی: برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای کنترل نشدنی فشار آزمودنی ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، پس از ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳-۵ kg/mg) و زایلازین (۳-۵ kg/mg) بی هوش شدند. بلافاصله با استفاده از تیغ جراحی مجموعه شکافته شده و مغز با احتیاط خارج شد. مغز سالم توسط تیغ جراحی دقیقاً از وسط به دو نیم تقسیم شده و با توجه به مختصات هیپوکمپ به کمک اطلس پاک سینوس هیپوکمپ از دستگاه لمبیک جدا شد و به داخل تانک ازت مایع به مدت ۱۵-۳۰ ثانیه ثابت شد. هیپوکمپ ها، تا شروع آزمایش وسترن بلات در دمای ۸۰- نگهداری شد. ابتدا وزن خالص بافت به وسیله ترازوی دیجیتال (AG245) محاسبه شد و به میزان ۳ تا ۵ برابر وزن، به آن بافر رپیا اضافه شد. پس از هموژن کردن بافت ها، میکروتیوب های حاوی بافت هموژن شده با دور ۱۴۰۰ در دمای ۴ درجه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای اندازه گیری غلظت پروتئین نمونه ها از محلول برادفورد ویژه سنجش پروتئین استفاده شد. استاندارد مورد نظر BSA بود که با غلظت ۴،۰/۴ و ۴۰ میلی گرم در میلی لیتر استفاده شد. برای الکتروفورز پروتئین ها روی ژل SDS-PAGE، مقدار ۴۰ میکروگرم از هر نمونه استفاده شد. الکتروفورز در رانینگ بافر با ولتاژ ثابت ۱۰۰ انجام گرفت. برای معلوم شدن جایگاه پروتئین ها بر اساس وزن مولکولی روی SDS-PAGE و کاغذ PVDF، از نشانگر پروتئینی استفاده شد. برای شست و شوی مواد اضافی محلول بلاکینگ از روی کاغذ، از محلول TBS-T-

۲۰-Tween استفاده شد. پس از شست و شو، کاغذ PVDF در محلول حاوی آنتی بادی اولیه مورد نظر غوطه ور شد. پس از این مرحله، از آنتی بادی ثانویه مناسب IgG-HRP استفاده شد. سپس با استفاده از کیت ECL، به میزان لازم سوبسترای پراکسیداز روی کاغذ PVDF اضافه شد تا همه آن به سوبسترا آغشته شد. برای اطمینان از یکسانی غلظت نمونه های لود شده، میزان پروتئین  $\beta$ -Actin بررسی شد. در نهایت با استفاده از دستگاه اسکنر، تصاویر دیجیتالی فیلم ها تهیه شد. تصویر باندهای ثبت شده بر روی فیلم با استفاده از نرم افزار Imag.J به لحاظ دانسیته بررسی شدند (۲۷).

