

Response of Klotho and PLP proteins to high-intensity interval training in hippocampus and cerebellum tissues of female mice

Masoomeh Alvandi^{1*}, Kia Salimi², Fataneh Farahmand³, Maryam Nourshahi¹

1. Department of Biological Sciences in Sport and Health, Faculty of Sports Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport and Exercise Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

3. Department of Kinesiology, McMaster University, Hamilton, Canada

Abstract

Background and Purpose: Exercise, as a well-known method without the potential side effects associated with pharmacological interventions, has multiple beneficial effects on neurobiological function. Recent studies have shown that exercise increases neurological pathways in the brain and by increasing myelin-forming biomarkers, exercise can improve brain function and health and reduce the risk of neurodegenerative disease. The present study aimed to investigate the effect of 8 weeks of high-intensity interval training (HIIT) on the levels of Klotho (a regulator of remyelination and oligodendrocyte maturation), PLP (proteolipid protein, one of the major myelin proteins) in the hippocampus and cerebellum tissue of mice.

Materials and Methods: Twenty female C57BL/6 mice (6 weeks old with an average weight of 15 ± 2 g) were randomly divided into control (n=10) and exercise (n=10) groups. The exercise group performed five sessions of high-intensity interval training per week for 8 weeks. The protocol initially consisted of, 1) a 5-minute warm-up at an intensity of 30-40 % V_{max} ; 2) two-minute interval repetitions at an intensity of 80-110 % V_{max} and active recovery at an intensity of 30-40 % V_{max} , and 3) a cool-down at an intensity of 30-40% V_{max} . Forty-eight hours after the last training session, Klotho and PLP levels in the hippocampus and cerebellum tissue were evaluated using Western blot technique. Data were analyzed using SPSS statistical software with v21. An independent samples t-test was used to evaluate the difference between Klotho and PLP levels in exercise and control groups. Significance level was accepted at $P \leq 0.05$.

Results: The results of the present study showed that the amount of Klotho in the hippocampus tissue increased in the exercise group ($p < 0.01$), but the concentration of PLP in the hippocampus did not change ($p = 0.4$). In addition, the results showed that, the concentration of Klotho and PLP in cerebellum tissue increased in the exercise group compared with the control group ($p \leq 0.01$, $p \leq 0.05$, respectively).

Conclusion: Our findings showed for the first time that high-intensity interval training increased Klotho in hippocampus tissue. We also showed that this type of training increased Klotho and PLP in cerebellum tissue compared to the control group, and may therefore improve Klotho and PLP levels that typically decline with aging and disease. The current work provides proof of concept that HIIT exercise can be considered a model for increasing brain levels of Klotho and PLP proteins, which has the potential to positively impact brain structure and function.

Keywords: High-Intensity Interval Training, Cerebellum, Hippocampus, Klotho, PLP

How to cite this article: Alvandi M, Salimi K, Farahmand F, Nourshahi M. Response of Klotho and PLP proteins to high-intensity interval training in hippocampus and cerebellum tissues of female mice. J Sport Exerc Physiol. 2025;18(1):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: alvandi20@gmail.com

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2024.237261.1304>

Received: 15/10/2024

Revised: 03/12/2024

Accepted: 15/12/2024

Copyright: © 2025 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/>).

نسخه پیش انتشار

پاسخ پروتئین های کلوتو و PLP به تمرین تناوبی با شدت بالا در بافت های هیپوکامپ و مخچه موش های ماده

معصومه الوندی^{۱*}، کیا سلیمی^۲، فتانه فرهمند^۳، مریم نورشاهی^۱

۱. گروه علوم زیستی ورزش و سلامت، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳. گروه کینزیولوژی، دانشگاه مک مستر، همیلتون، کانادا

چکیده

زمینه و هدف: انجام فعالیت ورزشی به عنوان یک روش شناخته شده و بدون عوارض بالقوه مرتبط با مداخلات دارویی، اثرات مفید متعددی بر عملکرد عصبی زیستی دارد. مطالعات اخیر نشان داده اند که فعالیت ورزشی مسیرهای نورولوژیکی را در مغز افزایش داده و با افزایش بیومارکرهای میلین ساز، می تواند سبب ارتقای عملکرد و سلامت مغزی شده و خطر ابتلا به بیماری های زوال عقلی را کاهش دهد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر سطوح کلوتو (تنظیم کننده میلینیناسیون مجدد و بلوغ الیگودندروسیت)، PLP (پروتئین پروتئولپید، یکی از پروتئین های اصلی میلین) در بافت هیپوکامپ و مخچه موش ها انجام شد.

مواد و روشها: ۲۰ موش ماده C57BL/6 (۶ هفته ای با میانگین وزن 15 ± 2 گرم) به طور تصادفی به دو گروه کنترل ($n=10$) و تمرین ($n=10$) تقسیم شدند. گروه تمرین پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا را با تواتر پنج جلسه تمرین در هفته به مدت ۸ هفته انجام دادند. پروتکل در ابتدا شامل (۱) گرم کردن ۵ دقیقه ای با شدت $30-40\%$ V_{max} ، (۲) تکرارهای فواصل دو دقیقه ای با شدت $80-110\%$ V_{max} و ریکاوری فعال با شدت $30-40\%$ V_{max} و (۳) سرد کردن با شدت $30-40\%$ V_{max} چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، سطح کلوتو و PLP در بافت هیپوکامپ و مخچه با استفاده از تکنیک وسترن بلات ارزیابی شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS با نسخه ۲۱ تجزیه و تحلیل شد. از آزمون تی مستقل جهت بررسی تفاوت بین سطوح کلوتو و PLP در گروه تمرین و کنترل استفاده شد و سطح معنی داری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج یافته‌های حاضر نشان داد که غلظت کلوتو بافت هیپوکامپ در گروه تمرین افزایش یافت ($p < 0.01$)، اما غلظت PLP در هیپوکامپ تغییری نکرد ($p = 0.4$). همچنین نتایج نشان داد که غلظت کلوتو و PLP بافت مخچه در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش یافت (به ترتیب $p \leq 0.01$ و $p \leq 0.05$).

