

## Effect of involuntary and voluntary exercise in an enrichment environment on astrogliosis reaction of hippocampus white matter in type 3 diabetic rat models

Masoud Jamshidi<sup>1</sup>, Mohammadreza Kordi<sup>2\*</sup>, Fatemeh Shabkhiz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Exercise Physiology Department, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran Alborz campus, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Exercise Physiology Department, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

### Original Article

#### Abstract

**Background and Purpose:** Alzheimer's disease (AD) is associated with decreases in neurons in several important areas for memory and learning in the brain, especially in the hippocampus. AD is a progressive brain disorder that causes gradual loss of memory, impaired learning ability, and connection problems with other people. Researchers have found that people with diabetes are 1.5 times more likely to develop AD. And suggests that Alzheimer's disease may indicate a specific type of diabetes in brain. Although this issue needs more research. Astrocytes are one of the most abundant types of glial cells that change and become hypertrophy in response to any damage to the central nervous system (CNS). An important feature of the glial reaction is the increased synthesis of GFAP protein, which is a protein that mediates cytoskeletal fibers and is the main determinant of the reactivation of astrocytes and cell damage. This phenomenon is known as the astrogliosis reaction and is one of the most common injuries in type 3 diabetes and AD. White matter changes in the hippocampus are one of the best biomarkers for recognizing the progression of Alzheimer's disease.

**Materials and Methods:** Twenty-five rats were randomly divided into five groups: 1-type 3 diabetes group (DM III), 2-healthy control group (Control), 3-type 3 diabetes and involuntary training (DM III + HIIT), 4-type 3 diabetes and voluntary activities in an enriched environment group (DM III + RE), and 5-the sham group (Sham). The activity method of the rats in the involuntary training group was performed as high intensity interval training and in accordance with the test of maximum training capacity by Wang et al. The rats of the voluntary training group were placed in the enriched environment for five days a week for two hours a day and simultaneously with the activity of the involuntary training group. GFAP was measured by DAB immunohistochemical method. Morris water maze test was used to evaluate Spatial memory and learning of animals. Shapiro-Wilk test was used to measure the normal distribution of data. One-way ANOVA and Tukey post-hoc test with a significance level of 5% was used to analyze the data. Statistical calculations were performed by GraphPad Prism software version 8, SPSS version 21, and Microsoft Excel software version 2010.

**Results:** The present study results showed that the type-3 diabetes control group had the highest amount of GFAP expression. This difference with all the research groups was statistically significant ( $P \leq 0.05$ ). The voluntary exercise group in the enriched environment and the involuntary exercise group had significantly lower GFAP than the type-3 diabetes control group. The voluntary exercise group had a lower GFAP expression percentage (23.67%) than the involuntary training group (26.01%). However, the difference between these two training groups was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The Morris water maze test showed that the healthy control and sham groups spent more significant time in the target area and this difference was statistically significant only with the type-3 diabetes group ( $P \leq 0.05$ ). Both exercise groups spent more time in the target area than the type-3 diabetic group, but this difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The voluntary exercise group spent more time in the target area and this group performed better in remembering information and spatial memory than the involuntary exercise group. Still, this difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** Voluntary group activities in an enriched environment may have greater effects in reducing GFAP in the hippocampus white tissue of the diabetic type 3 rats. However, involuntary high-intensity interval training was also able to reduce the astrogliosis reaction compared to the diabetic type 3 control group. The voluntary exercise group in the enriched environment performed better in the Morris water maze test than the involuntary exercise group so the time spent in the target area quadrant by them was higher than the involuntary high-intensity exercise group.

**Keywords:** Alzheimer's disease, GFAP, HIIT, Astrocyte.

How to cite this article: 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*. 2023;15(4):54-66.