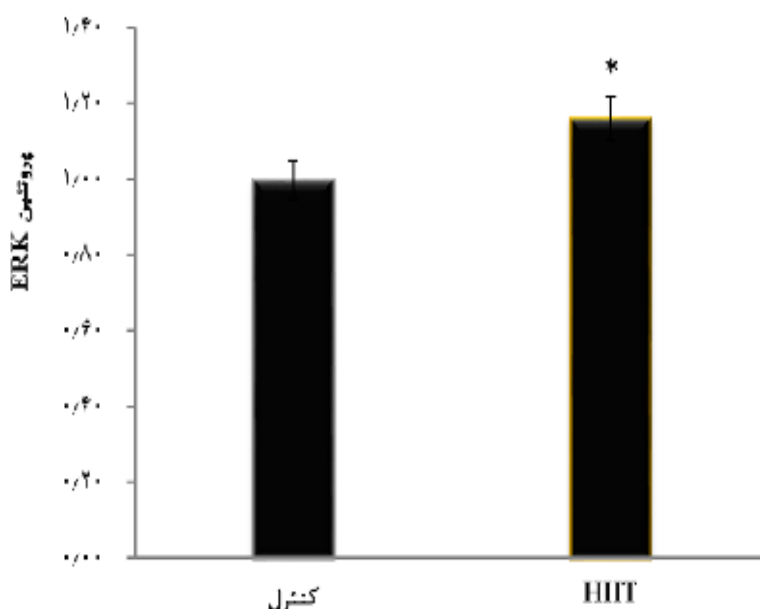
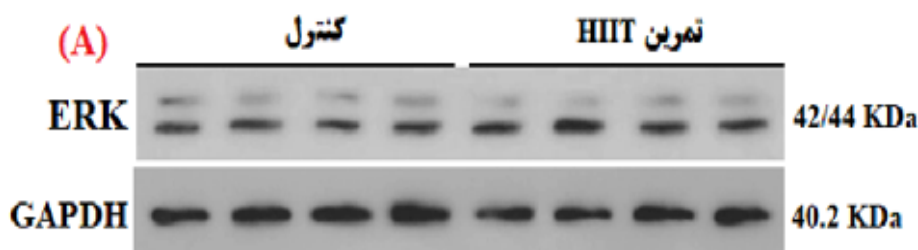
**تحلیل آماری:** برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. پس از تأیید وضعیت طبیعی داده ها، تفاوت بین گروهی با استفاده از آزمون تی مستقل بررسی شد. سطح معناداری در همه موارد  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شد. همه عملیات آماری با نرم افزارهای SPSS نسخه ۲۵ به اجرا درآمد.

### نتایج

وزن موش های صحرایی در پیش آزمون و پس آزمون گروه ها در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که میانگین محتوای پروتئین ERK در گروه تمرین HIIT، ۱/۱۶ و میانگین محتوای پروتئین ERK در گروه کنترل ۱/۰۰ است. بر اساس مقدار t به دست آمده (۲/۴۸) محتوی پروتئین ERK هیپوکمپ موش های صحرایی سالمند پس از شش هفته تمرین به طور معناداری ( $P=0.03$ ) بیشتر از موش های صحرایی گروه کنترل بود (شکل ۱).

جدول ۲. سطوح وزن موش های صحرائی در پیش آزمون و پس آزمون گروه ها

گروه	پیش آزمون	پس آزمون
کنترل	۴۱۰/۲ ± ۳/۵۶	۴۱۹/۷ ± ۳/۵۳
تمرین	۴۱۲/۰ ± ۳/۳۶	۴۰۱/۰ ± ۲/۸۲