نتیجه گیری: یافته‌های ما برای اولین بار نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا باعث افزایش کلوتو در بافت هیپوکامپ شد. ما همچنین نشان دادیم که این نوع تمرین باعث افزایش کلوتو و PLP در بافت مخچه در مقایسه با گروه کنترل شد و بنابراین ممکن است سطوح کلوتو و PLP را که معمولاً با افزایش سن و بیماری کاهش می‌یابند، بهبود بخشد. کار فعلی اثبات این مفهوم را ارائه می‌کند که انجام فعالیت ورزشی HIIT می‌تواند به عنوان الگویی جهت افزایش غلظت پروتئین‌های کلوتو و PLP در مغز در نظر گرفته شود که پتانسیل تأثیر مثبت بر ساختار و عملکرد مغز را دارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، مخچه، هیپوکامپ، کلوتو، PLP

نحوه استناد به این مقاله: الوندی م، سلیمی ک، فرهمند ف، نورشاهی م. پاسخ پروتئین‌های کلوتو و PLP به تمرین تناوبی با شدت بالا در بافت‌های هیپوکامپ و مخچه موش‌های ماده. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۴؛ ۱۸(۱): ۱-۴.

* رایانامه نویسنده مسئول: alvandi20@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۵

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۴

پایگاه نشر
انتشارات

مقدمه

حفظ سلامت مغز برای جلوگیری از بیماری و به تاخیر انداختن فنوتیپ پیری امری ضروری است (۱). اکنون مشخص شده است که دمیلیناسیون و کاهش کارایی میلین‌سازی مجدد در طول پیری و بیماری‌های زوال عصبی امری رایج است. از این رو، نشان داده شده است که یک سبک زندگی کم تحرک همراه با یک رژیم غذایی ناسالم می‌تواند منجر به از دست دادن میلین شود و ورزش این پتانسیل را دارد که این عوارض جانبی را معکوس کرده و محیطی را برای میلین‌سازی ایجاد کند (۲). یکی از عوامل شناسایی شده که نقش مهمی در حفظ غلاف میلین و عملکرد الیگودندروسیت دارد آلفا کلوتو است (۳). کلوتو از سیستم عصبی در برابر استرس اکسیداتیو و دمیلیناسیون محافظت می‌کند (۴). کلوتو با مهار سیگنال دهی فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-1) از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) جلوگیری می‌کند که به نوبه خود فعالیت فاکتورهای رونویسی پروتئین‌های جعبه سرچنگالی (FOXOs) را افزایش می‌دهد و در نهایت سیستم آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD2) را افزایش می‌دهد (۵، ۶). مطالعات همچنین نشان داده‌اند که کلوتو در طول پیری و همچنین در بیماران مبتلا به بیماری‌های زوال عصبی مانند مولتیپل اسکلروزیس (MS) و آلزایمر کاهش می‌یابد (۷، ۸). همچنین سطوح پایین کلوتو پلاسما در افراد مسن یافت می‌شود و موش‌های دارای کمبود کلوتو یک فنوتیپ پیری را نشان دادند که شامل کاهش طول عمر، ناباروری، آتروفی پوست، پوکی استخوان، و کلیسیفیکاسیون غیرطبیعی عروق خونی و کلیه است (۹، ۱۰). پروتئین کلوتو عمدتاً در کلیه بیان می‌شود، اما در سایر اندام‌ها مانند غده پاراتیروئید و نواحی مختلف مغز (از جمله سلول‌های اپاندیمی شبکه غضروفی، نورون‌های پورکنز مخچه، غده هیپوفیز، هیپوکامپ و قشر مغز) و نیز عضله اسکلتی بیان می‌شود (۱۱-۱۳).