\*Corresponding Author; E-mail: mrkordi@ut.ac.ir

DOI: 10.52547/joeppa.15.4.54

Received:08/05/2022

Revised:04/06/2022

Accepted:26/06/2022

## بررسی تأثیر دو شیوه تمرینی اجباری و اختیاری در محیط غنی سازی شده بر واکنش آستروگلیوزیس در بافت سفید هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۳

مسعود جمشیدی<sup>۱</sup>، محمدرضا کردی<sup>۲</sup>، فاطمه شب‌خیز<sup>۲</sup>

۱ گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی، پردیس البرز دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲ گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

### چکیده

### مقاله پژوهشی

**زمینه و هدف:** بیماری آلزایمر با کاهش نورون‌ها در چندین منطقه مهم برای حافظه و یادگیری در مغز، به‌ویژه در هیپوکامپ مرتبط است. آلزایمر اختلال مغزی پیشرونده‌ای است که به‌صورت تدریجی سبب از بین رفتن حافظه، اختلال در توانایی آموختن و برقراری رابطه با دیگران می‌شود. پژوهشگران با مشاهده میزان ابتلای یک‌ونیم برابری افراد دیابتی به آلزایمر، این دیدگاه را که بیماری آلزایمر ممکن است نشان‌دهنده نوع خاصی از دیابت در مغز باشد، مطرح کرده‌اند؛ هرچند در پذیرش این تقسیم‌بندی و عنوان‌بندی بین پژوهشگران و متخصصان بحث وجود دارد. آستروسیت‌ها از فراوان‌ترین انواع سلولهای گلیا هستند که در پاسخ به هر نوع آسیب در دستگاه عصبی مرکزی دچار تغییر و هایپرتروفی می‌شوند. مشخصه مهم واکنش گلیال، افزایش ساخت پروتئین GFAP است که یک پروتئین واسطه رشته‌ای اسکلت سلولی و اصلی‌ترین عامل مشخص‌کننده واکنشی شدن آستروسیت‌ها و آسیب‌های سلولی است. این پدیده به‌عنوان واکنش آستروگلیوزیس شناخته شده است و از آسیب‌های رایج در دیابت نوع ۳ و آلزایمر به‌شمار می‌رود. براساس گزارش‌ها تغییرات بافت سفید در هیپوکامپ از بهترین نشانگرهای زیستی برای شناخت پیشرفت بیماری آلزایمر است.

**مواد و روش‌ها:** ۲۵ سر موش صحرایی به‌صورت تصادفی به پنج گروه ۱، گروه کنترل دیابت نوع ۳، ۲، گروه کنترل سالم، ۳، گروه دیابت نوع ۳ و تمرین اجباری، ۴، گروه دیابت نوع ۳ و تمرین اختیاری در محیط غنی‌سازی شده و ۵، گروه شم تقسیم شدند. روش فعالیت موش‌ها در گروه تمرین اجباری به‌صورت تمرین تناوبی شدید و مطابق با آزمایش بیشترین ظرفیت تمرینی وانگ و همکاران (۲۰۱۷) انجام گرفت. موش‌های گروه تمرین اختیاری پنج روز در هفته به مدت دو ساعت در روز و همزمان با فعالیت گروه تمرین اجباری در محیط غنی‌سازی شده قرار داده شدند. GFAP به روش ایمونوهیستوشیمیایی DAB سنجیده شد. برای ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی حیوانات از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. به‌منظور سنجش توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنوا یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معناداری ۵ درصد استفاده شد. تحلیل‌های آماری و ترسیم نمودارها به‌وسیله نرم‌افزار گراف پد پریزم نسخه ۸، SPSS نسخه ۲۱ و نرم‌افزار مایکروسافت اکسل نسخه ۲۰۱۰ انجام گرفت.

