

Original Article

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 Nourshahi¹¹ Department of Biological Sciences in Sport, Faculty of Sports Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran² Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport and Exercise Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran³ 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 % Vmax; 2) two-minute interval repetitions at an intensity of 80-110 % Vmax and active recovery at an intensity of 30-40 % Vmax, and 3) a cool-down at an intensity of 30-40% Vmax. 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 set 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 to the control group ($p < 0.01$, $p < 0.05$, 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, and may therefore improve Klotho and PLP levels that typically decline with aging and

* Corresponding Author's E-mail: m_alvandi@sbu.ac.ir

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

Received: 15/10/2024

Revised: 03/12/2024

Accepted: 15/12/2024



Copyright: © 2024 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/>.

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):63-75.

پاسخ پروتئین‌های کلوتو و PLP به تمرین تناوبی با شدت بالا در بافت‌های هیپوکامپ و مخچه موش‌های 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 حرکت-شناسی، دانشگاه مک مستر، همیلتون، کانادا

چکیده

زمینه و هدف: انجام فعالیت ورزشی به‌عنوان یک روش شناخته‌شده و بدون عوارض بالقوه وابسته به مداخلات دارویی، تأثیرات مفید فراوانی بر عملکرد عصبی زیستی دارد. به‌تازگی یافته‌ها نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی مسیرهای نورولوژیکی را در مغز افزایش می‌دهد و با افزایش نشانگرهای زیستی میلیون‌ساز، می‌تواند سبب ارتقای عملکرد و سلامت مغزی شود و خطر ابتلا به بیماری‌های زوال عقلی را کاهش دهد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر سطوح کلوتو (تنظیم‌کننده میلی‌نیناسیون مجدد و بلوغ الیگودندروسیت)، PLP (پروتئین پروتئولپید، یکی از پروتئین‌های اصلی میلین) در بافت هیپوکامپ و مخچه موش‌ها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: ۲۰ موش ماده C57BL/6 (شش هفته‌ای با میانگین وزن 15 ± 2 گرم) به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل ($n=10$) و تمرین ($n=10$) تقسیم شدند. گروه تمرین در یک دوره هشت‌هفته‌ای تمرین تناوبی دودقیقه‌ای با شدت بالا با بسامد پنج جلسه در هفته شرکت داشتند. این تمرین شامل ۱. پنج دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد V_{max} ، ۲. تمرین اصلی با شدت ۸۰-۱۱۰ درصد V_{max} و بازیافت فعال با شدت ۳۰-۴۰ درصد V_{max} و ۳. سرد کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد V_{max} ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، سطح کلوتو و PLP در بافت هیپوکامپ و مخچه با استفاده از تکنیک وسترن بلات ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ تجزیه و تحلیل شد. از آزمون تی مستقل برای بررسی تفاوت بین سطوح کلوتو و PLP در گروه تمرین و کنترل استفاده شد و سطح معناداری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

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 غلظت کلوتو و PLP بافت مخچه در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش یافت (به ترتیب $P < 0.01$ و $P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما برای نخستین بار نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا سبب افزایش کلوتو در بافت هیپوکامپ شد. همچنین مشخص شد که این نوع تمرین سبب افزایش کلوتو و PLP در بافت مخچه در مقایسه با گروه کنترل شد و بنابراین شاید سطوح کلوتو و PLP را که به‌طور معمول با افزایش سن و بیماری کاهش می‌یابند، بهبود بخشد. پژوهش حاضر اثبات می‌کند که انجام فعالیت ورزشی HIIT می‌تواند به‌عنوان الگویی به‌منظور افزایش غلظت پروتئین‌های کلوتو و PLP در مغز در نظر گرفته شود که توان تأثیر مثبت بر ساختار و عملکرد مغز را دارد.

* رایانامه نویسنده مسئول: m_alvandi@sbu.ac.ir

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، کلوتو، مخچه، هیپوکامپ، 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): ۶۳-۷۵.