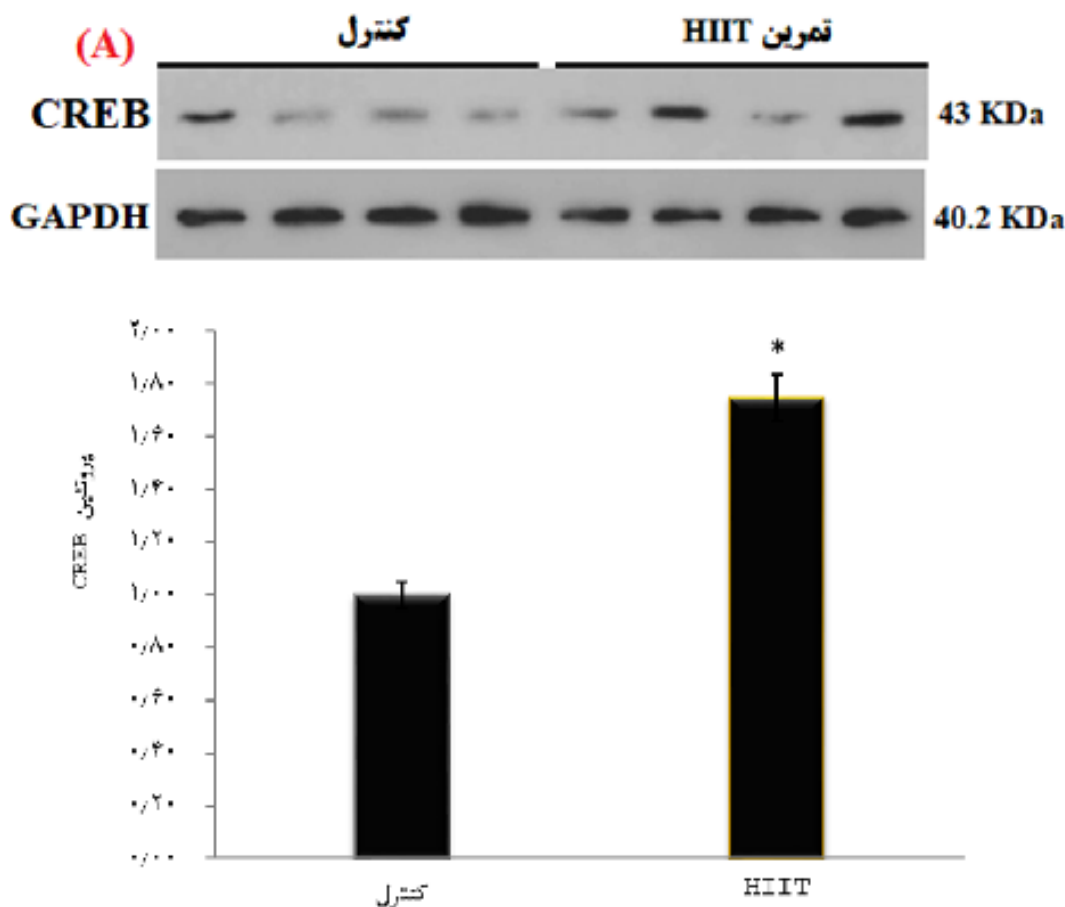


شکل ۱. مقایسه محتوای پروتئین ERK در گروه های مورد بررسی؛ (A). تصاویر وسترن بلات محتوی پروتئین ERK و پروتئین بتا-اکتین ( $\beta$ -actin) به عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت هیپوکمپ مغز؛ (B). نمودار ستونی (میانگین و انحراف استاندارد) نشان دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین ERK در مقابل بتا-اکتین (کنترل داخلی). \* تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل ( $P \leq 0/05$ ).

### بحث و نتیجه گیری

یافته های تحقیق حاضر نشان می دهد که شش هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا به افزایش معنادار در محتوای پروتئین CREB و ERK بافت هیپوکمپ در موش های صحرائی سالمند منجر شد. این یافته ها با برخی نتایج پیشین نشان دهنده افزایش ERK و CREB ناشی از تمرین همسوست (۱۹-۲۸، ۳۰). افزایش سن با کاهش عملکرد شناختی همراه است. هیپوکامپ به طور چشمگیری در برابر پیری آسیب پذیر است و در ایجاد

همچنین نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که میانگین محتوای پروتئین CREB در گروه تمرین HIIT، ۱/۷۵ و میانگین پروتئین CREB در گروه کنترل ۱/۰۰ است. بر اساس مقدار t به دست آمده (۸/۰۹) محتوی پروتئین CREB هیپوکمپ موش های صحرائی سالمند پس از شش هفته تمرین به طور معناداری ( $P = 0/001$ ) بیشتر از موش های صحرائی گروه کنترل بود (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه محتوای پروتئین CREB در گروه‌های مورد بررسی؛ (A). تصاویر وسترن بلات محتوی پروتئین CREB و پروتئین بتا-اکتین ( $\beta$ -actin) به عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت هیپوکامپ. (B). نمودار ستونی (میانگین و انحراف استاندارد) نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین CREB در مقابل بتا-اکتین (کنترل داخلی). \* تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل ( $P \leq 0.05$ ).