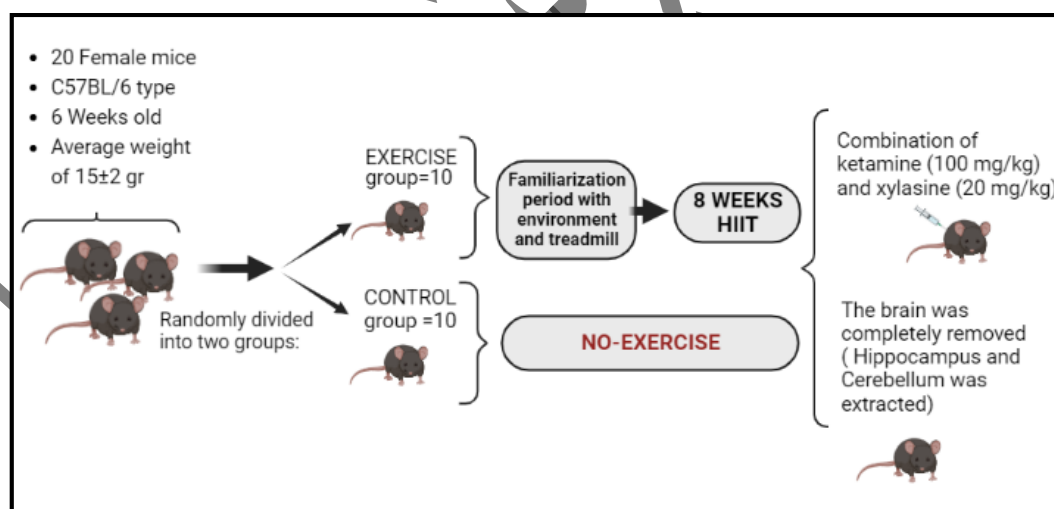
کلوتو عملکرد هیپوکامپ را از طریق تنظیم نورون‌ها، عملکردهای شناختی و شکل‌پذیری سیناپسی تنظیم می‌کند (۳). در مقابل اطلاعات اندکی در رابطه با نقش کلوتو در مخچه وجود دارد. با این حال نشان داده شده است که موش‌های دارای کمبود کلوتو در مخچه، نورون‌های پورکنز کمتری دارند و ناهنجاری‌های راه رفتن مانند پارکینسون را نشان می‌دهند (۱۳). مطالعات نشان داده‌اند که کلوتو در میکروگلیا و آستروسیت‌ها بیان نمی‌شود، بلکه در الیگودندروسیت‌ها بیان می‌شود که ممکن است نقش مهمی در اثرات کلوتو بر میلیونوز داشته باشد (۱۲). درک مسیرهای سیگنال کلوتو در بیماری‌های عصبی و اختلالات پیری می‌تواند نقش کلیدی در توسعه مداخلات و اهداف درمانی آینده برای درمان اثرات مضر اختلالات مرتبط با افزایش سن و بیماری‌های عصبی داشته باشد.

اثرات مفید ورزش بر بهبود سلامت و پیشگیری از بیماری‌های مختلف به خوبی شناخته شده است (۱۴، ۱۵). مطالعات نشان داده‌اند که ورزش، بیان کلوتو را در مدل‌های انسانی و حیوانی با افزایش AMPK/PGC-1 α و استرس اکسیداتیو تنظیم می‌کند (۱۶-۱۹). کلوتو با اتصال به گیرنده تیروزین‌کیناز خود منجر به فسفوریلاسیون اهداف پایین دستی می‌شود که مسیرهای AKT و ERK ۲/۱ را در سلول‌های الیگودندروسیت، به عنوان سلول‌های میلیونوز اولیه، درگیر می‌کند که در ادامه سبب افزایش میلین الیگودندروسیت گلیکوپروتئین (MOG)، پروتئین پایه میلین (MBP)، پروتئین اختصاصی الیگودندروسیت (OSP) و پروتئولپید پروتئین PLP می‌شود (۴). تغییرات بیان این پروتئین‌ها به ویژه PLP نشان‌دهنده فعالیت الیگودندروسیت‌ها و تغییرات در ساختار غلاف میلین است (۴). پروتئین، PLP، تا ۵۰ درصد از پروتئین اصلی تولید شده توسط الیگودندروسیت‌ها در CNS را می‌سازد و نقش ساختاری مهمی در غلاف میلین ایفا می‌کند (۲۰). مطالعات نشان داده‌اند که جهش در ژن PLP منجر به فرآیند دمیلیناسیون در CNS می‌شود. اما افزایش بیان PLP منجر به حفظ وضعیت میلین و تنظیم افزایش رشد غشای میلین می‌شود (۲۱).

در مجموع، به نظر می‌رسد تعاملی بین ورزش، PLP و کلوتو وجود دارد (۲، ۱۷) که در حفظ عملکرد عصبی، به ویژه با توجه به دمیلینه شدن، مهم هستند. با این حال، تأثیر ورزش بر روی نواحی مختلف مغز که در تولید کلوتو و PLP نقش دارند، مشخص نیست. با توجه به اینکه شواهد جدید نشان می‌دهد که HIIT می‌تواند فعالیت هیپوکامپ را افزایش دهد و به عنوان یک روش درمانی در بیماری‌های عصبی عمل می‌کند (۲۲)، از این رو در پژوهش حاضر به بررسی اثرات ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر روی بیان کلوتو و PLP در هیپوکامپ و بافت مخچه با فرض این که HIIT بیان کلوتو و PLP را افزایش می‌دهد پرداخته شد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این مطالعه، ۲۰ سر موش ماده C57BL/6 (۶ هفته‌ای با میانگین وزنی 15 ± 2 گرم) از انستیتو پاستور (تهران، ایران) خریداری شده و در محیط استاندارد با دمای حداقل 1 ± 22 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد نگهداری شدند. در این مدت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی حفظ شد و حیوانات درون قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات پوشیده شده با خاک اره با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. موش‌ها به طور تصادفی، اما به طور مساوی پس از انطباق با شرایط جدید به یک گروه کنترل یا تمرین تقسیم شدند (شکل ۱ را ببینید). کلیه مراحل آزمایش با رعایت قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی (IR.SBU.ICBS.98/1005) انجام و تأیید شد.



