Journal of Sport and Exercise Physiology
Spring 2022/Vol.15/No.1/1-10

The effect of six weeks' progressive resistance training on hippocampus BDNF gene expression and serum changes of TNF-α in diabetic wistar rats

Zohreh Amrolahi [1], Seyed Mohsen Avandi [1*], Neda Khaledi [2]

1 Sport Science Department, Human Faculty, Semnan University, Semnan, Iran
2 Sport Physiology Department, Physical Education and Sport Sciences Faculty, Kharazmi University, Tehran, Iran

Original Article

Abstract

Purpose: Exercise is a powerful driver for reducing the complications of diabetes. The aim of the present study was to investigate the effect of progressive resistance training on the expression of brain-derived neurotrophic factor gene in the hippocampus and serum changes of TNF α in Wistar diabetic rats.

Methods: For this study, 36 rats weighing 160 ± 10 g were randomly divided into three groups of 12 diabetic (D), diabetic and progressive resistance training (DRT) and control (C) groups. STZ solution (50 mg / kg) was used to induce diabetes. Progressive resistance training protocol three days a week, each session consisting of four to nine sets of 110cm vertical ladders with 2cm stairs and 85 ° angles of 50%, 75%, 90% with 100% maximum load capacity. Animals were dissected 48 hours after training. Samples were extracted 48 hours after GTT test. The animals were dissected and transferred to the laboratory of the Endocrine and Metabolism Research Institute to measure BDNF gene expression. BDNF gene expression was evaluated using Real Time PCR technique.

Results: Results showed that resistance training increased (P = 0/001) BDNF gene expression and decreased (P = 0/002) TNF α expression. Hippocampal weight gain was also associated with increased BDNF gene expression.

Conclusion: resistance training can prevent hippocampal tissue analysis due to diabetes and is important in diabetic patients because of the positive role of the hippocampus on memory. TNF α expression was also decreased. Therefore, it is recommended to improve the physical health of diabetic patients.

Keywords: Diabetes, progressive resistance training, Inflammation, TNF- α, BDNF.

How to cite this article: Amrolahi Z, Avandi M, Khaledi N. The effect of six weeks' progressive resistance training on hippocampus BDNF gene expression and serum changes of TNF-α in diabetic wistar rats. Journal of Sport and Exercise Physiology 2022;15(1):1-10

*Corresponding Author; E-mail: m.avandi@semnan.ac.ir
DOI: 10.52547/joeppa.15.1.1

Received: 17/08/2020 Revised: 01/06/2021 Accepted: 18/06/2021

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
بهار ۱۴۰۱/ دوره ۱۵/ شماره ۱/ صفحه‌های ۱ -۱۰

تأثیر شش هفته تمرین مقاومتی فزاینده بر بیان ژن BDNF هیپوکمپ و تغییرات سرمی TNF-α در موش صحرایی دیابتی نر ویستار

زهره امرالهی[۱]، سید محسن آوندی[۱*]، ندا خالدی[۲]

۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۲ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

مقاله پژوهشی

چکیده

هدف: فعالیت ورزشی، محرکی قوی برای کاهش عوارض ناشی از دیابت است. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین مقاومتی فزاینده بر بیان ژن عامل نوروتروفیک مشتق از مغز در هیپوکمپ و تغییرات سرمی TNF-α در موش‌های صحرایی دیابتی نر ویستار بود.

روش‌ها: برای این پژوهش ۳۶ سر رت با میانگین وزنی ۱۰±۱۶۰ گرم به‌طور تصادفی در ۳ گروه دیابت (D)، گروه دیابت و تمرین مقاومتی فزاینده (DRT) و گروه کنترل (C) قرار گرفتند. به‌منظور القای دیابت از روش تزریق صفاقی محلول STZ (۵۰mg/kg) استفاده شد. پروتکل تمرین مقاومتی فزاینده ۳ روز در هفته و هر جلسه شامل ۴ تا ۹ ست بالا رفتن از نردبان عمودی به طول ۱۱۰ سانتی‌متر با فاصلهٔ پله‌های ۲ سانتی‌متر و زاویهٔ ۸۵ درجه با شدت ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت حمل بیشینه بار بود. استخراج نمونه‌ها ۴۸ ساعت پس از انجام آزمون GTT صورت گرفت. حیوانات تشریح و به‌منظور سنجش بیان ژن BDNF از تکنیک Real Time PCR استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد تمرین مقاومتی فزاینده، بیان ژن BDNF را افزایش (P=۰/۰۰۱) و بیان TNF-α را کاهش (P=۰/۰۰۲) داده است. همچنین افزایش وزن هیپوکمپ همراه با افزایش بیان ژن BDNF مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تمرین مقاومتی می‌تواند از تحلیل بافت هیپوکمپ بر اثر دیابت جلوگیری کند و به‌دلیل نقش مثبت هیپوکمپ بر حافظه، در افراد دیابتی حائز اهمیت است. همچنین بیان TNF-α کاهش یافت. بنابراین برای بهبود شرایط جسمی افراد دیابتی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: التهاب، تمرین مقاومتی فزاینده، TNF-α، BDNF.

* نویسنده مسئول: رایانامه: m.avandi@semnan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۷ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۸

مقدمه

دیابت شایع‌ترین ناهنجاری متابولیکی غدد درون‌ریز بدن است که با هیپرگلایسمی ناشی از نقص در ترشح و عملکرد انسولین مشخص می‌شود (۱، ۲).

دیابت دو نوع اصلی دارد (۲)؛ در دیابت نوع ۱، تخریب سلول‌های بتا در پانکراس به نقص تولید انسولین منجر می‌شود و در نوع ۲، مقاومت پیش‌روندهٔ بدن به انسولین وجود دارد که در نهایت ممکن است به تخریب سلول‌های بتای پانکراس و نقص کامل تولید انسولین بینجامد (۲). در دیابت نوع ۲ مشخص است که عوامل ژنتیکی، چاقی و کم‌تحرکی نقش مهمی در ابتلای فرد دارند (۲). در دههٔ گذشته شواهدی از تأثیرات بیماری‌های متابولیکی مانند دیابت در دستگاه عصبی مرکزی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است (۲). مطالعات نورولوژیک و نوروفیزیولوژیک شواهد بیشتری را نشان می‌دهد که هر دو نوع دیابت با اختلالات عملکردی و ساختاری مغز مرتبط است (۳).