و محیط رشد برای سلول‌های پیش‌ساز عصبی در شکنج دندان‌دار هیپوکامپ را فراهم می‌کند. تمرینات ورزشی مسئول فعال کردن عوامل رونویسی است. از این منظر، پیام‌رسانی CREB در هیپوکامپ پس از روش‌های تمرین ورزشی در شدت‌های گوناگون افزایش می‌یابد. یافته‌ها نشان‌دهنده بیان این اجزای سلولی است که نقش مهمی در رشد و بلوغ دستگاه عصبی مرکزی دارد (۲۵). بنابراین بیان شده است که افزایش این عوامل ممکن است در افزایش بقای عصبی، شکل‌پذیری سیناپسی، عملکرد شناختی و نوروزن دخیل باشد (۳۳). پاسخ‌های جریان خون بیشتر و نوسانات در میزان سوخت‌وسازی در پاسخ به تمرین ورزشی در شدت بالا ممکن است به تغییرات بیشتر در عملکرد عروق مغزی منجر شده باشد و این تأثیرات مفید می‌تواند به بهبود مطلوب در عوامل درگیر در عملکرد شناختی منجر شود (۳۴). افزایش بیان ERK در مغز موجب ایجاد یک

نقایص مرتبط با افزایش سن در عملکردهای عصبی نقش دارد. نقص در عملکردهای عصبی مرتبط با افزایش سن با تغییرات ساختاری و عملکردی غیرطبیعی در هیپوکامپ همراه است. افزایش سن موجب کاهش اندازه هیپوکامپ و کاهش نورون‌های هیپوکامپ می‌شود. فعال شدن CREB موجب افزایش تکثیر و زنده ماندن سلول‌های عصبی و تقویت آن، تمایز و بلوغ نورون‌ها در هیپوکامپ موش می‌شود (۳۱). فعالیت رونویسی CREB به انواع نشانه‌های بالادست پاسخ می‌دهد و توسط کوفاکتورهای سلولی یا فعال‌کننده‌های رونویسی بیشتر تغییر می‌کند (۱۱). یافته‌ها نشان می‌دهد که CREB در محیط‌های کشت عصبی با تحریک گیرنده‌های NMDA فعال می‌شود (۳۲). بنابراین ساده‌ترین توضیح یافته‌های ما این است که پس از دوره تمرینات، CREB از طریق رویدادهای وابسته به گیرنده NMDA فعال می‌شود. تنظیم CREB بقای عصبی را افزایش می‌دهد

تأثیرات خود را بر هسته، در سلول ها طی پیری نشان می دهد، می تواند به کاهش تکثیر سلولی و سنتز DNA منجر شود. MAPK فسفاتاز می تواند به افزایش مهار فسفوریلاسیون ERK 1/2 در هسته کمک کند و بر انتقال ERK 1/2 به داخل و خارج از هسته تأثیر بگذارد (۲۰). تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا از نقاط قوت پژوهش حاضر بود، چراکه این نوع تمرین پاسخ ها و سازگاری های متفاوتی نسبت به برنامه های تمرینی دیگر می تواند به همراه داشته باشد. محدودیت هایی نیز در پژوهش حاضر وجود داشت که از جمله می توان به عدم اندازه گیری میزان NMDA اشاره کرد. با توجه به ارتباط شاخص های نوروتروفیک با عوامل درگیر در توانایی های شناختی پیشنهاد می شود در پژوهشی مشابه شاخص های نوروتروفیک در بافت هیپوکمپ آزمودنی های سالمند نیز بررسی شود. به هر حال پژوهش های بیشتری در این زمینه مورد نیاز است. به طور خلاصه نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا به افزایش معنادار در محتوای پروتئین CREB و ERK بافت هیپوکمپ در موش های صحرایی سالمند منجر می شود. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، شاید تمرینات تناوبی با شدت بالا بتواند به بهبود عوامل درگیر در توانایی شناختی طی سالمندی کمک کند.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی افرادی که در انجام پژوهش حاضر همکاری داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

#### حامی / حامیان مالی

پژوهش حاضر بدون بهره گیری از منابع مالی هر سازمان و نهادی به انجام رسیده است.

#### مشارکت نویسندگان

نویسنده اول دانشجو و نویسنده دوم استاد راهنمای پژوهش هستند.

#### تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

#### منابع

1. Raz N, Ghisletta P, Rodrigue KM, Kennedy KM, Lindenberger U. Trajectories of brain aging in middle-aged and older adults: regional and individual differences. *Neuroimage* 2010;51: 501–511.