شکل ۱: نمایش شماتیک طرح آزمایشی.

پروتکل تمرین: پروتکل HIIT (جدول ۱) روی تردمیل مخصوص جوندگان انجام شد. در مرحله آشنایی، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه در روز، به مدت ۵ روز روی تردمیل با شیب صفر درجه و سرعت ۸ متر در دقیقه دویدند. در پایان دوره آشنایی، موش‌ها یک تست تمرینی افزایشی را انجام دادند که برای به دست آوردن حداکثر سرعت طراحی شده بود. ابتدا آنها با سرعت ۶ متر در دقیقه به مدت ۳ دقیقه دویدند و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۳ متر در دقیقه افزایش می‌یافت تا زمانی که موش‌ها نتوانستند این شدت را حفظ کنند. آخرین تلاش هر موش به عنوان حداکثر سرعت (V_{max}) در نظر گرفته شد (۲۳). HIIT شامل ۵

جلسه تمرین تناوبی شدید در هفته به مدت ۸ هفته بود. پروتکل در ابتدا شامل ۱) گرم کردن ۵ دقیقه ای با شدت ۳۰-۴۰٪ Vmax بود. ۲) تکرارهای فواصل دو دقیقه ای با شدت ۸۰-۱۱۰٪ Vmax و ریکاوری فعال با شدت ۳۰-۴۰٪ Vmax و ۳) سرد کردن با شدت ۳۰-۴۰٪ Vmax. اضافه بار پیشرونده با افزایش زمان اجرا و تعداد فواصل در گروه HIIT همانطور که در جدول

سرد کردن	هفته	زمان کلی	سرعت ریکاوری	ریکاوری فعال	سرعت دویدن	HIIT	گرم کردن
5 min 30-40% Vmax	۱	۱۸ دقیقه	۹ متر بر دقیقه	2 × 2min 40% Vmax	۲۲ متر بر دقیقه	2 × 2min 80% Vmax	
	۲	۲۶ دقیقه	۱۰ متر بر دقیقه	4 × 2min 40% Vmax	۲۴ متر در دقیقه	4 × 2min 90% Vmax	
	۳	۳۴ دقیقه	۱۱ متر بر دقیقه	6 × 2min 40% Vmax	۲۶ متر در دقیقه	6 × 2min 100% Vmax	
	۴-۸	۴۲ دقیقه	۹ متر بر دقیقه	8 × 2min 30% Vmax	۲۹ متر در دقیقه	8 × 2min 110% Vmax	

۱ نشان داده شده است، انجام شد (۲۴).

جدول ۱. پروتکل تمرین پیشرونده برای تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). Vmax شدت تمرین را به عنوان درصدی از حداکثر سرعت دویدن نشان می دهد.

روش های آزمایشگاهی:

استخراج بافت: نمونه گیری ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. موش ها با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و پس از جدا شدن جمجمه، مغز به طور کامل خارج شد. سپس بافت هیپوکامپ و مخچه برداشته شد و به مدت یک شب در محلول فیکساتور (فرمالین بافر خنثی ۱۰ درصد) نگهداری شد.

وسترن بلات: وسترن بلات برای تشخیص سطح پروتئین های استخراج شده از بافت هیپوکامپ و مخچه استفاده شد. به طور خلاصه، پروتئین ها از بافر RIPA حاوی ۰,۰۵ میلی مولار بافر تریس (PH 8)، ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، ۰,۰۱٪ EGTA، ۱٪ SDS به اضافه ۰,۱٪ کوکتل (ROCHE) آنتی پروتئاز استخراج شد. بدین ترتیب ۱۰۰ میلی گرم از هر بافت در بافر ۵۰۰ میکرولیتری حاوی آنتی پروتئاز همگن شده و به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه (bo, sw14rfroil) در ۱۲۰۰۰ گرم و ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع آوری شد و غلظت پروتئین آن با کیت پروتئین Bio-Rad (اندازه گیری در طول موج ۵۹۵ نانومتر) اندازه گیری و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. هموزنه به نسبت ۱:۱ با نمونه برداری بافر به دست آمد (۵۰ میلی مولار تریس-هیدروژن کلرید، pH = 6.8، سدیم دودسیل سولفات ۲٪، ۱۰٪ گلیسرول، ۵٪ بتا-مرکاپتواتانول و ۰,۰۰۵٪ بروموفنل آبی مخلوط شدند، سپس نمونه به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین ها دناتوره شوند. یک ابزار مینی الکتروفورز عمودی (Mini-PROTEAN Tetra Cell، ۱۰ چاه، ۰,۷۵ میلی متر، Bio-Rad، ایالات متحده) برای تجزیه و تحلیل استفاده شد. ابتدا ژل دناتوره کننده آکریل آمید ۱۰٪ تهیه شد، سپس با برقراری جریان الکتریکی (ولتاژ ثابت) ۱۰۰ ولت و ۳۵ میلی آمپر، پروتئین در ژل بالا حرکت کرد و به محض ورود به ژل پایین، ولتاژ به ۲۰۰ ولت افزایش یافت. وقتی رنگ آبی بروموفنل به انتهای ژل رسید، جریان قطع شد و ژل از قالب خارج شد. پس از جداسازی، باندهای پروتئینی به غشاهای پلی وینیلیدین دی فلوراید (Cat NO. 427152, Sigma-Aldrich, USA) منتقل شدند. نوارهای پروتئینی با استفاده از مقادیر مساوی از محلول لومینول/ افزایش دهنده (Bio-Rad, Cat NO. 102030394) و محلول بستر ECL (Bio-Rad, Cat NO. 102030396، ایالات متحده آمریکا) شناسایی شدند و سپس چگالی با استفاده از نرم افزار Image J کمی سازی شد.