سطوح عمومی TNF-α و IL-6 در دیابت بالا هستند و می‌توانند به‌طور مستقیم مقاومت به انسولین را افزایش دهند. بنابراین سطح بالای سایتوکین علاوه‌بر نشانگرهای دیابت، ممکن است نقش علمی در علت دیابت نوع ۲ داشته باشد (۳). تمایل بیماران دیابتی به سطوح بالاتری از التهاب عواقب جدی دارد. برای مثال، ۸۰ درصد افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ از بیماری عروق کرونر می‌میرند (۴). در تحقیقی نشان داده شده است که واسطه‌های التهابی مانند TNF-α در بیماران دیابتی با توسعه و پیشرفت مشکلات قلبی- عروقی همراه بوده است (۵). سایتوکین‌ها نقش مهمی در التهاب عمومی دارند و افزایش سطح آن‌ها موجب افزایش مقاومت به انسولین می‌شود. یک سازوکار بالقوه در دیابت که به آپوپتوزیس منجر می‌شود، تولید بیش از حد سایتوکین TNF-α است که نقش مهمی در التهاب و ایمنی دارد. تومور نکروز آلفا می‌تواند با باند شدن به TNFR1 (گیرندهٔ تومور نکروز آلفا) در قسمت death domain، بیان ژن‌های پیش آپوپتوزی را تحریک کند و سبب راه‌اندازی آپوپتوز شود (۴). تحقیقات بسیاری حاکی از ارتباط سطح BDNF پلاسما با شرایط التهابی است؛ به این صورت که افزایش IL-6 با کاهش غلظت BDNF در T2DM همراه است (۳). نشان داده شده است که فعالیت ورزشی سبب تضعیف التهاب در هیپوکمپ می‌شود (۵، ۶).

هیپوکمپ از حساس‌ترین مناطق مغز به اختلالات متابولیک از جمله دیابت است (۷).

BDNF، عامل نوروتروفین است که نقش مهمی در بلوغ، اتصال سیناپسی، ترمیم نورونی و شکل‌پذیری (پلاستیسیته) دستگاه عصبی مرکزی ایفا می‌کند. همچنین بر آسیب‌شناسی و درمان بیماری‌های عصب‌شناسی تأثیر دارد. گیرنده‌های سطحی سلولی BDNF مانند گیرندهٔ P75 که عضو خانوادهٔ گیرندهٔ عامل نکروز تومور است، و گیرندهٔ کیناز C (TrkB)، یک عضو خانوادهٔ کیناز مربوط به نورون‌ها، در عملکردهای متضاد روی نورون‌ها عمل می‌کنند (۴). BDNF به‌طور چشمگیری وزن بدن و جذب مواد غذایی را سرکوب می‌کند و انرژی و سوخت‌وساز گلوکز را افزایش می‌دهد. آزمایش‌های انجام‌گرفته روی حیوانات و تحقیقات بالینی نشان داده‌اند که BDNF نقش اصلی و مهمی در T2DM دارد (۳).

تمرینات مقاومتی، روش مؤثری برای افزایش هایپرتروفی عضلانی و کاهش آتروفی عضلانی در شرایط مختلف آتروفی است. در واقع، بیماران مبتلا به T2DM ظرفیت کاهش‌یافته برای سنتز پروتئین را نشان می‌دهند، شاید به‌دلیل کاهش فسفریلهٔ 4E-BP1 در عضله در پاسخ به پروتئین و انسولین باشد. تمرین مقاومتی درمان مؤثری در مقابل مقاومت آنابولیک در T2DM است (۸). تنظیم BDNF هیپوکامپ از طریق ورزش با واسطهٔ دستگاه‌های انتقال‌دهنده‌های عصبی، دستگاه‌های نوروآندوکرین و IGF-1 صورت می‌گیرد. ورزش از طریق تنظیم گونه‌های اکسیژنی فعال، نقش مهمی در محتوای پروتئینی، بیان BDNF، گیرندهٔ تیروزین کیناز B و پاسخ آدنوزین مونوفسفات حلقوی دارد و به عملکرد بهتر و افزایش نورون‌زایی منجر می‌شود. به‌نظر می‌رسد ورزش موجب تنظیم حالت اکسایش- احیا و افزایش مقاومت در برابر فشار اکسایشی و تسهیل ترمیم و بهبود عملکرد مغز می‌شود (۹). مطالعات انجام‌گرفته در مورد تمرینات ورزشی، به‌ویژه تمرین مقاومتی مزمن، روی بازسازی چربی بافت چربی سفید در انسان، کمیاب است. چربی سفید دو سایتوکین پرولاپلاسمی عمده را ترشح می‌کند: اینترلوکین-۶ و عامل ناباروری تومور- آلفا. چاقی با وضعیت التهاب مزمن پایین است که در پاتوژنز دیابت نوع ۲ دخالت دارد (۱۰) و سطوح گردش خون هر دو IL-6 و TNF-α

به‌طور معکوس مربوط به کنترل گلیسمی و حساسیت به انسولین است (۱۱). طبق آزمایش‌ها تمرین مقاومتی نیز به‌طور مزمن سبب ایجاد مسیر پیام‌رسانی می‌شود که التهاب عمومی را کاهش می‌دهد. مطالعات تأثیرات ضدالتهابی عمومی نشان می‌دهند که تمرین مقاومتی احتمالاً از طریق چربی سفید برای بهبود ترکیب بدن و کاهش التهاب مزمن پایین مزمن مرتبط با چاقی و دیابت نوع ۲ کمک می‌کند (۹). تمرین مقاومتی دوازده هفته‌ای سبب افزایش BDNF در افراد مسن‌تر می‌شود، اما پس از ۲۴ هفته بی‌تحرکی، کاهش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد که پایبندی به ورزش مداوم برای حفظ تأثیرات آموزش ناشی از BDNF در افراد مسن ضروری است (۶). استفاده از یک پروتکل تمرین مقاومتی مبتنی بر هایپرتروفی، باعث تحریک ضروری برای افزایش BDNF سرمی محیطی می‌شود (۱۲).