**نتایج:** نتایج نشان داد که گروه کنترل دیابت نوع ۳ دارای بیشترین مقدار بیان GFAP بوده و این تفاوت با تمام گروه‌های پژوهشی معنادار است ( $P \leq 0/05$ ). گروه تمرین اختیاری در محیط غنی و گروه تمرین اجباری پرشدت به‌صورت معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت نوع ۳ میزان GFAP کمتری داشتند ( $P \leq 0/05$ ). در مقایسه این دو شیوه تمرینی با یکدیگر، گروه تمرین اختیاری در محیط غنی‌سازی شده دارای میانگین پایین‌تری از درصد بیان GFAP ( $23/67\%$ ) نسبت به میانگین گروه تمرین اجباری ( $26/01\%$ ) بود. با این حال تفاوت بین دو گروه تمرینی از نظر آماری معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). آزمون ارزیابی حافظه فضایی ماز آبی موریس نشان داد که گروه کنترل سالم و شم مدت زمان بیشتری را در ناحیه هدف طی می‌کنند و این اختلاف فقط با گروه دیابت نوع ۳ معنادار بود ( $P \leq 0/05$ ). هر دو شیوه تمرینی عملکرد بهتری در زمان سپری شده در ناحیه هدف نسبت به گروه دیابت نوع ۳ داشتند، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). در مقایسه این دو شیوه تمرینی با یکدیگر، موش‌های گروه تمرینات اختیاری در محیط غنی‌سازی شده زمان بیشتری را در ناحیه هدف سپری کردند و عملکرد این گروه در به‌خاطرآوری اطلاعات و حافظه فضایی بهتر از گروه تمرین پرشدت اجباری بود، اما این اختلاف معنادار نبود ( $P > 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد فعالیت‌های گروهی اختیاری در محیط غنی‌سازی شده تأثیرات بهتری در کاهش GFAP در بافت سفید هیپوکامپ موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۳ خواهد داشت؛ هرچند تمرینات پرشدت اجباری نیز واکنش آستروگلیوزیس را نسبت به گروه کنترل دیابت نوع ۳ کاهش داد. گروه تمرین اختیاری در محیط غنی‌سازی شده، عملکرد بهتری در به‌خاطر آوردن اطلاعات در آزمون حافظه فضایی ماز آبی نسبت به گروه تمرین اجباری پرشدت داشتند، به نحوی که زمان سپری شده توسط آنها در چارک ناحیه هدف، بیشتر از گروه تمرین اجباری پرشدت بود.

**واژه‌های کلیدی:** آستروسیت، بیماری آلزایمر، پروتئین GFAP، تمرین پرشدت تناوبی.

\* نویسنده مسئول: رایانامه: mrkordi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۸

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۵

## مقدمه

دستگاه عصبی و در فرایندهایی مانند پلاستیسیته (تغییر شکل‌پذیری) سیناپسی و ایجاد سیناپس نیز ضروری هستند (۵). آستروسیت‌ها از فراوان‌ترین انواع سلول‌های گلیا هستند که در پاسخ به هر نوع آسیب در دستگاه عصبی مرکزی دچار تغییر و هایپرتروفی می‌شوند. این پدیده به‌عنوان واکنش گلیوزیس یا آستروگلیوزیس شناخته شده است و از آسیب‌های رایج در دیابت نوع ۳ محسوب می‌شود (۶). مشخصه مهم واکنش گلیال، افزایش ساخت GFAP (Glial fibrillary acidic protein) است که یک پروتئین واسط رشته‌ای اسکلت سلولی و اصلی‌ترین عامل مشخص‌کننده واکنشی شدن آستروسیت‌هاست (۷). به‌ویژه در کالبدشکافی مغز بیماران آلزایمری پس از مرگ، تجمع عوامل التهابی و افزایش گلیوزیس و GFAP به‌راحتی قابل مشاهده بود (۸). نتایج تحقیق کولیت و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد حجم هیپوکامپ در مغز بیماران آلزایمری نسبت به افراد سالم ۳۲ درصد کاهش یافته است (۹). بیشتر پژوهش‌های انجام‌گرفته در AD روی ناحیه خاکستری مغز صورت گرفته است. هرچند آتروفی ماده خاکستری در هیپوکامپ از تغییرات ساختاری در مراحل اولیه AD است، اما چندین تحقیق نشان داده‌اند که تغییرات بافت سفید از بهترین نشانگرهای زیستی برای شناخت پیشرفت AD است (۱۰-۱۴). درمان‌های دارویی حاضر برای AD فقط تسکین‌دهنده بیماری هستند و هیچ‌یک از داروهای مورد تأیید کنونی پیشرفت بیماری را کند یا متوقف نمی‌کند (۱۵). بنابراین نقش ورزش و فعالیت بدنی و همچنین اصلاح سبک زندگی در روند این بیماری مورد توجه پژوهشگران است.