تحلیل آماری: داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS با نسخه ۲۱ تجزیه و تحلیل شد. نرمال بودن داده ها با آزمون شاپیرو ویلک تعیین شد. برای بررسی تفاوت بین سطوح کلوتو و PLP در گروه تمرین و کنترل از آزمون تی مستقل استفاده شد. داده ها به صورت میانگین \pm SEM ارائه شده و سطح معنی داری در $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

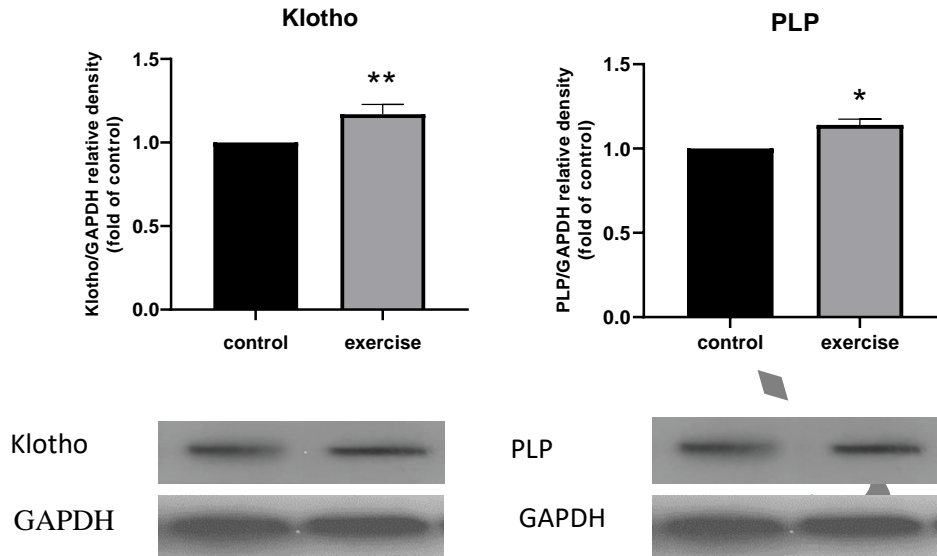
نتایج

(۱) ۸ هفته HIIT باعث افزایش غلظت کلوتو و PLP در بافت مخچه نسبت به گروه کنترل شد.

نتایج آزمون آماری تی مستقل در تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته HIIT غلظت کلوتو ($P \leq 0.01$) و PLP ($P \leq 0.05$) را در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی در بافت مخچه افزایش داد (شکل ۲).

الف

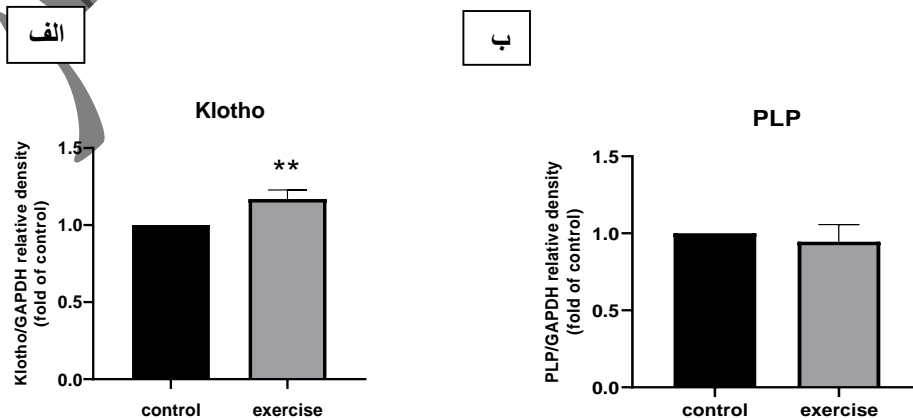
ب

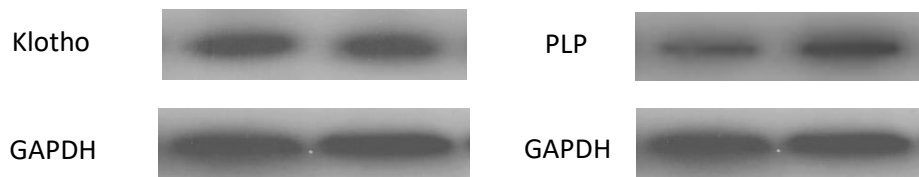


شکل ۲:

الف) میانگین تغییرات گروهی (\pm SEM) در شدت باند کلوتو در مقابل GAPDH پس از ۸ هفته HIIT در بافت مخچه.
 ب) میانگین تغییرات گروهی (\pm SEM) در شدت باند PLP در مقابل GAPDH پس از ۸ هفته HIIT در بافت مخچه همراه با باند وسترن بلات. $** p \leq 0.01$; $* p \leq 0.05$.
 ۲) ۸ هفته HIIT باعث افزایش کلوتو در بافت هیپوکامپ شد، اما غلظت PLP تغییری نکرد.