مقدمه

پاندمی شبکه غضروفی، نورون‌های پورکنز مخچه، غده هیپوفیز، هیپوکامپ و قشر مغز) و نیز ماهیچه اسکلتی بیان می‌شود (۱۱-۱۳).

کلوتو عملکرد هیپوکامپ را از طریق تنظیم نورونز، عملکردهای شناختی و شکل‌پذیری سیناپسی تنظیم می‌کند (۳). در مقابل اطلاعات اندکی در زمینه نقش کلوتو در مخچه وجود دارد. با این همه 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). یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که کلوتو در میکروگلیا و آستروسیت‌ها بیان نمی‌شود، بلکه در الیگودندروسیت‌ها بیان می‌شود که شاید نقش مهمی در تأثیرات کلوتو بر میلینوژنز داشته باشد (۱۲). درک مسیرهای پیام‌رسانی کلوتو در بیماری‌های عصبی و اختلالات پیری می‌تواند نقش کلیدی در توسعه مداخلات و اهداف درمانی آینده برای درمان آثار مضر اختلالات وابسته به افزایش سن و بیماری‌های عصبی داشته باشد.

تأثیرات مفید ورزش بر بهبود سلامت و پیشگیری از بیماری‌های گوناگون به‌خوبی شناخته شده است (۱۴)، یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که ورزش، بیان کلوتو را در نمونه‌های انسانی و حیوانی با افزایش AMPK/PGC-1 α و فشار اکسایشی تنظیم می‌کند (۱۹-۱۶). کلوتو با اتصال به گیرنده تیروزین کیناز خود به فسفوریلاسیون اهداف پایین‌دستی منجر می‌شود که مسیرهای AKT و ERK ۲/۱ را در سلول‌های الیگودندروسیت، به‌عنوان سلول‌های میلینوژنز اولیه، درگیر می‌کند و در ادامه سبب افزایش میلین الیگودندروسیت گلیکوپروتئین (MOG)، پروتئین پایه میلین (MBP)، پروتئین اختصاصی الیگودندروسیت (OSP) و پروتئولیبید

حفظ سلامت مغز برای جلوگیری از بیماری و به تأخیر انداختن فنوتیپ پیری امری ضروری است (۱). اکنون روشن 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 سبک زندگی کم‌تحرک همراه با رژیم غذایی ناسالم می‌تواند به از دست دادن میلین منجر شود و ورزش این توانمندی را دارد که این عوارض جانبی را وارونه 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 دستگاه عصبی در برابر فشار اکسایشی و دمیلیناسیون محافظت می‌کند (۴). کلوتو با مهار پیام‌رسانی عامل رشد شبه‌انسولین ۱ (IGF-1) از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) جلوگیری می‌کند که به نوبه خود فعالیت عواملی رونویسی پروتئین‌های جعبه سرچنگالی (FOXOs) را افزایش می‌دهد و در نهایت دستگاه ضد اکسایشی را تقویت می‌کند و کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD2) را افزایش می‌دهد (۵، ۶). یافته‌های پژوهشی 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 کلسیفیکاسیون غیرطبیعی عروق خونی و همه است (۹، ۱۰). پروتئین کلوتو بیشتر در همه بیان می‌شود، اما در سایر اندام‌ها مانند غده پاراتیروئید و نواحی مختلف مغز (از جمله سلول‌های