آبشار پیام رسانی پایین دست از جمله CREB و BDNF می شود که بازخورد مثبت ایجاد می کند. BDNF/TrkB فسفوریلاسیون CREB تنظیم شده توسط ERK را فعال می کند (۳۵). آبشار پیام رسان ERK-CREB نقش مهمی در عملکردهای عصبی دارد (۳۶). سازوکار دقیق تأثیر تمرین بر پروتئین ERK هنوز به درستی شناخته نشده است. ERK1/2 از طریق تنظیم بازخورد مثبت و منفی سایر اجزای شبکه پیام رسانی MAPK فعال می شود، همچنین چندین عامل از جمله هورمون ها، عوامل رشدی و گونه های واکنش پذیر اکسیژن به عنوان فعال کننده ERK ناشی از تمرین معرفی شده اند (۳۷). شاید افزایش مشاهده شده در ERK1/2 بافت هیپوکمپ در موش های صحرایی سالمند با این سازگاری ها مرتبط بوده و نشان دهنده بهبود عملکرد عصبی در نمونه های سالمند باشد. بر اساس دانش ما، پژوهش حاضر اولین پژوهش برای تجزیه و تحلیل پاسخ عوامل شناختی در مغز نمونه های سالمند پس از تمرینات تناوبی با شدت بالاست. تمرینات تناوبی با شدت بالا مزایای همزمان بسیاری برای بافت ها و دستگاه های بدن به همراه دارند (۳۸، ۳۹). این نوع تمرینات راهبردی ایمن و کارآمد برای بهبود عملکرد عصبی از طریق تمرینات مکرر با شدت بالا به شمار می روند که با دوره های بازیابی همراه اند (۴۰). تمرینات تناوبی با شدت بالا به بهبود شاخص های شناختی در تحقیق حاضر منجر شد. این نتایج از آنجا که اهمیت تجویز ورزش برای افراد مسن را تقویت و اهمیت تداوم در اجرای برنامه های ورزشی را برجسته می کند، اهمیت زیادی دارد. بنابراین هیچ محدودیتی در تجویز ورزش برای افراد مسن وجود ندارد و به نظر می رسد اتخاذ راهبردهایی برای تحریک پایبندی و تداوم طولانی مدت و منظم برنامه ورزش در سنین بالا مهم است. با این همه، مخالف با یافته های تحقیق حاضر، در پژوهشی کاهش فسفوریلاسیون و عدم تغییر بیان ERK1/2 در عضله اسکلتی افراد سالمند پس از یک دوره تمرین مقاومتی حاد گزارش شد (۲۰). همچنین در تحقیق دیگری، هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط موجب کاهش مقدار ERK1/2 بافت قلب موش های صحرایی نروبیستار میانسال شد (۳۶). با توجه به نوع آزمودنی ها، روش تمرین و نوع بافت مورد بررسی می توان تناقض با پژوهش های مذکور را توجیه کرد. کاهش پیام های سلولی ERK 1/2 که