نتایج نشان داد که ۸ هفته HIIT باعث افزایش کلوتو ($p \leq 0.01$) در بافت هیپوکامپ شد، اما غلظت PLP ($P=0.4$) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تغییری نکرد (شکل ۳).





شکل ۳: الف) میانگین تغییرات گروهی ($\pm SEM$) در شدت باند کلتو در مقابل GAPDH پس از ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در بافت هیپوکامپ با نمایش وسترن بلات. ب) میانگین تغییرات گروهی ($\pm SEM$) در شدت باند PLP در مقابل GAPDH پس از ۸ هفته HIIT در بافت هیپوکامپ با نمایش وسترن بلات. $p \leq 0.01$.

بحث و نتیجه‌گیری

انجام فعالیت‌های ورزشی تأثیرات مثبتی بر عملکرد سیستم عصبی دارد. نتایج حاصل از مطالعات پیشین نشان می‌دهد که افزایش آگروژنز کلتو می‌تواند سبب بهبود عملکرد الیگودندریت‌ها شده و روند میلین‌سازی را تسریع ببخشد (۴). در نتیجه کلتو می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی برای بسیاری از بیماری‌های زوال عصبی قرار گیرد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان کلتو و PLP (پروتئین‌های درگیر در فرایند میلین‌سازی) در بافت هیپوکامپ و مخچه بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته فعالیت ورزشی HIIT بر روی موش‌های C57BL/6 سبب افزایش معنی‌دار کلتو در بافت‌های هیپوکامپ و مخچه در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد. همسو با نتایج حاضر، ناپچون و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ۴۸ هفته تمرین هوازی متناوب سبب افزایش میزان پروتئین و بیان mRNA کلتو و نیز کاهش میزان ROS در کلیه و مغز ترها شد. با این حال، بر خلاف مطالعه حاضر، آنها تجزیه و تحلیل را در مناطق خاصی از مغز انجام ندادند (۱۷). علاوه بر این، تحقیق حاضر در بازه زمانی کوتاه‌تری (۸ هفته) نتایج مشابهی را به دست آورد. در همین راستا فرهمند و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تمرین HIIT منجر به افزایش میزان کلتو و PLP در بافت مخچه موش‌های سالم و مبتلا به بیماری ام‌اس شد (۲۵، ۲۶). از این رو تحقیقات پیشین رابطه بین کلتو سرم و تمرینات بی‌هوازی را بررسی کرده و نشان داده است که سطوح کلتو در دوندگان سرعت (سطوح مشابه با افراد کم‌تحرك) کمتر از ورزشکارانی است که تمرینات هوازی انجام داده‌اند (۲۷). بر اساس چندین مطالعه انجام شده، سطح خونی کلتو پس از ورزش هوازی می‌تواند به طور قابل توجهی در ورزشکاران و افراد کم‌تحرك یا بیمار افزایش یابد (۲۸-۳۱). مطالعه حاضر داده‌های قبلی را تأیید می‌کند که کلتو با تمرینات هوازی افزایش می‌یابد، اما یافته‌های جدید نشان می‌دهد که این افزایش‌ها در ناحیه هیپوکامپ و مخچه مغز رخ می‌دهد که در حفظ عملکرد عصبی فیزیولوژیکی پس از یک دوره تمرین نوع هوازی مهم هستند. بنابراین به نظر می‌رسد نوع مداخله تمرینی و مدت زمان تحقیق حاضر مناسب بوده که به افزایش چشمگیر کلتو در دو ناحیه مغزی منجر شده است. علاوه بر این، از آنجایی که نورون‌های هیپوکامپ در برابر استرس اکسیداتیو آسیب پذیر هستند (۳۲)، افزایش کلتو پس از ۸ هفته HIIT می‌تواند خواص محافظتی عصبی هیپوکامپ را افزایش دهد. روی هم رفته با توجه به اینکه تحقیقات اندکی در رابطه با فعالیت ورزشی و تأثیر آن بر روی کلتو در بافت مغز صورت گرفته است و اکثر تحقیقات صورت گرفته مقدار سطوح کلتو را در سرم و گردش خون

اندازه گیری کردند لذا ما اولین تحقیق را در ارتباط با تاثیر فعاليت ورزشی HIIT بر میزان کلو تو در بافت هیپوکامپ انجام دادیم. همچنین پژوهش حاضر برای اولین بار تغییر غلظت پروتئین کلو تو را به دنبال فعاليت ورزشی در بافت های هیپوکامپ و مخچه مقایسه کرد. با توجه به اینکه ورزش می تواند به عنوان یک فاکتور مثبت، الگوی بیان ژن و تغییرات فیزیولوژیکی را در هیپوکامپ و مخچه ایجاد کرده که این تغییرات می تواند به بهبود عملکرد فیزیکی، حفظ سلامتی و پیشگیری از بیماری ها کمک کند.