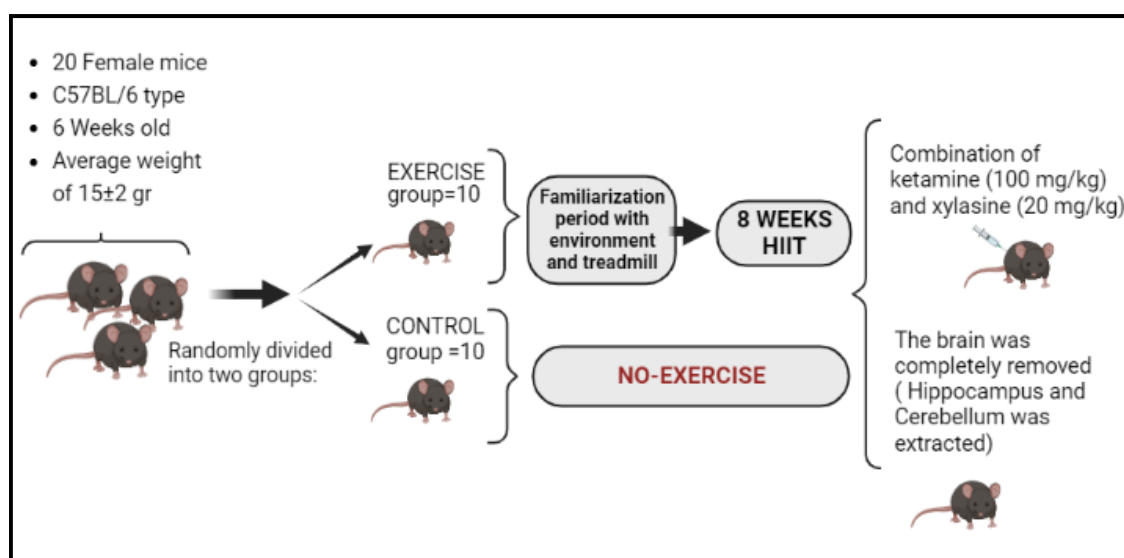
و PLP در هیپوکامپ و بافت مخچه با فرض اینکه HIIT بیان کلتو و PLP را افزایش می‌دهد، بررسی شد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش، ۲۰ سر موش ماده C57BL/6 (شش هفته‌ای با میانگین وزنی $2 \pm$ ۱۵ گرم) از انستیتو پاستور (تهران، ایران) خریداری شده و در محیط استاندارد با دمای دست کم 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 خاکاره با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. موش‌ها به‌طور تصادفی، اما به‌طور مساوی پس از انطباق با شرایط جدید به یک گروه کنترل یا تمرین تقسیم شدند (شکل ۱). همه مراحل آزمایش با رعایت قوانین و مقررات اخلاقی کار بهداشتی (IR.SBU.ICBS.98/1005) انجام و تأیید شد.

پروتئین PLP می‌شود (۴). تغییرات بیان این پروتئین‌ها به‌ویژه PLP نشان‌دهنده فعالیت الیگودندروسیت‌ها و تغییرات در ساختار غلاف میلین است (۴). پروتئین، PLP، تا ۵۰ درصد از پروتئین میلین اصلی تولیدشده توسط الیگودندروسیت‌ها در CNS را می‌سازد و نقش ساختاری مهمی در غلاف میلین ایفا می‌کند (۲۰). یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که جهش در ژن PLP به فرایند دمیلیناسیون در CNS منجر می‌شود. اما افزایش بیان PLP به حفظ وضعیت میلین و تنظیم افزایش رشد غشای میلین می‌انجامد (۲۱).

روی هم‌رفته، به نظر می‌رسد تعاملی بین ورزش، PLP و کلتو وجود دارد (۲، ۱۷) که در حفظ عملکرد عصبی، به‌ویژه با توجه به دمیلینه شدن، مهم‌اند. با این همه، تأثیر ورزش بر نواحی گوناگون مغز که در تولید کلتو و PLP نقش دارند، مشخص نیست. با توجه به اینکه به‌تازگی یافته‌های نشان می‌دهد که HIIT می‌تواند فعالیت هیپوکامپ را افزایش دهد و به‌عنوان یک روش درمانی در بیماری‌های عصبی عمل می‌کند (۲۲)، از این رو در پژوهش حاضر تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان کلتو