براساس گزارش انجمن جهانی آلزایمر در هر ۳ ثانیه یک نفر در دنیا به زوال عقل مبتلا می‌شود و پیش‌بینی می‌شود جمعیت مبتلا به بیماری آلزایمر (Alzheimer's disease) تا سال ۲۰۴۰ میلادی به ۸۰ میلیون نفر در سرتاسر جهان برسد (۱). AD اختلال مغزی پیشرونده‌ای است که به تدریج موجب از بین رفتن حافظه، اختلال در توانایی آموختن، قضاوت کردن، استدلال کردن و برقراری رابطه با دیگران می‌شود. هرچند سازوکارهای درگیر در کاهش حافظه و عوامل شناختی در بیماری آلزایمر هنوز مورد بحث پژوهشگران است، بیشتر پژوهش‌ها، این بیماری را با کاهش نورون‌ها در چندین منطقه مهم برای حافظه و یادگیری در مغز به‌ویژه در هیپوکامپ مرتبط می‌دانند (۲). براساس گزارش‌ها، دیابت و چاقی مفرط در میان شناخته‌شده‌ترین عوامل خطرزای ابتلا به آلزایمر قرار دارند (۳). اخیراً پژوهشگران با مشاهده میزان ابتلای یک‌وونیم برابری افراد دیابتی به آلزایمر این دیدگاه را که بیماری آلزایمر ممکن است نشان‌دهنده نوع خاصی از دیابت در مغز باشد، مطرح کرده‌اند. با توجه به وجه اشتراک در سازوکارهای سلولی-مولکولی در میان دیابت و آلزایمر در مغز و همچنین مقاومت انسولین مرتبط با نقص یا کاهش حافظه و عوامل شناختی، اصطلاح دیابت نوع ۳ برای بیماری آلزایمر پیشنهاد شده است (۴)؛ هرچند در پذیرش این تقسیم‌بندی و عنوان‌بندی بین پژوهشگران و متخصصان بحث وجود دارد و نیازمند مطالعات بیشتری است. در دستگاه عصبی مرکزی نورون‌ها به‌وسیله تعداد زیادی از سلول‌های گلیال احاطه شده‌اند. سلول‌های گلیا در رشد و توسعه

نگهداری شدند. تمامی موش‌ها به صورت تصادفی به پنج گروه ۱. گروه کنترل دیابت نوع ۳ (DM III)، ۲. گروه کنترل سالم (Control)، ۳. گروه دیابت نوع ۳ و تمرین اجباری پرشدت (DM III + HIIT)، ۴. گروه دیابت نوع ۳ و تمرین اختیاری در محیط غنی‌سازی شده (DM III + RE)، و ۵. گروه شم (Sham) تقسیم شدند. همچنین راهنمای کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس راهنمای کمیته اخلاق دانشگاه تهران صورت پذیرفت.

**روش اجرای پژوهش:** روش تمرین اجباری پرشدت: روش تمرینی موش‌ها در گروه تمرین اجباری به صورت تمرین تناوبی شدید (HIIT) بود و مطابق با آزمایش بیشترین ظرفیت تمرینی وانگ و همکاران (۲۰۱۷) انجام گرفت (۲۱). این روش تمرینی بدین صورت بود که ابتدا موش‌ها با سرعت ۸ متر بر دقیقه به مدت دو دقیقه روی نوارگردان شروع به دویدن کردند. پس از هر دو دقیقه، سرعت ۱ متر در دقیقه افزایش یافت و این سرعت تا زمانی ادامه پیدا کرد که موش‌ها نتوانند افزایش سرعت را بیش از ۱۰ ثانیه متوالی تحمل کنند. برای تعیین میانگین سرعت بیشینه بالاترین سرعت و مدت زمان اجرا ثبت شد. آزمون ظرفیت بیشینه تمرینی در هفته‌های ۰، ۲، ۴ و ۶ انجام گرفت. این برنامه تمرینی به صورت پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام گرفت که روش آن در جدول ۱ نشان داده شده است. موش‌های گروه کنترل سالم، کنترل دیابت نوع ۳ و گروه شم نیز پنج روز در هفته و روزانه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه به منظور یکسان‌سازی شرایط روی نوارگردان خاموش قرار گرفتند.

روش تمرین اختیاری در محیط غنی‌سازی شده: میزان مدت زمان قرارگیری موش‌ها در محیط غنی‌سازی شده پس از پایلوت یک جلسه آزمایشی و تحلیل برای یافتن میزان فعالیت مناسب موش‌ها در محیط مشخص شد. حیوانات پنج روز در هفته به مدت دو ساعت در روز و همزمان با فعالیت گروه تمرین اجباری در محیط غنی‌سازی شده قرار داده شدند. طراحی فضای محیط غنی‌سازی شده همانند محیط‌های ورزشی با انواع وسایل و محرک‌های تعادلی، تمرینات مقاومتی و هوازی طراحی شد و این تجهیزات شامل نردبان عمودی و افقی، انواع توپ‌های صدادار، چرخ‌گردان، سرسره، طناب، لوله و سایر ادوات ورزشی بود (شکل ۱). اندازه قفس طراحی شده و شرایط رطوبت