هشت هفته تمرینات استقامتی با شدت متوسط و بالا، اثر معناداری بر افزایش سطوح سرمی BDNF موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استروپتوزوتوسین دارد، با وجود این، تفاوت معناداری در تغییرات سطوح سرمی BDNF موش‌های صحرایی پس از هشت هفته تمرینات استقامتی با شدت‌های متوسط و بالا وجود ندارد، بدین‌معنا که این دو نوع تمرین تأثیرات یکسانی در افزایش BDNF موش‌های صحرایی دیابتی شده با استروپتوزوتوسین دارند. براساس شواهد اخیر فعالیت‌های ورزشی موجب پیشبرد شکل‌پذیری نورونی مغز می‌شود که با افزایش عوامل نوروتروفیک مانند BDNF ناشی از فعالیت ورزشی مرتبط است؛ با وجود این، سازوکار عملی آن تاکنون به‌طور کامل شناخته نشده است (۷). هرچند دربارهٔ BDNF به‌علت اهمیت زیاد، بسیار کار شده، نیاز است تا روش‌های دیگر نیز بررسی شود. در این پژوهش تلاش شده است تا نقش تمرین مقاومتی بر بیان ژن BDNF و میزان تغییرات TNF - α در موش‌های دیابتی بررسی شود.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی و آزمایشگاهی با مدل حیوانی است و با طرح پیش‌آزمون- پس‌آزمون انجام گرفته است. در این پژوهش تغییرات حاصل از اجرای شش هفته تمرین مقاومتی فزاینده بر بیان ژن BDNF هیپوکمپ موش دیابتی نر در سه گروه بررسی شد.

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش ۳۶ سر رت با میانگین وزنی ۱۰±۱۶۰ گرم به‌طور تصادفی در ۳ گروه دوازده‌تایی قرار گرفتند؛ گروه ۱: موش‌های دیابتی (D)؛ گروه ۲: موش‌های دیابت تمرین مقاومتی فزاینده (DRT)؛ گروه ۳: موش‌های کنترل (C). تمامی آزمودنی‌های حیوانی از مؤسسهٔ تحقیقات واکسن و سرم‌سازی پاستور و در شرایط جسمی سالم تحویل گرفته شدند، آزمودنی‌ها در شرایط مطلوب و یکسان از نظر دما، رطوبت، تهویه، چرخهٔ نور و روشنایی (۱۲-۱۲) نگهداری شدند؛ از مادهٔ خوراکی یکسان به‌صورت پلت استفاده کردند؛ این مادهٔ غذایی در کل مدت پژوهش از منبع یکسان خریداری شد و علاوه‌بر یکسان‌سازی از نظر سنی، در روز آغاز پروتکل فعالیت ورزشی از نظر وزن در دامنهٔ مطلوبی نیز یکسان‌سازی شدند.

روش اجرای پژوهش: موش‌های گروه دیابتی جهت اعمال چاقی به مدت چهار هفتهٔ اول تحت رژیم غذایی پرچرب شامل ۲۲ درصد چربی، ۴۸ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین تهیه‌شده از مؤسسهٔ سرم‌سازی رازی قرار گرفتند (۱۳). پس از دو هفته، به‌منظور القای دیابت در هر دو گروه از استرپتوزوتوسین به‌صورت تک‌دوز و به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به روش تزریق داخل‌صفاقی استفاده شد (۱۴). ۴۸ ساعت پس از تزریق، به‌منظور اطمینان از ایجاد دیابت در موش‌ها، قطره‌های خون از ورید دمی اخذ و میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر تعیین شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۵). در پژوهش حاضر به‌صورت دو هفته یک بار هم برای اطمینان مقدار قند خون کنترل می‌شد.

در پژوهش حاضر برای کار با موش‌های صحرایی از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی استرالیا استفاده شد. در تمامی مراحل کار، پژوهشگر همواره این موارد را موردنظر داشت. در ضمن این طرح در کمیتهٔ اخلاق پژوهشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی به شمارهٔ IR.SSRI.REC.1397.255 ثبت شده است.

پیش از شروع روش تمرینی اصلی در هفتهٔ چهارم که پس از القای دیابت بود، برای آشناسازی موش‌ها با روش تمرینی، به‌طور جداگانه موش‌های گروه دیابت تمرین مقاومتی به مدت یک هفته، ۳ جلسه بدون وزنه

و با کیسهٔ خالی ۸ گرمی تمرین کردند و بلافاصله پس از آشناسازی از هفتهٔ بعد وارد پروتکل تمرینی مخصوص خود شدند. پروتکل تمرین مقاومتی فزاینده شامل بالا رفتن از نردبان عمودی به طول ۱۱۰ سانتی‌متر با فاصلهٔ پله‌های ۲ سانتی‌متر و زاویهٔ ۸۵ درجه بود و به موش‌ها اجازه داده می‌شد که پس از هر صعود به مدت ۶۰ ثانیه استراحت کنند. جلسهٔ تمرینی شامل ۴ تا ۹ صعود از نردبان بود. در طول چهار صعود اولیه موش‌ها به‌ترتیب ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت حمل بیشینه بار قبلی خود را حمل کردند و پس از این چهار مرحله در هر صعود ۳۰ گرم به بار آن‌ها تا سر حد واماندگی اضافه می‌شد. این دورهٔ تمرینی ۳ روز در هفته و به مدت شش هفته انجام گرفت؛ برای گرم کردن موش‌ها پیش از تمرین پنج بار بدون وزنه از نردبان بالا می‌رفتند و پس از اتمام تمرین به‌صورت غیرفعال سرد کردن انجام می‌دادند. ۴۸ ساعت پس از اتمام تمرین، حیوانات تشریح شدند. بیان ژن BDNF با استفاده از تکنیک Real Time PCR ارزیابی شد.

روش‌های آزمایشگاهی: متغیرهای وابستهٔ مورد پژوهش BDNF و TNF-α هستند. موش‌ها پس از بی‌هوشی با کتامین ۱۰ درصد (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین ۲ درصد (۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و خون‌گیری مستقیم از قلب معدوم شدند. سپس بلافاصله بافت مغز داخل آب مقطر قرار داده شده و مغز به دو نیمکرهٔ راست و چپ تقسیم شد، سپس از قسمت نیمکرهٔ راست مغز با استفاده از قاشق هیپوکمپ جدا شد. پس از وزن کردن هیپوکمپ با ترازوی دیجیتال، بافت داخل کرایو قرار داده شده و پس از آن داخل کپسول ازت قرار داده شد تا زمانی‌که نمونه‌ها به دمای ۸۰- درجهٔ منتقل شود. سپس BDNF در بافت هیپوکمپ در آزمایشگاه بررسی شد و سرم خون برای بررسی TNF-α به آزمایشگاه پاتولوژی انتقال یافت.