شکل ۱. نمایش شماتیک طرح آزمایشی

روش پژوهش: روش HIIT (جدول ۱) روی نوار گردان ویژهٔ جوندگان انجام گرفت. در مرحلهٔ آشنایی، موش‌ها به مدت پنج دقیقه در روز، به مدت پنج روز روی نوار گردان با شیب صفر درجه و سرعت هشت متر در دقیقه دویدند. در پایان دورهٔ آشنایی، موش‌ها یک تست تمرینی افزایشی را انجام دادند که برای به‌دست آوردن بیشینهٔ سرعت طراحی شده بود. نخست آنها با سرعت شش متر در دقیقه به مدت سه دقیقه دویدند و هر سه دقیقه سرعت نوار گردان سه متر در دقیقه افزایش می‌یافت تا زمانی که موش‌ها نتوانستند این شدت را حفظ کنند.

آخرین تلاش هر موش به‌عنوان بیشینهٔ سرعت (V_{max}) در نظر گرفته شد (۲۳). HIIT شامل پنج جلسه تمرین تناوبی شدید در هفته به مدت هشت هفته بود. روش در ابتدا شامل ۱. گرم کردن پنج دقیقه‌ای با شدت ۳۰-۴۰ درصد V_{max} بود. ۲. تکرارهای فواصل دودقیقه‌ای با شدت ۸۰-۱۱۰ درصد V_{max} و بازیافت فعال با شدت ۳۰-۴۰ درصد V_{max} و ۳. سرد کردن با شدت ۳۰-۴۰ درصد V_{max} . اضافه بار پیشرونده با افزایش زمان اجرا و تعداد فواصل در گروه HIIT همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، انجام شد (۲۴).

جدول ۱. روش تمرین پیشرونده برای تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT). V_{max} شدت تمرین را به‌عنوان درصدی از بیشینهٔ سرعت دویدن نشان می‌دهد.

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

روش‌های آزمایشگاهی: نمونه‌گیری ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی انجام گرفت. موش‌ها با تزریق داخل‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و پس از جدا شدن مجسمه، مغز به‌طور 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 برای تشخیص سطح پروتئین‌های استخراج‌شده از بافت هیپوکامپ و مخچه استفاده شد.

به‌طور خلاصه، پروتئین‌ها از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (8 PH)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱٪ EGTA، ۱٪ SDS به اضافهٔ ۰/۱٪ کوکتل (ROCHE) آنتی پروتئاز استخراج شد. بدین ترتیب ۱۰۰ میلی‌گرم از هر بافت در بافر ۵۰۰ میکرولیتری حاوی آنتی پروتئاز همگن شده و به مدت نیم ساعت در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه (bo, sw14rfroil) در ۱۲۰۰۰ گرم و چهار درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری شد و غلظت پروتئین آن با کیت

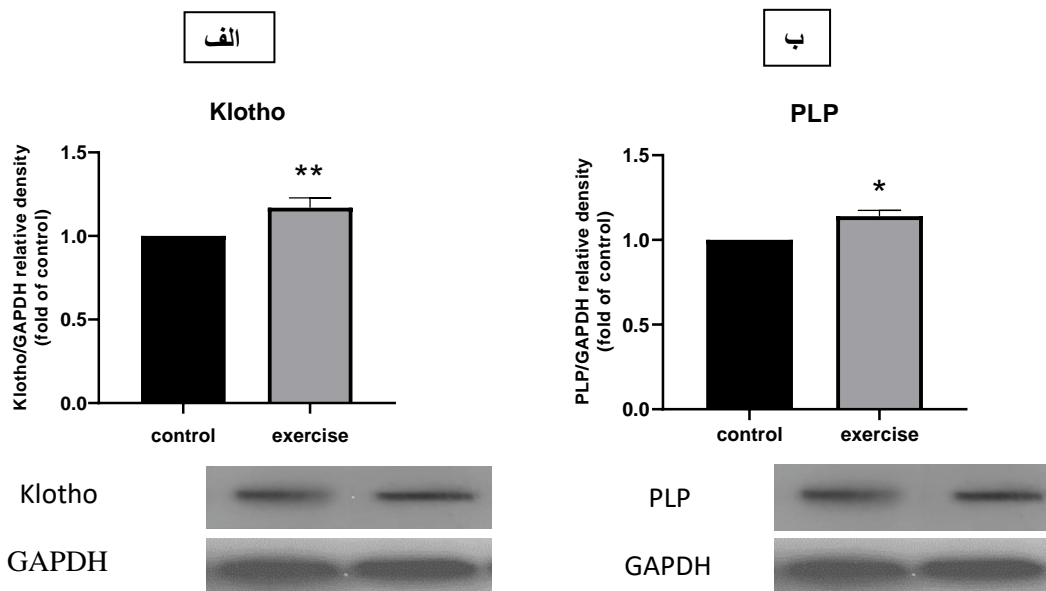
نوارهای پروتئینی با استفاده از مقادیر مساوی از محلول لومینول/ افزایش دهنده (Bio-Cat NO. 102030394, USA, Rad ECL بستر Cat NO. 102030396, Bio-Rad, ایالات متحده آمریکا) شناسایی شدند و سپس چگالی با استفاده از نرم افزار Image J کمی سازی شد.