از سوی دیگر، تاثیر فعاليت ورزشی HIIT سبب افزایش میزان PLP در بافت مخچه شد اما در هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل تغییری نکرد. همسو با نتایج مطالعه حاضر، نشان داده شده است که موش هایی با سطوح بالای چربی که ۷ هفته دويدن داوطلبانه در نوار گردان را تکمیل کرده اند، میزان پروتئین های اصلی غشای میلین (PLP و MBP) در ناحیه لومبوساکرال را افزایش دادند (۲). آنها پیشنهاد کردند که رژیم غذایی پر چرب و فعاليت ورزشی با فعال سازی AKT، SIRT1 و PGC-1 α میتواند سبب افزایش میلین سازی شده باشد. برناردس و همکاران (۲۰۱۶) همچنین افزایش پروتئین های PLP و MBP در نخاع را به دنبال ۶ هفته تمرین شنا در موش ها گزارش کردند (۳۳). همسو با مطالعه حاضر که هیچ تغییری در PLP هیپوکامپ نشان نداد، رافائلا و همکاران (۲۰۰۲) اثرات متفاوت ورزش حاد و مزمن را بر روی ژن های مرتبط با پلاستیسیته در هیپوکامپ بررسی کردند (۳۴). آنها تغییرات نسبی در بیان پس از ورزش بیش از ۱۰۰۰ ژن بیان شده در مغز را تجزیه و تحلیل کردند و PLP یکی از پروتئین هایی بود که پس از فعاليت تغییر قابل توجهی در بافت هیپوکامپ نداشت. به نظر میرسد فعاليت مسیر های بالادستی PLP از جمله کلو تو و نیز فعاليت مسیر های SIRT1، AKT و PGC-1 α که در مطالعات پیشین به ان اشاره شده است میتوانند از دلایل افزایش PLP باشد.

به طور خلاصه، یافته های ما نشان داد که ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا باعث افزایش سطح کلو تو در بافت های هیپوکامپ و مخچه شد. علاوه بر این، به دنبال تمرین HIIT سطح PLP در بافت مخچه افزایش یافت، اما افزایشی در بافت هیپوکامپ مشاهده نشد. به نظر می رسد پاسخ PLP به فعاليت ورزشی، الگوهای مختلفی از غلظت این پروتئین در مغز را نشان می دهد (هیپوکامپ در مقابل مخچه). مهمتر از همه، یافته های ما مبنایی مکانیکی برای بررسی کاربرد فعاليت ورزشی HIIT به عنوان یک هدف درمانی برای بیماری های عصبی و مغزی و ایده به تاخیر انداختن بالقوه روند پیری فراهم می کند. پیشنهاد می شود که مطالعه حاضر بر روی موش های سالمند و موش های بیمار (بیماری های زوال عصبی) جهت بررسی مزایای تمرین HIIT بر غلظت پروتئین های کلو تو و PLP و تاثیر آنها بر ساختار و عملکرد عصبی انجام شود. علاوه بر این، اگرچه عدم امکان استفاده از آزمودنی های بیشتر و بررسی هر دو جنس نر و ماده از محدودیت های پژوهش حاضر به شمار می رود، با این حال پیشنهاد می شود که سایر پروتئین های دخیل در میلین سازی (از جمله MBP، MOG و OSP) اندازه گیری شوند تا تاثیر افزایش کلو تو بر سایر پروتئین های دخیل در میلین سازی مشخص شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همه عزیزانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تقدیر و تشکر را داریم.

حامی / حامیان مالی

پژوهش حاضر هیچگونه حمایت مالی نداشته است.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در مفهوم سازی و طراحی مطالعه مشارکت داشتند. پیش نویس اولیه توسط معصومه الوندی نگارش شده است. تهیه، گردآوری و تحلیل داده ها توسط معصومه الوندی، کیا سلیمی، فتانه فرهمند و مریم نورشاهی انجام شد. مریم نورشاهی و کیا سلیمی در بررسی و ویرایش مقاله مشارکت داشتند. همه نویسندگان نسخه نهایی را خوانده و تایید کردند.

تعارض منافع

در این مقاله بین نویسندگان هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

پی نوشت ها

AD: Alzheimer's disease

CAD: Coronary artery disease

CAT: Catalase

EAE: Experimental autoimmune encephalomyelitis

FOXOs: Forkhead box O transcription factors

HIIT: High-intensity interval training

IGF-1: Insulin-like growth factor 1

MBP: Myelin basic protein

MOG: Myelin oligodendrocyte glycoprotein

MS: Multiple sclerosis

OSP: Oligodendrocyte-specific protein

PD: Parkinson's disease

PLP: Proteolipid protein

ROS: Reactive oxygen species

SOD2: Superoxide dismutase 2

Vmax: Maximum velocity

منابع

1. White, L.J. and V. Castellano, Exercise and brain health--implications for multiple sclerosis: Part 1--neuronal growth factors. *Sports Med*, 2008. 38(2): p. 91-100.
2. Yoon, H., et al., Interplay between exercise and dietary fat modulates myelinogenesis in the central nervous system. *Biochim Biophys Acta*, 2016. 1862(4): p. 545-555.