سنجش میزان تغییرات بیان ژن‌ها: استخراج RNA (اسید ریبونوکلئیک) کل با استفاده از کیت ترایزول (Trizol) ساخت آلمان انجام گرفت. نمونه‌های ذخیره‌شده در فریزر منفی ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد در هاون سرد ریخته شد و به کمک نیتروژن مایع کوبیده شد تا به حالت پودری درآید. در مرحلهٔ بعدی به ویال‌های حاوی پودر نمونه‌های مورد بررسی ۵۰۰ میکرولیتر از محلول کیت ترایزول اضافه شد. سپس ویال‌ها ۳۰ ثانیه با استفاده از دستگاه ورتکس و ۳۰ ثانیه با دستگاه هموژنایز با ۲۵۰۰ دور در دقیقه یکنواخت شدند. نمونه‌های استخراج‌شده به‌منظور استفادهٔ بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه قرار داده شدند.

تعیین کمی و کیفی مقدار اسید ریبونوکلئیک استخراج‌شده: به‌منظور بررسی کمیت و کیفیت اسید ریبونوکلئیک استخراج‌شده از دو روش UV اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد. اسید ریبونوکلئیک استخراج‌شده با استفاده از دستگاه NanoDrop 2000 UV-Vis Spectrophotometer شرکت Thermo Scientific ساخت آمریکا غلظت‌سنجی شد.

تیمار اسید ریبونوکلئیک با آنزیم DNase I: پیش از ساخت cDNA، به‌منظور حذف آلودگی احتمالی اسید ریبونوکلئیک با دئوکسی ریبونوکلئیک اسید ژنومی، اسید ریبونوکلئیک استخراج‌شده توسط آنزیم DNase1 شرکت Fermentas ساخت آمریکا تیمار شد. براساس پروتکل شرکت، مواد، مقادیر و زمان هر کدام از مراحل درآمده است. برای تأیید عدم خردشدگی اسید ریبونوکلئیک پس از تیمار با DNase1، مقدار ۴۰۰ نانوگرم از اسید ریبونوکلئیک‌های تیمار داده‌شده با آنزیم، روی ژل آگارز ۲ درصد جداسازی شدند. همچنین به‌منظور کمیت‌سنجی با روش UV اسپکتروفتومتری، نمونه‌ها توسط دستگاه Epoch micro-volume Spectrophotometer System شرکت BioTek آمریکا و همچنین اسپکتروفتومتر نانو دراپ طیف‌سنجی شدند.

ساخت cDNA: برای ساخت cDNA، نمونه‌هایی براساس کم‌غلظت‌ترین اسید ریبونوکلئیک‌ها، رقیق شدند، به‌طوری‌که مقدار نهایی اسید ریبونوکلئیک در واکنش تقریباً ۸۸۰ نانوگرم بود. ساخت cDNA تک‌رشته‌ای با استفاده از کیت First Standard cDNA Synthesis (ساخت شرکت MXcell RNA) ساخت آمریکا و به این شرح انجام گرفت: مخلوط کردن اسید ریبونوکلئیک (۸۸۰ نانوگرم) با یک میکرولیتر آغازگر Oligo Dt (مخلوط A) و حرارت دادن در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، افزودن بافر واکنش (حاوی ۱۰ میلی‌مول مخلوط dNTP) ۴ میکرولیتر، DTT (۸ میلی‌مولار) ۱ میکرولیتر. آنزیم Diastar RTase، ۱ میکرولیتر به مخلوط A و در نهایت تنظیم حجم آب عاری از RTase تا حصول ۲۰ میکرولیتر حجم نهایی. مخلوط به‌دست‌آمده در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری

شد. پس از به پایان رسیدن واکنش، نمونه‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شدند.

طراحی آغازگرهای اختصاصی: با رعایت شرایط زیر برای ژن‌های زیر آغازگرهای رفت و برگشتی، به کمک نرم‌افزار (پرایمر ۳) و براساس توالی کدکنندهٔ ژن‌ها (CDS)، آغازگرهای انتخابی طراحی شد. براساس طول آغازگر، شاخص‌های طراحی آغازگر بین ۲۰ تا ۲۵ نوکلئوتید، نقطهٔ ذوب آغازگر بین ۵۸ تا ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد، درصد GC بین ۴۰ تا ۶۰ و طول قطعهٔ قابل تکثیر بین ۶۰ تا ۱۵۰ نوکلئوتید در نظر گرفته شد. توالی آغازگرهای طراحی‌شده به‌منظور ساخت به شرکت سیناکلون ارجاع داده شدند.

تحلیل و واکنش QRT-PCR: کمیت‌سنجی بیان ژن در آزمون QRT-PCR به‌صورت Relative انجام گرفت. پس از اندازه‌گیری میزان Ct، برای ژن‌های مورد مطالعه در نمونه‌های تحت بررسی، کارایی PCR با استفاده از نرم‌افزار (Ruijter et al ۲۰۰۹) LinRegPC، تعیین شد. سپس با استفاده از برنامهٔ اکسل میزان نسبت بیان (FC) یا طبق فرمول pfaffl محاسبه شد.