تحلیل آماری: داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 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 معناداری در $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

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

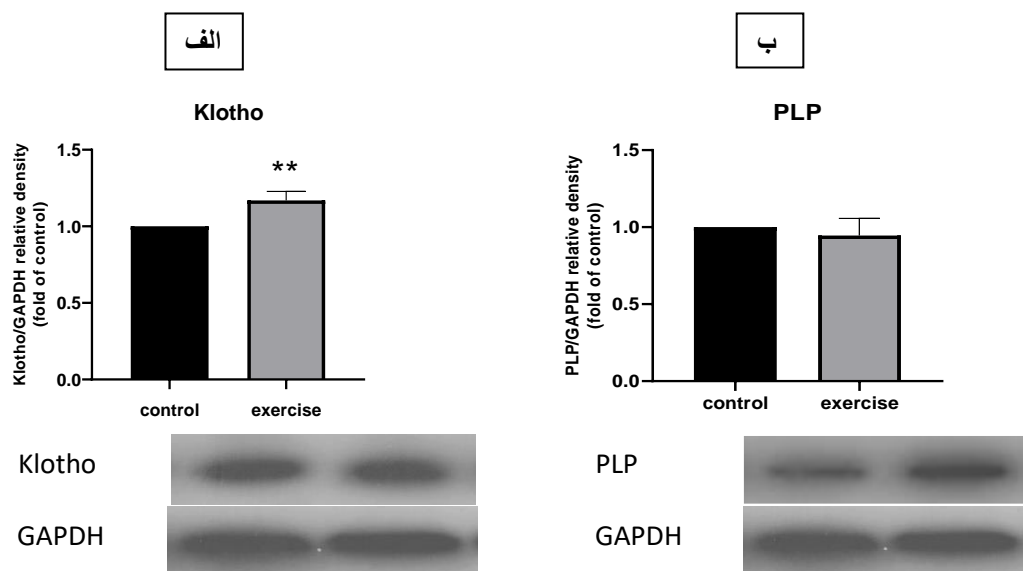
پروتئین Bio-Rad (اندازه گیری در طول موج ۵۹۵ نانومتر) اندازه گیری و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. هموزنه به نسبت ۱:۱ با نمونه برداری بافر به دست آمد (۵۰ میلی مولار تریس-هیدروژن کلرید، $pH = 6.8$ سدیم دودسیل سولفات ۲٪، ۱۰٪ گلیسرول، ۵٪ بتا-مرکاپتواتانول و ۰.۰۵٪ بروموفنل آبی مخلوط شدند، سپس نمونه به مدت پنج 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 آکريل 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 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.