براساس پژوهش‌های انجام‌گرفته، نوع تمرینات ورزشی و فعالیت بدنی تأثیرات فیزیولوژیکی متفاوتی را به همراه دارد (۱۶، ۱۷). نشان داده شده است که فعالیت ورزشی، محرکی قوی برای کاهش عوارض ناشی از دیابت در هیپوکامپ جوندگان است (۱۸). نادری و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که شش هفته تمرین پرشدت اجباری در موش‌های آلزایمری شده سبب بهبود عوامل شناختی و کاهش تجمع بتا آمیلوئیدها و عوامل التهابی در هیپوکامپ می‌شود (۱۹). نتایج پژوهش بناکوئیس و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد فعالیت بدنی اختیاری به مدت سه ماه در محیط غنی‌سازی شده موجب بهبود عوامل آسیب‌شناسی و ریخت‌شناسی آستروسیت‌ها نسبت به گروه کنترل در موش‌های آلزایمری می‌شود (۲۰). با توجه به اینکه نشان داده شده است که GFAP در آسیب‌های دستگاه عصبی مرکزی به ویژه در AD و دیابت نوع ۳ بیش از حد بیان می‌شود و همچنین به علت نبود اطلاعات و پژوهش مناسب در مورد اثر تمرینات ورزشی بر این عامل مهم آستروگلیوزیس در این جوامع، پژوهش حاضر با رویکرد بررسی اثر تمرینات اجباری پرشدت و اختیاری در محیط غنی‌سازی شده بر بیان پروتئین GFAP در بافت سفید هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۳ انجام گرفت.

### روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی با شیوه حیوانی و با طرح پس‌آزمون صورت گرفته است. در این پژوهش تغییرات حاصل از هشت هفته دو شیوه تمرینی اجباری پرشدت تناوبی و اختیاری در محیط غنی‌سازی شده روی عامل آستروگلیوزیس GFAP در بافت سفید هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۳ سنجیده شده است.

**نمونه‌های پژوهش:** تمامی مراحل پژوهش در مرکز پژوهشی هیستونوتک انجام گرفت؛ بدین صورت که ۲۵ سر موش صحرایی نر هشت هفته‌ای از نژاد ویستار و با وزن تقریبی ۲۵۰-۳۵۰ گرم از مؤسسه پاستور ایران تهیه شد. سپس این موش‌ها به اتاق ویژه نگهداری موش و جوندگان این مرکز انتقال داده شدند. در طول انجام پژوهش تمامی حیوانات در شرایط کنترل شده (دمای  $24 \pm 1$  سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰٪ و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و همچنین با دسترسی آزاد به آب و غذا



نشان می‌دهد. برای انجام این آزمایش از تانک آب دایره‌ای با قطر ۱۸۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر که با آبی با عمق ۲۵-۳۰ سانتی‌متر و دمای  $25 \pm 2$  سانتی‌گراد پر شده است، استفاده شد. یک سکوی نجات با قطر ۱۰ سانتی‌متر و ۱ سانتی‌متر زیر سطح آب، در یکی از چهار چارک قرار داشت؛ گراد این سکو وسیله‌ای برای فرار حیوان از آب است. حرکات و رفتار حیوان به وسیله دوربینی که در ارتفاع دومتری بالای ناحیه مرکزی مخزن قرار گرفته است، ردیابی و کنترل شد و اطلاعات در رایانه ذخیره شده و توسط نرم‌افزار EthoVision تحلیل شد. بیشترین زمانی که حیوان برای پیدا کردن سکو در اختیار دارد، ۶۰ ثانیه است. در صورتی که حیوان در این مدت سکو را پیدا نمی‌کرد، با دست پژوهشگر به سمت سکو هدایت می‌شد. سپس به مدت ۳۰ ثانیه روی سکو قرار می‌گرفت تا با توجه به علامت‌های محیطی نصب شده بتواند محل سکو را به حافظه بسپارد. این آزمون به مدت پنج روز و در روزهای آموزش، روزانه چهار بار با فاصله ۱۰ دقیقه تکرار شد. در هر بار آموزش موش‌ها به صورت تصادفی از یکی از هشت نقطه ژئوگرافیک مخزن به داخل آب رها شدند. در این مراحل روند یادگیری حیوان براساس مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده برای یافتن سکو سنجیده شده و به وسیله نرم‌افزار تحلیل شد. برای آزمون به خاطر آوری یک روز پس از آخرین آموزش، حافظه فضایی حیوانات از طریق آزمون ۶۰ ثانیه‌ای ارزیابی شد؛ بدین صورت که پس از برداشتن سکو، موش به صورت تصادفی از یکی از جهات درون ماز رها می‌شد. این آزمایش بر این اساس است که با فرض اینکه حیوان در مراحل آموزش محل سکو را به حافظه سپرده باشد، باید در مرحله آزمایش بیشترین زمان را در ربع محل قرارگیری سکو و ناحیه هدف سپری کند.