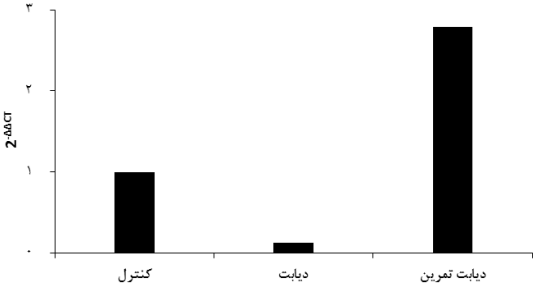
تحلیل آماری: از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و تنظیم جدول‌ها و از برنامه‌های Excel2013 و MSTATC و SPSS 24 و Graph pad prism6 برای تنظیم نمودارها و انجام محاسبات استفاده شد. پس از به‌دست آمدن میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه، به‌منظور بررسی صحت فرض‌های تجزیه و واریانس، آزمون طبیعی بودن توزیع خطاهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و آزمون بارتلت برای بررسی فرض یکنواختی واریانس‌ها انجام گرفت. لگاریتم در مبنای دو، در داده‌های بیان‌شده محاسبه شد. سپس تجزیهٔ واریانس و مقایسهٔ میانگین این داده‌ها با دو روش LSD و Duncan با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت و نتایج تجزیه‌وتحلیل شد (۱۶). از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ برای محاسبهٔ میزان افزایش یا کاهش بیان ژن هدف در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل استفاده شد. از آزمون فیشر (F-test) و M-ANOVA با سطح معناداری $P \leq ۰/۰۱$ استفاده شد. این آزمون برای ارزیابی یکسان بودن یا یکسان نبودن دو جامعه یا چند جامعه به‌کار می‌رود. همچنین از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

نتایج

جدول ۱. میزان بیان ژن BDNF و TNF-α در سه گروه

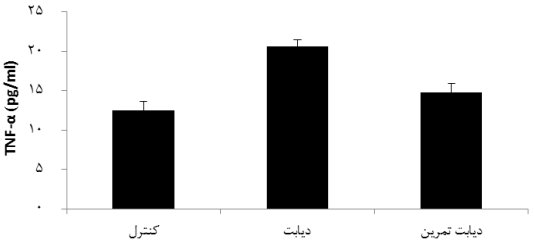
گروه	$2^{-\Delta\Delta CT}$	معناداری بیان ژن BDNF*	TNF-α	معناداری *TNF-α
دیابت	۰/۱۳	۰/۰۰۱	۲۰/۶۰	۰/۰۰۲
دیابت مقاومتی فزاینده	۲/۷۹		۱۴/۷۸	
کنترل	۱	۰/۰۰۱	۱۲/۵۲	۰/۳۶۵

*سطح معناداری P< ۰/۰۱



شکل ۱. نتایج حاصل از $2^{-\Delta\Delta CT}$ بیان ژن BDNF گروه‌های کنترل، دیابت، دیابت تمرین مقاومتی فزاینده

پژوهش حاضر بیان ژن BDNF در موش‌های صحرایی نر ویستار را که دارای مداخلهٔ دیابت بوده‌اند، بررسی می‌کند؛ برای اندازه‌گیری بیان ژن BDNF مورد بررسی در پژوهش حاضر از روش RT-PCR استفاده شد که تمرین مقاومتی فزاینده بر میزان بیان ژن BDNF در هیپوکمپ مغز اثر معناداری داشت. به‌طوری‌که در شکل ۱ نشان داده شده که براساس محاسبهٔ میزان $2^{-\Delta\Delta CT}$ گروه دیابت (۰/۱۳) و گروه دیابت مقاومتی (۲/۷۹) و با توجه به P بین دو گروه (۰/۰۰۱) و از آنجا که میزان ارزش P کمتر از ۰/۰۱ است، شواهد حاکی از معنادار بودن بین دو گروه است و فرض صفر که بیانگر عدم معناداری بیان ژن BDNF بین دو گروه است، رد می‌شود و در نتیجه بیان ژن BDNF که از جمله عوامل نوروتروفیک مغزی است و در بهبود حافظه مؤثر است، در گروه دیابتی تمرینی افزایش چشمگیری داشته است که در افراد دیابتی عاملی حیاتی به‌شمار می‌رود.



شکل ۲. تغییرات TNF-α سرمی در سه گروه پژوهش

با توجه به جدول ۱ بین دو گروه دیابت و دیابت تمرین مقاومتی تفاوت معناداری (P=۰/۰۰۲) مشاهده می‌شود.

جدول ۲. میانگین تغییرات گلوکز خون (گرم) پس از ناشتایی

گروه	پس از ناشتایی
کنترل	۷۹/۱ ± ۷/۱۴
دیابت	۴۴۴/۵ ± ۶۶/۰۱
دیابتی و تمرین مقاومتی	۳۷۸/۹۲ ± ۱۵۹/۹۰

با توجه به جدول ۲ شش هفته تمرین مقاومتی بر تغییرات قند خون ناشتایی موش صحرایی دیابتی نر ویستار اثر معنادار (P=۰/۰۱۳) دارد.

جدول ۳. وزن هیپوکمپ به بدن

گروه	کنترل	دیابت	دیابت مقاومتی
وزن نهایی بدن (گرم)	۲۹۱/۳۳±۴۱/۸۰	۲۲۸/۸±۳۶/۳۳۶	۲۵۸/۲۳۱±۳۴/۸۳۵
وزن هیپوکمپ (گرم)	۰/۰۴۲۹۳±۰/۰۱۲	۰/۰۳۹۳۱±۰/۰۰۹	۰/۰۴۴۶ ± ۰/۰۰۶
نسبت وزن هیپوکمپ به بدن	۰/۰۰۰۱۴۹۶ ± ۷/۰۷۵	۰/۰۰۰۱۷۴۸±۵/۲۴۶	۰/۰۰۰۱۵۰۸±۵/۴۷۴

*سطح معناداری P< ۰/۰۵

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی‌های صورت‌گرفته و نتایج تحلیل‌های آماری نشان دادند که تمرین مقاومتی فزاینده اثر معناداری بر بیان ژن BDNF دارد و میزان بیان TNF-α که عاملی پیش‌التهابی و آپوپتوزی است نیز، در اثر تمرین مقاومتی فزاینده، کاهش یافته است. با توجه به نتایج و بررسی تغییرات وزن موش‌های صحرایی، می‌توان نتیجه گرفت که گروه دیابت تمرین مقاومتی فزاینده به‌واسطهٔ وجود مداخلهٔ تمرین مقاومتی نسبت به گروه دیابت افزایش وزن بیشتری داشته است؛ بنابراین تمرین مقاومتی فزاینده سبب افزایش شکل‌پذیری سلول‌های عضلانی می‌شود. همچنین با بررسی تغییرات و با توجه به میزان وزن هیپوکمپ بین گروه دیابت تمرین مقاومتی فزاینده با وزن هیپوکمپ گروه دیابت تفاوت معنادار مشاهده می‌شود، ازاین‌رو به‌واسطهٔ مداخلهٔ تمرین مقاومتی فزاینده و افزایش نوروژنز سلول‌های عصبی و در نتیجه افزایش رشد عصبی وزن هیپوکمپ در گروه دیابت مقاومتی فزاینده نسبت به گروه دیابت، افزایش داشته است. بنابراین می‌توان گفت که احتمالاً تمرین مقاومتی فزاینده اثر نوروژنز را افزایش داده و سبب افزایش وزن هیپوکمپ حتی در شرایط دیابت شده است (۱۷).