شکل ۲. الف) میانگین تغییرات گروهی در شدت باند کلوتو در مقابل GAPDH پس از هشت هفته HIIT در بافت مخچه. ب) میانگین تغییرات گروهی در شدت باند PLP در مقابل GAPDH پس از هشت هفته HIIT در بافت مخچه همراه با باند وسترن بلات $P < 0.01$ و $P < 0.05$ *

نتایج نشان داد که هشت هفته HIIT سبب افزایش کلوئو ($P < 0.01$) در بافت هیپوکامپ شد، اما غلظت PLP ($P = 0.04$) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تغییری نکرد (شکل ۳).

نتایج نشان داد که هشت هفته HIIT سبب افزایش کلوئو ($P < 0.01$) در بافت هیپوکامپ شد، اما غلظت PLP ($P = 0.04$) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل تغییری نکرد (شکل ۳).



شکل ۳. الف) میانگین تغییرات گروهی ($\pm SEM$) در شدت باند کلوئو در مقابل GAPDH پس از هشت 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 هشت هفته HIIT در بافت هیپوکامپ با نمایش وسترن بلات. $P < 0.01$ **

هوای متناوب سبب افزایش مقدار پروتئین و بیان mRNA کلوئو و نیز کاهش مقدار ROS در همه و مغز رت‌ها شد. با این همه، بر خلاف پژوهش حاضر، آنها تجزیه و تحلیل را در مناطق خاصی از مغز انجام ندادند (۱۷). افزون بر این، پژوهش حاضر در بازه زمانی کوتاه‌تری (هشت هفته) نتایج مشابهی را به دست آورد. در همین زمینه فرهمند و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تمرین HIIT به افزایش میزان کلوئو و PLP در بافت مخچه موش‌های سالم و مبتلا به بیماری ام اس منجر شد (۲۵، ۲۶). از این رو پژوهش‌های پیشین همبستگی بین کلوئو سرم و تمرین بی‌هوای را بررسی کرده و نشان داده‌اند که سطوح کلوئو در دوندگان سرعت (سطوح مشابه با افراد کم‌تحرك) کمتر از ورزشکارانی است که تمرین هوای انجام داده‌اند (۲۷). بر پایه چندین پژوهش انجام‌شده، سطح خونی کلوئو پس از ورزش هوای

بحث و نتیجه‌گیری

انجام فعالیت‌های ورزشی تأثیرات مثبتی بر عملکرد دستگاه عصبی دارد. یافته‌های پژوهشی پیشین نشان می‌دهد که افزایش آگزوژنز کلوئو می‌تواند سبب بهبود عملکرد الیگودندرست‌ها شود و روند میلین‌سازی را تسریع ببخشد (۴). در نتیجه کلوئو می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی برای بسیاری از بیماری‌های زوال عصبی قرار گیرد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان کلوئو و PLP (پروتئین‌های درگیر در فرایند میلین‌سازی) در بافت هیپوکامپ و مخچه بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته فعالیت ورزشی HIIT روی موش‌های C57BL/6 سبب افزایش معنادار کلوئو در بافت‌های هیپوکامپ و مخچه در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد. همسو با نتایج حاضر، نایچون و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ۴۸ هفته تمرین