2. Driscoll I, Howard SR, Stone JC, Monfils MH, Tomanek B, Brooks WM, Sutherland RJ. The aging hippocampus: a multi-level analysis in the rat. *Neuroscience* 2006;139: 1173–1185.
3. Dickstein DL, Weaver CM, Luebke JI, Hof PR. Dendritic spine changes associated with normal aging. *Neuroscience* 2013;251:21–32.
4. Yu XW, Curlik DM, Oh MM, Yin JC, Distenhof JF. CREB overexpression in dorsal CA1 ameliorates long-term memory deficits in aged rats. *Elife*. 2017;6:e19358.
5. Viosca J, Malleret G, Bourtchouladze R, Benito E, Vronskava S, Kandel ER, et al. Chronic enhancement of CREB activity in the hippocampus interferes with the retrieval of spatial information. *Learn Mem*. 2009;16(3):198–209.
6. Impey S, McCorkle SR, Cha-Molstad H, Dwyer JM, Yochum GS, Boss JM, et al. Defining the CREB regulon: a genome-wide analysis of transcription factor regulatory regions. *Cell*. 2004;119:1041–1054.
7. Steven A, Seliger B. Control of CREB expression in tumors: from molecular mechanisms and signal transduction pathways to therapeutic target. *Oncotarget*. 2016;7(23):35454–65.
8. Kudo K, Wati H, Qiao C, Arita J, Kanba S. Age-related disturbance of memory and CREB phosphorylation in CA1 area of hippocampus of rats. *Brain Research* 2005;1054: 30–37
9. Saura CA, Valero J. The role of CREB signaling in Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Journal of Neuroscience* 2011;22:153–169
10. Wang, H, Quirion R, Little PJ, Cheng Y, Feng ZP, Sun HS, et al. Forkhead box O transcription factors as possible mediators in the development of major depression. *Neuropharmacology* 2015;99:527–537.
11. Altarejos JY, Montminy M. CREB and the CRTC co-activators: sensors for hormonal and metabolic signals. *nature reviews molecular cell biology* 2011;12(3):141–51.
12. Sakamoto K, Karelina K, Obrietan K. CREB: a multifaceted regulator of neuronal plasticity and protection. *Journal of neurochemistry* 2011;116:1–9.
13. Satoh Y, Kobayashi Y, Takeuchi A, Pagus G, Pouyssegur J, Kazama T. Deletion of ERK1 and ERK2 in the CNS causes cortical abnormalities and neonatal lethality: Erk1 deficiency enhances the impairment of neurogenesis in Erk2-deficient mice *The Journal of neuroscience* 2011;31:1149–1155
14. Sun J, Nan G. The extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway in neurological diseases: A potential therapeutic target (Review). *International journal of molecular medicine* 2017;39(6):1338–1346.
15. Song GY, Kang JS, Lee SY, Myung CS. Region-specific reduction of Gbeta4 expression and induction of the phosphorylation of PKB/Akt and ERK1/2 by aging in rat brain. *Pharmacological research* 2007;56:295–302
16. Brown BM, Peiffer JJ, Martins RN. Multiple effects of physical activity on molecular and cognitive signs of brain aging: can exercise slow neurodegeneration and delay Alzheimer's disease? *Molecular psychiatry* 2013;18(8):864–74.
17. Yang TT, Lo CP, Tsai PS, Wu SY, Wang TF, Chen YW, et al. Aging and exercise affect hippocampal neurogenesis via different mechanisms. *PLoS One* 2015;10: e0132152.
18. Clark PJ, Bhattacharya TK, Miller DS, Rhodes JS. Induction of c-Fos, Zif268 and Arc from acute bouts of voluntary wheel running in new and pre-existing adult mouse hippocampal granule neurons. *Neuroscience* 2011;184: 16–27.
19. Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Running exercise-induced up-regulation of hippocampal brain-derived neurotrophic factor is CREB-dependent. *Hippocampus* 2009;19: 962–972.
20. Williamson D, Gallagher P, Harber M, Hollon C, and Trappe S. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway activation: effects of age and acute exercise on human skeletal muscle. *The Journal of physiology* 2003;547:977–987.
21. Brown BM, Peiffer JJ, Sohrabi HR, Mondal A, Gupta VB, Rainey-Smith S.R, et al. Intense physical activity is associated with cognitive performance in the elderly. *Translational psychiatry* 2012;2:e191.
22. Jimenez-Maldonado A, Renteria I, Garcia-Suarez PC, Moncada-Jimenez J, Freire-Royes LF. The Impact of High-Intensity Interval Training on Brain Derived Neurotrophic Factor in Brain: A Mini-Review. *Front Neurosci* 2018;12:839
23. Gurd BJ, Giles MD, Bonafiglia JT, Raleigh JP, Boyd JC, Ma JK, et al. Incidence of nonresponse and individual patterns of response following sprint interval training. *Applied physiology, nutrition, and metabolism* 2016;41:229–34.
24. de Barbalho M, Gentil P, Izquierdo M, Fisher J, Steele J, Raiol R. There are no