BDNF از عوامل اصلی است که فعالیت ورزشی از طریق افزایش آن سبب تأثیرات مثبت بر مغز می‌شود. شواهد زیادی تأثیرات مثبت فعالیت بدنی و ورزشی را بر مغز نشان داده‌اند؛ این تغییرات با عملکرد شناختی و رفتاری نیز مرتبط است (۱۸). پایین‌ترین سطح BDNF، در افراد چاق مبتلا به دیابت دیده می‌شود (۱۹).

دیابت قندی با نقص شناختی در انسان و حیوانات همراه است. این نقایص با تغییرات نوروفیزیولوژیک و ساختاری در مغز همبسته است. در حیوانات دیابتی، اختلالات یادگیری فضایی، حافظه و شناخت همراه با تغییرات متمایز در هیپوکمپ، یک منطقهٔ مغزی کلیدی برای بسیاری از اشکال یادگیری و حافظه است و به‌ویژه در تغییرات هومئوستاز گلوکز حساس است. نوروژنز نقش مهمی در دیابت بازی می‌کند و سبب تولید نورون‌ها در هیپوکمپ می‌شود. باک در پژوهشی نقش ورزش در مغز را به‌طور عمومی بررسی کرد و به این نتیجه رسید که نوروژنز هیپوکمپ و عوامل نوروتروفیک افزایش یافته‌اند (۲۰). در پژوهشی تأثیر دویدن بر بهبود عملکرد عصبی دویدن و راه رفتن بررسی شد که افزایش در سلول‌های پیش‌ساز هیپوکمپ و میزان رشد عصبی مشاهده شد (۲۱).

به‌طور کلی، BDNF در مغز و اعصاب محیطی یافت می‌شود و نقش مهمی در حفاظت نورونی و نورون‌زایی دارد (۲۲). از آنجا ورزش توانسته بر هیپوکمپ موش‌های تأثیرگذار باشد و مدت و شدت تمرین از عوامل تأثیرگذار بر میزان تغییرات هیپوکمپ است،

احتمالاً این‌گونه برداشت می‌شود که تمرین مقاومتی فزاینده نیز می‌تواند بر افزایش حجم هیپوکمپ مؤثر باشد. احتمالاً می‌توان گفت که افزایش میزان BDNF نقش پروتئین‌های آپوپتوزی را کمرنگ می‌کند و سبب نورون‌زایی در سلول‌های عصبی می‌شود. طبق پژوهش‌های صورت‌گرفته فرایند پیری سبب کاهش حجم هیپوکمپ به‌طور متوسط ۱ تا ۲ درصد سالیانه در سالمندان می‌شود. پژوهشگران معتقدند تمرینات ورزشی ممکن است موجب تقویت ساختار هیپوکمپ در انسان شود (۹). پژوهش حاضر، نشان داد که یک دوره تمرین مقاومتی فزاینده بر میزان نسبت تغییرات وزن هیپوکمپ به وزن مغز موش‌های صحرایی دیابتی نقش مؤثری دارد.

نسبت وزن هیپوکمپ به وزن مغز در گروه دیابت نسبت به دیابت مقاومتی فزاینده کاهش داشته است، که همان‌طورکه گفته شد، نشان می‌دهد احتمالاً تمرین مقاومتی فزاینده سبب افزایش حجم سلول‌های عصبی در مغز و هیپوکمپ شده است. در نتیجه همان‌طورکه در مطالعات ثابت شده است، تمرین سبب افزایش فعالیت الکتریکی ناحیهٔ هیپوکمپ شده و بدون تغییر در میزان آپوپتوزیس سبب افزایش دانسیتهٔ نورونی هیپوکمپ می‌شود (۴).

در بررسی تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر سطوح سرمی و هیپوکمپی BDNF و انسولین، نتایج متناقض است، به‌طوری‌که نتایج برخی تحقیقات نشان می‌دهند فعالیت‌های ورزشی به افزایش قابل توجه BDNF منجر می‌شود (۶، ۱۲، ۲۳-۲۷). به‌طور مثال، دیوید چرچ و همکاران (۲۰۱۸) نقش BDNF در تحریک و تقویت قدرت، ناشی از تمرینات مقاومتی کوتاه‌مدت را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که غلظت BDNF پلاسما در فعالیت مقاومتی افزایش پیدا می‌کند (۲۳) که همسو با نتایج پژوهش حاضر است یا بدون تغییر شده است (۲۸-۳۳). به‌طور مثال سیفرت و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند سه ماه تمرین استقامتی افراد سالم جوان رهایش استراحتی BDNF را از مغز افزایش داد، اما تأثیری بر مقادیر پس از فعالیت ورزشی در سطوح پلاسمایی BDNF نداشت (۳۳) یا موجب کاهش چشمگیر سطوح سرمی و هیپوکمپی BDNF در موش‌های صحرایی و انسان‌ها می‌گردند. به‌طور مثال حسینی و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر چهار هفته تمرین مقاومتی بر سطح پلاسمایی BDNF در موش‌های صحرایی را بررسی و نتایج را این‌گونه بیان کردند که تمرین مقاومتی با استفاده از نردبان در طول چهار هفته، موجب کاهش سطوح BDNF پلاسما پس از تمرین می‌شود (۳۴) که مخالف با نتایج ماست. تفاوت در نوع تمرین (داوطلبانه یا اجباری)، شدت و مدت تمرین از جمله مواردی هستند که می‌تواند در زمرهٔ علل تفاوت در نتایج پژوهش‌ها باشد.

با توجه به بررسی‌های صورت‌گرفته، بیان ژن BDNF و TNF-α با همبستگی ۰/۳۴۷-، رابطهٔ معکوس را نشان می‌دهد، بنابراین هرچه BDNF افزایش یابد، میزان TNF-α کاهش می‌یابد که از همبستگی بالایی برخوردار است.