می‌تواند به‌طور چشمگیری در ورزشکاران و افراد کم‌تحرک یا بیمار افزایش یابد (۲۸-۳۱). پژوهش حاضر داده‌های پیشین را تأیید می‌کند که کلوتو با تمرین 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 مهم‌اند. بنابراین گویا نوع مداخله تمرینی و مدت زمان پژوهش حاضر مناسب بوده که به افزایش چشمگیر کلوتو در دو ناحیه مغزی منجر شده است. افزون بر این، از آنجایی که نوروپاتی‌های هیپوکامپ در برابر فشار اکسایشی آسیب‌پذیرند (۳۲)، افزایش کلوتو پس از هشت هفته HIIT می‌تواند خواص محافظتی عصبی هیپوکامپ را افزایش دهد. روی هم‌رفته با توجه به اینکه پژوهش‌های اندکی در زمینه فعالیت ورزشی و تأثیر آن بر کلوتو در بافت مغز صورت گرفته است و بیشتر پژوهش‌های صورت گرفته مقدار سطوح کلوتو را در سرم و گردش خون اندازه‌گیری کرده‌اند، از این رو تحقیق حاضر نخستین پژوهشی است که درباره تأثیر فعالیت ورزشی HIIT بر مقدار کلوتو در بافت هیپوکامپ انجام شده است. همچنین پژوهش حاضر برای اولین بار تغییر غلظت پروتئین کلوتو را در پی فعالیت ورزشی در بافت‌های هیپوکامپ و مخچه مقایسه کرده است. با توجه به اینکه ورزش می‌تواند به‌عنوان یک عامل مثبت، الگوی بیان ژن و تغییرات فیزیولوژیکی را در هیپوکامپ و مخچه ایجاد کند که این تغییرات می‌تواند به بهبود عملکرد بدنی، حفظ سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها کمک کند.

از سوی دیگر، تأثیر فعالیت ورزشی HIIT سبب افزایش مقدار PLP در بافت مخچه شد، اما در هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل تغییری نکرد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، نشان داده شده است که موش‌هایی با سطوح بالای چربی که هفت هفته دویدن

داوطلبانه در نوار گردان را تکمیل کرده‌اند، میزان پروتئین‌های اصلی غشای میلین (PLP و MBP) در ناحیه لومبوساکرال را افزایش دادند (۲). همچنین نشان داده شده است که رژیم غذایی پرچرب و فعالیت ورزشی با فعال‌سازی AKT، SIRT1 و PGC-1 α می‌تواند سبب افزایش میلین‌سازی شده باشد. برناردس و همکاران (۲۰۱۶) همچنین افزایش پروتئین‌های PLP و MBP در نخاع را در پی شش هفته تمرین شنا در موش‌ها گزارش کردند (۳۳). همسو با پژوهش حاضر که هیچ تغییری در PLP هیپوکامپ نشان نداد، رافائلا و همکاران (۲۰۰۲) تأثیرات متفاوت ورزش حاد و مزمن را بر ژن‌های وابسته به پلاستیسیته در هیپوکامپ بررسی کردند (۳۴). آنها تغییرات نسبی بیش از ۱۰۰۰ ژن بیان‌شده در مغز پس از ورزش را تجزیه و تحلیل کردند و PLP یکی از پروتئین‌هایی بود که پس از فعالیت تغییر چشمگیری در بافت هیپوکامپ نداشت. گویا فعالیت مسیرهای بالادستی PLP از جمله کلوتو و نیز فعالیت مسیرهای AKT، SIRT1 و PGC-1 α که در پژوهش‌های پیشین به آن اشاره شده است، می‌تواند از دلایل افزایش PLP باشد.

به‌طور خلاصه، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا سبب افزایش سطح کلوتو در بافت‌های هیپوکامپ و مخچه شد. افزون بر این، در پی تمرین HIIT سطح PLP در بافت مخچه افزایش یافت، اما افزایشی در بافت هیپوکامپ دیده نشد. گویا پاسخ PLP به فعالیت ورزشی، الگوهای مختلفی از غلظت این پروتئین در مغز را نشان می‌دهد (هیپوکامپ در مقابل مخچه). مهم‌تر از همه، یافته‌های ما مبنایی مکانیکی برای بررسی کاربرد فعالیت ورزشی HIIT به‌عنوان یک هدف درمانی برای بیماری‌های عصبی و مغزی و ایده به تأخیر انداختن بالقوه روند پیری فراهم می‌کند. پیشنهاد می‌شود که پژوهش حاضر روی