- no-responders to low or high resistance training volumes among older women. *Experimental gerontology* 2017; 99:18–26.
25. Pulimood NS, Rodrigues WDS Junior, Atkinson DA, Mooney SM, Medina AE. The Role of CREB, SRF, and MEF2 in Activity-Dependent Neuronal Plasticity in the Visual Cortex. *J Neurosci.* 2017;37(28):6628-6637.
  26. Amirazodi F, Mehrabi A, Amirazodi M, Parsania S, Rajizadeh MA, Esmaeilpour K. The combination effects of resveratrol and swimming HIIT exercise on novel object recognition and open-field tasks in aged rats. *Experimental aging research* 2020;46(4):336-358.
  27. Braidy N, Poljak A, Grant R, Jayasena T, Mansour H, Chan-Ling T, et al. Differential expression of sirtuins in the aging rat brain. *Frontiers in cellular neuroscience* 2015;9:167.
  28. Lee SS, Kim CJ, Shin MS, Lim BV. Treadmill exercise ameliorates memory impairment through ERK-Akt-CREB-BDNF signaling pathway in cerebral ischemia gerbils. *Journal of exercise rehabilitation* 2020;16(1):49-57.
  29. ZHAO Y. Effects of exercise on ERK-CREB expression in rats with chronic stress. *Chinese Journal of Public Health* 2010;26(7): 848-849.
  30. Dalir T, Gharakhanlou R, Peeri M, Martin Homae H. Effect of 8 weeks aerobic training on SIRT1, CREB and BDNF genes expression in hippocampus of Wistar rats. *The Journal of Sport and Biomotor Sciences* 2018;11(19):11-18. (I n Persian)
  31. Fujioka T, Fujioka A, Duman RS. Activation of cAMP signaling facilitates the morphological maturation of newborn neurons in adult hippocampus. *The Journal of neuroscience* 2004;24:319–328.
  32. Zhu DY, Lau L, Liu SH, Wei JS, Lu YM. Activation of cAMP-response-element-binding protein (CREB) after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004;101(25):9453-9457
  33. Rodriguez-Tornos FM, San Aniceto I, Cubelos B, Nieto M. Enrichment of Conserved Synaptic Activity-Responsive Element in Neuronal Genes Predicts a Coordinated Response of MEF2, CREB and SRF. *PLoS ONE* 2013;8(1):e53848.
  34. Mekari S, Neyedli HF, Fraser S, O'Brien MW, Martins R, Evans K, et al. High-Intensity Interval Training Improves Cognitive Flexibility in Older Adults. *Brain Sciences* 2020; 10(11):796
  35. Whitfield TW, Jr, Shi X, Sun WL, McGinty JF. The suppressive effect of an intra-prefrontal cortical infusion of BDNF on cocaine seeking is Trk receptor and extracellular signal-regulated protein kinase mitogen-activated protein kinase dependent. *The Journal of neuroscience.* 2011;31:834–842.
  36. Lonze BE, Ginty DD. Function and regulation of CREB family transcription factors in the nervous system. *Neuron* 2002;35:605–623.
  37. Baghaiee B, Karimi P, Siahkouhian M, Pescatello L. Moderate aerobic exercise training decreases middle-aged induced pathologic cardiac hypertrophy by improving Klotho expression, MAPK signaling pathway and oxidative stress status in Wistar rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2018;21(9): 911-919.
  38. Jamshidi M, Kordi M, Shabkhiz F. Effect of involuntary and voluntary exercise in an enrichment environment on astrogliosis reaction of hippocampus white matter in type 3 diabetic rat models. *Journal of Sport and Exercise Physiology* 2022; 54-66. (I n Persian)
  39. Rezaei AR, Gaeini, AA, Choobineh S, Nuri R. The effect of six weeks High Intensity Interval Swimming Training and Resveratrol supplementation on the level of SIRT3 in left ventricular heart of aged rats". *Journal of Sport and Exercise Physiology* 2022; 15(3): 25-34. (I n Persian)
  40. Constans A, Pin-Barre C, Molinari F, Temprado JJ, Briocche T, Pellegrino C, et al. High-intensity interval training is superior to moderate intensity training on aerobic capacity in rats: Impact on hippocampal plasticity markers. *Behav Brain Res.* 2021; 398:112977.