التهاب، نوعی پاسخ فیزیولوژیکی است که دستگاه ایمنی را علیه محرک‌های آسیب‌رسان داخلی و خارجی تحریک می‌کند. با وجود این التهاب شمشیر دولبه است؛ گاهی اوقات می‌تواند مضر واقع شود. التهاب به‌عنوان عاملی بسیار مهم در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های عصبی مورد توجه قرار گرفته است. التهاب عصبی می‌تواند ناشی از آسیب به خود بافت مغزی باشد یا از طریق التهاب محیطی القا شود (۳۵).

فعالیت ورزشی روی کاهش عوارض دیابت تأثیرات مفیدی دارد، می‌تواند سبب بهبود نشانگرهای التهابی شود. التهاب نقش مهمی در پاتوژنز دیابت دارد. سطوح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی (TNF-α، IL-1، IL_6) در افراد دیابتی افزایش می‌یابد (۳۶). فعالیت ورزشی در بخشی دیگر، ممکن است از طریق تنظیم افزایشی بیان نوروتروفین‌ها، تأثیرات تولید سلول‌های عصبی جدید بیان کند. این پروتئین‌ها موجب افزایش نوروژنز شده و با فراهم کردن شبکهٔ عصبی گسترده‌تر، موجب افزایش قابلیت احیا و بازسازی (رژنراسیون) سلول‌های عصبی می‌شوند. نشان داده شده است چند هفته ورزش مداوم سبب تنظیم افزایشی، سطوح ژنی BDNF و NGF می‌شود. تنظیم افزایشی این پروتئین‌ها پس از تمرین ورزشی با کاهش آسیب‌ها و اختلالات عصب‌شناسی همراه خواهد بود. علاوه‌بر آثار محافظتی- عصبی نوروتروفین‌ها، نشانه‌هایی وجود دارد که BDNF فعالیت ضداکسایشی نیز دارد. تمرین ورزشی در اثر افزایش فعالیت ضداکسایشی، با تنظیم افزایشی BDNF موجب حفاظت از نورون‌ها در برابر نوروپاتی دیابتی خواهد شد (۳۶).

با توجه به پژوهش‌ها در خصوص این موضوع و همچنین با نتایج به‌دست‌آمده، پژوهشگر احتمال می‌دهد که تمرین مقاومتی فزاینده اثر معناداری بر بیان ژن BDNF دارد و می‌تواند از تحلیل بافت هیپوکمپ بر اثر دیابت جلوگیری کند. به‌دلیل نقش مثبت هیپوکمپ بر حافظه، این نوع تمرین در افراد دارای دیابت حائز اهمیت است. از تأثیرات سازگاری تمرین‌های مقاومتی فزاینده کاهش عوامل آپوپتوزی است که گروه‌های دیابتی این پژوهش تحت تأثیر این سازگاری قرار گرفتند و دچار کاهش عوامل آپوپتوزی شدند. همچنین در تمرین مقاومتی فزاینده، میزان بیان TNF-α که عاملی پیش‌التهابی و آپوپتوزی است، کاهش یافته است. تمرین مقاومتی فزاینده بر حفظ میزان آمادگی جسمانی افراد دیابتی مؤثر است. با این حال پژوهش‌های بسیاری لازم است تا نتایج مذکور را به اثبات برسانند. با افزایش ترشح نوروتروفین‌ها و نورون‌زایی و کاهش فشار اکسایشی التهاب، می‌توان به آثار سودمند فعالیت ورزشی در ساختار و عملکرد مغز، به‌خصوص هیپوکمپ دیابتی که در معرض آسیب است، دست یافت. افراد مبتلا به دیابت می‌توانند برای بهبود عملکرد از این نوع تمرین استفاده کنند، اما باید دقت شود که در ابتدا از تمرینات سبک شروع کنند تا به سطحی از آمادگی برسند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد پژوهشگر است. از جناب دکتر سید محسن آوندی و سرکار خانم دکتر ندا خالدی به‌سبب همکاری در تدوین، اجرا و تکمیل مطالعات این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود. منابع مالی این پژوهش توسط پژوهشگر تأمین شده است.

منابع

1.Hendy AM, Tillman A, Rantalainen T, Muthalib M, Johnson L, Kidgell DJ, et al. Concurrent transcranial direct current stimulation and progressive resistance training in Parkinson's disease: study protocol for a randomised controlled trial. Trials. 326(1)17;2016.

2.Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care.2014;37(Supplement 1):S81-S90.

3.Bathina S, Srinivas N, Das UN. Streptozotocin produces oxidative stress, inflammation and decreases BDNF concentrations to induce apoptosis of RIN5F cells and type2 diabetes mellitus in Wistar rats. Biochemical and biophysical research communications. 2017;486(2):406-13

4.Eyileten C, Kaplon-Cieslicka A, Mirowska-Guzel D, Malek L, Postula M. Antidiabetic Effect of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Its Association with Inflammation in Type Diabetes2 Mellitus. Journal of diabetes research. 2017;.2017.

5.Lovatel GA, Elsner VR, Bertoldi K, Vanzella C, Moyses Fdos S, Vizuete A, et al. Treadmill exercise induces age-related changes in aversive memory, neuroinflammatory and epigenetic processes in the rat hippocampus. Neurobiol Learn Mem.2013;.101:94-102.

6.Rafiei S BY, Edalatmanesh MA. Effect of gallic acid and endurance exercise training on bdnf in a model of hippocampal degeneration. . Shefaye Khatam.2016;4(1):.1-6.

7.Perry BD, Caldow MK, Brennan-Speranza TC, Sbaraglia M, Jerums G, Garnham A, et al. Muscle atrophy in patients with Type2 Diabetes Mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. Exercise immunology review.2016;22:94.

8. Perry BD, Caldow MK, Brennan-Speranza TC, Sbaraglia M, Jerums G, Garnham A, et al. Muscle atrophy in patients with Type 2Diabetes Mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. Exerc Immunol Rev. 2016;22:94-109.