منابع

- 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.
 - 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.
 - 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.
 - 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.
 - Kuro-o, M., Klotho as a regulator of oxidative stress and senescence. *Biol Chem*, 2008. 389(3): p. 233-41.
 - Yamamoto, M., et al., Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho. *J Biol Chem*, 2005. 280(45): p. 38029-34.
 - Ahmadi, M., et al., Multiple sclerosis influences on the augmentation of serum Klotho concentration. *J Neurol Sci*, 2016. 362: p. 69-72.
 - 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.
 - 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.
- موش‌های سالمند و موش‌های بیمار (بیماری‌های زوال عصبی) به‌منظور بررسی مزایای تمرین HIIT بر غلظت پروتئین‌های کلوتو و PLP و تأثیر آنها بر ساختار و عملکرد عصبی انجام گیرد. افزون بر این، اگرچه عدم امکان استفاده از آزمودنی‌های بیشتر و بررسی هر دو جنس نر و ماده از محدودیت‌های پژوهش حاضر به‌شمار می‌رود، با این همه، پیشنهاد می‌شود که سایر پروتئین‌های دخیل در میلین‌سازی (از جمله MBP، MOG و OSP) اندازه‌گیری شوند تا تأثیر افزایش کلوتو بر سایر پروتئین‌های دخیل در میلین‌سازی مشخص شود.
- ### تشکر و قدردانی
- بدین‌وسیله از همهٔ عزیزانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تقدیر و تشکر را داریم.
- ### حمایت مالی
- پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی نداشته است.
- ### مشارکت نویسندگان
- همهٔ نویسندگان در مفهوم‌سازی و طراحی پژوهش مشارکت داشتند. پیش‌نویس اولیه توسط معصومه الوندی نگارش شد. تهیه، گردآوری و تحلیل داده‌ها توسط معصومه الوندی، کیا سلیمی، فتنه فرهمند و مریم نورشاهی انجام گرفت. مریم نورشاهی و کیا سلیمی در بررسی و ویرایش مقاله مشارکت داشتند. همهٔ نویسندگان نسخهٔ نهایی را خواندند و تأیید کردند.
- ### تعارض منافع
- در این مقاله بین نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منفعی وجود ندارد.

10. Abraham, C.R. and A. Li, Aging-suppressor Klotho: Prospects in diagnostics and therapeutics. *Ageing Res Rev*, 2022. 82: p. 101766.
11. 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.
12. German, D.C., et al., Nuclear localization of Klotho in brain: an anti-aging protein. *Neurobiol Aging*, 2012. 33(7): p. 1483.e25-30.
13. Kuro-o, M., et al., Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*, 1997. 390(6655): p. 45-51.
14. Qiu, Y., et al., Exercise sustains the hallmarks of health. *J Sport Health Sci*, 2023. 12(1): p. 8-35.
15. 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.
16. Tan, S.J., et al., High-intensity physical exercise increases serum α -klotho levels in healthy volunteers. *J Circ Biomark*, 2018. 7: p. 1849454418794582.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Yool, D.A., et al., Myelin proteolipid proteins promote the interaction of oligodendrocytes and axons. *J Neurosci Res*, 2001. 63(2): p. 151-64.
21. 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.
22. Liu, P.Z. and R. Nusslock, Exercise-Mediated Neurogenesis in the Hippocampus via BDNF. *Front Neurosci*, 2018. 12: p. 52.
23. 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.
24. 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.
25. Farahmand, F., The Effect of High Intensity Interval Training Preconditioning on Klotho and TNF- α Female Mice with Multiple Sclerosis. *Journal of Applied Exercise Physiology*, 2019. 15(30): p. 15-29.
26. Farahmand, F., The Effect of 8 Weeks of high-Intensity Interval Training on Klotho, PLP and TNF- α Cerebellum Tissue Mice. *Journal of Sport Biosciences*, 2020. 12: p. 67-78.
27. 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.
28. 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.
29. Mostafidi, E., et al., Serum Klotho Levels in Trained Athletes. *Nephrourol Mon*, 2016. 8(1): p. e30245.
30. 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.
31. 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.
32. Wang, X. and E.K. Michaelis, Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front Aging Neurosci*, 2010. 2: p. 12.
33. 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. 63-73.
34. 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.