- ۳ Vo, H.T., A.M. Laszczyk, and G.D. King, Klotho, the Key to Healthy Brain Aging? *Brain Plast*, 2018. 3(2): p. 183-194.
- ۴ Chen, C.D., et al., The antiaging protein Klotho enhances oligodendrocyte maturation and myelination of the CNS. *J Neurosci*, 2013. 33(5): p. 1927-39.
- ۵ Kuro-o, M., Klotho as a regulator of oxidative stress and senescence. *Biol Chem*, 2008. 389(3): p. 233-41.
- ۶ Yamamoto, M., et al., Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho. *J Biol Chem*, 2005. 280(45): p. 38029-34.
- ۷ Ahmadi, M., et al., Multiple sclerosis influences on the augmentation of serum Klotho concentration. *J Neurol Sci*, 2016. 362: p. 69-72.
- ۸ Emami Aleagha, M.S., et al., Differential Expression of Klotho in the Brain and Spinal Cord is Associated with Total Antioxidant Capacity in Mice with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Mol Neurosci*, 2018. 64(4): p. 543-550.
- ۹ Santos-Dias, A., et al., Longevity protein klotho is induced by a single bout of exercise. *Br J Sports Med*, 2017. 51(6): p. 549-550.
- ۱۰ Abraham, C.R. and A. Li, Aging-suppressor Klotho: Prospects in diagnostics and therapeutics. *Ageing Res Rev*, 2022. 82: p. 101766.
- ۱۱ Li, S.A., et al., Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice. *Cell Struct Funct*, 2004. 29(4): p. 91-9.
- ۱۲ German, D.C., et al., Nuclear localization of Klotho in brain: an anti-aging protein. *Neurobiol Aging*, 2012. 33(7): p. 1.۴۸۳e25-30.
- ۱۳ Kuro-o, M., et al., Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*, 1997. 390(6655): p. 45-51.
- ۱۴ Qiu, Y., et al., Exercise sustains the hallmarks of health. *J Sport Health Sci*, 2023. 12(1): p. 8-35.
- ۱۵ Liu, Y., et al., The beneficial effects of physical exercise in the brain and related pathophysiological mechanisms in neurodegenerative diseases. *Lab Invest*, 2019. 99(7): p. 943-957.
- ۱۶ Tan, S.J., et al., High-intensity physical exercise increases serum α -klotho levels in healthy volunteers. *J Circ Biomark*, 2018. 7: p. 1849454418794582.
- ۱۷ Ji, N., et al., Aerobic exercise-stimulated Klotho upregulation extends life span by attenuating the excess production of reactive oxygen species in the brain and kidney. *Exp Ther Med*, 2018. 16(4): p. 3511-3517.
- ۱۸ Amaro-Gahete, F.J., et al., Role of Exercise on S-Klotho Protein Regulation: A Systematic Review. *Curr Aging Sci*, 2018. 11(2): p. 100-107.
- ۱۹ Farahmand, F., et al., The effect of 6 weeks of high intensity interval training on myelin biomarkers and demyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis model. *J Neuroimmunol*, 2020. 346: p. 577306.
- ۲۰ Yool, D.A., et al., Myelin proteolipid proteins promote the interaction of oligodendrocytes and axons. *J Neurosci Res*, 2001. 63(2): p. 151-64.
- ۲۱ Griffiths, I.R., et al., Transgenic and natural mouse models of proteolipid protein (PLP)-related dysmyelination and demyelination. *Brain Pathol*, 1995. 5(3): p. 275-81.
- ۲۲ Liu, P.Z. and R. Nusslock, Exercise-Mediated Neurogenesis in the Hippocampus via BDNF. *Front Neurosci*, 2018. 12: p. 52.
- ۲۳ Ferreira, J.C., et al., Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007. 34(8): p. 760-5.
- ۲۴ Afzalpour, M.E., et al., Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiol Behav*, 2015. 147: p. 78-83.
- ۲۵ موش های مبتلا به بیماری ام اس. $TNF-\alpha$, تأثیر پیش آماده سازی با تمرین تناوبی شدید بر میزان کلتو و *al et* فرهمند, ۱۵ (۳۰): 15-29. پژوهشنامه فیزیولوژی ورزشی کاربردی, ۲۰۱۹.
- ۲۶ ,, تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی بر میزان پروتئین های کلتو, پروتئولیبید پروتئین و فاکتور نکروز توموری آلفا در *al et* فرهمند, ۶۷-۷۸. پبافت مخچه موش های سالم. نشریه علوم زیستی ورزشی, ۲۰۲۰. ۱۲ (۱):
- ۲۷ Devaraj, S., et al., Validation of an immunoassay for soluble Klotho protein: decreased levels in diabetes and increased levels in chronic kidney disease. *Am J Clin Pathol*, 2012. 137(3): p. 479-85.

- .۲۸ Matsubara, T., et al., Aerobic exercise training increases plasma Klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014. 306(3): p. H348-55.
- .۲۹ Mostafidi, E., et al., Serum Klotho Levels in Trained Athletes. *Nephrourol Mon*, 2016. 8(1): p. e30.۲۴۵
- .۳۰ Saghiv, M.S., et al., The effects of aerobic and anaerobic exercises on circulating soluble-Klotho and IGF-I in young and elderly adults and in CAD patients. *J Circ Biomark*, 2017. 6: p. 1849454417733388.
- .۳۱ Amaro-Gahete, F.J., et al., Exercise training increases the S-Klotho plasma levels in sedentary middle-aged adults: A randomised controlled trial. The FIT-AGEING study. *J Sports Sci*, 2019. 37(19): p. 2175-2183.
- .۳۲ Wang, X. and E.K. Michaelis, Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front Aging Neurosci*, 2010. 2: p. 12.
- .۳۳ Bernardes, D., et al., Prior regular exercise improves clinical outcome and reduces demyelination and axonal injury in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurochem*, 2016. 136 Suppl 1: p. ۶۳-۷۳.
- .۳۴ Molteni, R., Z. Ying, and F. Gómez-Pinilla, Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *Eur J Neurosci*, 2002. 16(6): p. 1107-16.

پیشینک
انتشار