9.Pesta DH, Goncalves RL, Madiraju AK, Strasser B, Sparks LM. Resistance training to improve type2 diabetes: working toward a prescription for the future. Nutrition & metabolism. 2017;1491):.24

10.Pereira SS, Alvarez-Leite JI. Low-grade inflammation, obesity, and diabetes. Current obesity reports. 2014;3(4):.422-31

11.Pessin JE, Kwon H. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. Frontiers in endocrinology. 2013;.4:71

12.Mojtahedi S SF, Akbarnejad A, Salehian O. Effect of 8 weeks resistance training on bdnf and trkb in the hippocampus of adult male rats. Yasuj Med Sci Univ J. 2014;19(5):.380-9

13. Ming Zhang X-YL, Jing Li, Zhi-Gang Xu, and Li Chen. The Characterization of High-Fat Diet andMultiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type2 Diabetes RatModel. Experimental Diabetes Research. .2008

14.Rajasekar R MK, Rajasekaran N, Duraisamy G and Kanakasabapathi D. Effect of Alpinia calcarata on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. 2014;33(13):.1-13

15. Ozkan Y YO, Oztürk AI, Erşan Y. Effects of triple antioxidant combination (vitamin E, vitamin C and alpha-lipoic acid) with insulin on lipid and

cholesterol levels and fatty acid composition of brain tissue in experimental diabetic and non-diabetic rats. Cell Biol Int. 2006;29(754):.60
16.AA G. Changes in ACTN gene3 expression and fiber type composition in flexor hallucis longus muscle after eight weeks progressive resistance training in Sprague-Dawley rats. Tehran University Medical Journal TUMS Publications. 2013;71(1):.37-45.
17. S B. Role of exercise on the brain. J Exercise Rehab. 2016;12(380);385
18. Eyileten C, Kaplon-Cieslicka A, Mirowska-Guzel D, Malek L, Postula M. Antidiabetic effect of brain-derived neurotrophic factor and its association with inflammation in type 2 diabetes mellitus. Journal of diabetes research. 2017 Sep 14;2017.
19.Sung Soo Lee1) JHY, Sung Hwun Kang5), Jin Hee Woo1), Ki Ok Shin1), Kwi Beak Kim3), Su Youn Cho4), Hee Tae Roh4, Young Il Kim, PhD3)*. The Effects of 12 Weeks Regular Aerobic Exercise on Brain-derived Neurotrophic Factor and Inflammatory Factors in Juvenile Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus. The Society of Physical Therapy Science. 2014;.26
20.S B. Role of exercise on the brain. J Exercise Rehab. 2016;12(380):.385
21.J S. Evolutionary basis of human running and its impact on neural function. Front Sys Neurosci. 2016:.10
22.Goekint M, Roelands B, De Pauw K, Knaepen K, Bos I, Meeusen R. Does a period of detraining cause a decrease in serum brain-derived neurotrophic factor? Neurosci Lett. 201;486(3):.146-9
23.Domínguez-Sanchéz MA, Bustos-Cruz RH, Velasco-Orjuela GP, Quintero AP, Tordecilla-Sanders A, Correa-Bautista JE, et al. Acute effects of high intensity, resistance, or combined protocol on the increase of level of neurotrophic factors in physically inactive overweight adults: the brainfit study. Frontiers in physiology. 2018;.9:741
24.Fallah Mohammadi Z MR, Aslani J. Pretreatment effects of eriobotrya japonica extraction on malondialdehyde (mda), brain-derived neurotrophic factor (bdnf), and superoxide dismutase (sod) levels in hippocampus of rats with parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine following 12 weeks of voluntary exercise. Isfahan Med Sci J. 2014;32(274): .120-30
25.Tonoli C HE, Roelands B, Buyse L, Piacentini F, Berthoin S, et al. . BDNF, IGF-I, glucose and insulin during continuous and interval exercise in type 1 diabetesSSS. Int J Sports Med 2015;36(12):.955-9
26.Cho HC KJ, Lee NJ, Kim SY, Yoon NK. Effects of combined exercise on cardiovascular risk factors and serum bdnf level in mid-aged women. J Exe Nut Biochem 2014;18(1): .61-7.
27.Swift DL JN, Myers VH, Earnest CP, Smits JJ, Blair SN, et al. . The effect of exercise training modality on serum brain derived neurotrophic factor levels in individuals with type 2 diabetes. PLoS One. 2012;7(8):.1-7
28.Zar A HS, Amir Hosseini SA, Siavashi NS. The effects of eight weeks of endurance training on bdnf, insulin and insulin resistance in rats. Yasuj Med Sci Univ J. 2016;21(3):.238-48
29.Fallah Mohammadi Z NH. The effect of 4 weeks plyometric training on serum concentration of brain derived neurotrophic factor of active mal. Sport Physio.2013;20(5): .29-38
30.Vosadi E RA, Choobine S, Barzegar H, Borjianfard MS. Effect of endurance training and omega-3 supplementation in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in male adult rat hippocampus. RJMS. 2013;.50-(111)20.
31.Vosadi E BH, Borjianfard M. The effect of endurance training and high-fat diet in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the male adult rat hippocampus. Arak Med Sci Univ J. 2014;16(10):.84-92.
32.Hajizadeh Moghadam A FMZ, Sheikh P, Mirzaie S. The effect of voluntary wheel training and aluminum paradox extract on hippocampus brain derived neurotrophic factor of alloxan induced diabetic rats. IJDLD. 2012;11(4):.350-7
33.Seifert T, Brassard, P., Wissenberg, M., Rasmussen, P., Nordby, P.,, Stallknecht Bea. "Endurance training enhances BDNF release from the human brain". American journal of physiology – regulatory integrative and comparative physiology,. (2010)
34.Hosseini A PA, Karimi A, Hosseini B. The effect of 4 weeks resistance training on plasma levels of brain derived neurotrophic factor of rats. Biol Sci App Res Sport. 2015;6(3):42-51
35.shahin riyahi map, yaser kazem zadeh, hoseyn shirvani. Effect of Taurine Supplementation with Intense Intermittent Activity on Serum Concentration in TNF α and IL-6 Soccer Players. Sport Biosciences. 1391;.17:59-79.
36.Shamsaei N AH, Shamsi M. The Effect of a Continuous Training on Necrosis and Apoptosis Changes in the Hippocampus of Diabetic Rats. Journal of Ilam University of Medical Sciences.2015;25(1).