فرایند تهیه بافت و قالبگیری: به منظور نگهداری سلول‌ها و بافت‌های بدن در حالت مشابه و نزدیک به حالت زنده، پس از جدا کردن نمونه‌ها به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در محلول فرمایین ۱۰ درصد قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها توسط الکل اتیلیک آبیگری شدند. پس از آبیگری نمونه‌ها در زایلول قرار گرفت تا از پارافین برای سخت شدن و آماده‌سازی بافت‌ها برای قالبگیری و برش بافتی استفاده کرد.

سنجش GFAP به روش ایمونوهیستوشیمیایی DAB:

و دمای محیط براساس استاندارد کنوانسیون اروپا برای حمایت از حیوانات مهره‌دار برای اهداف آزمایشگاهی صورت گرفت (۲۲). ابعاد قفس به صورت مکعب مربع با طول و عرض ۱ متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر بود و طراحی دیواره‌ها به صورتی بود که موش‌ها از آن به راحتی برای پیمایش عمودی استفاده کنند.

### روش‌های آزمایشگاهی: القای دیابت نوع ۳: موشها

پس از هفت روز نگهداری در محیط آزمایشگاه و سازگاری با محیط از طریق تزریق درون صفاقی زایلین و کتامین (به نسبت‌های ۶ به ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند (۲۳). سپس در دستگاه استرئوتاگس قرار داده شدند و پس از فیکس کردن آنها در خط مدیال در پشت سر موش‌ها یک برش ایجاد شد. پس از تمیز کردن سطح جمجمه و یافتن نقطه برگما به عنوان مرجع، با استفاده از اطلس Paxinos به روش استرئوتاگسیک، محل تزریق در دو طرف جمجمه نشانه‌گذاری شد. پس از علامت‌گذاری نقاط هدف، توسط دریل دندان پزشکی دو سوراخ روی جمجمه ایجاد شد. برای القای دیابت نوع ۳، ۱۰ میکرولیتر از محلول استرپتوزوتوسین با غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به وسیله میکروسرنج همیلتن به صورت دوطرفه به درون بطن‌های جانبی مغز با مختصات برحسب برگما:  $0/5$  - قدامی خلفی،  $1/2 \pm$  جانبی نسبت به خط وسط،  $3/2$  - پشتی شکمی تزریق شد (۲۴). برای تأیید دیابت نوع ۳ از آزمون تشخیصی ماز آبی موریس استفاده شد (۲۵)؛ بدین صورت که دو هفته پس از جراحی و القای دیابت نوع ۳، پس از اجرای روش آموزشی و آزمون ماز آبی، اختلاف بین زمان سپری شده در ناحیه هدف بین گروه‌های کنترل سالم و دیابتی نوع ۳ معنادار بود و این نتایج اختلال در یادگیری و حافظه فضایی حیوانات را که توسط استرپتوزوتوسین ایجاد شده بود، نشان داد. در گروه شم نیز همانند سایر گروه‌هایی که دیابت نوع ۳ در آنها القا شد، جراحی با روش یکسان ذکر شده صورت گرفت، اما به جای تزریق درون بطنی محلول استرپتوزوتوسین، با همان حجم و غلظت محلول سالین تزریق شد.

ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی: برای ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی حیوانات از ماز آبی موریس استفاده شد. این آزمون تأثیرات بهبودبخشی حافظه یا فراموشی آور داروها و نیز تأثیرات دستکاری‌های ژنتیکی وابسته به عملکرد هیپوکامپ در حیوانات را به خوبی

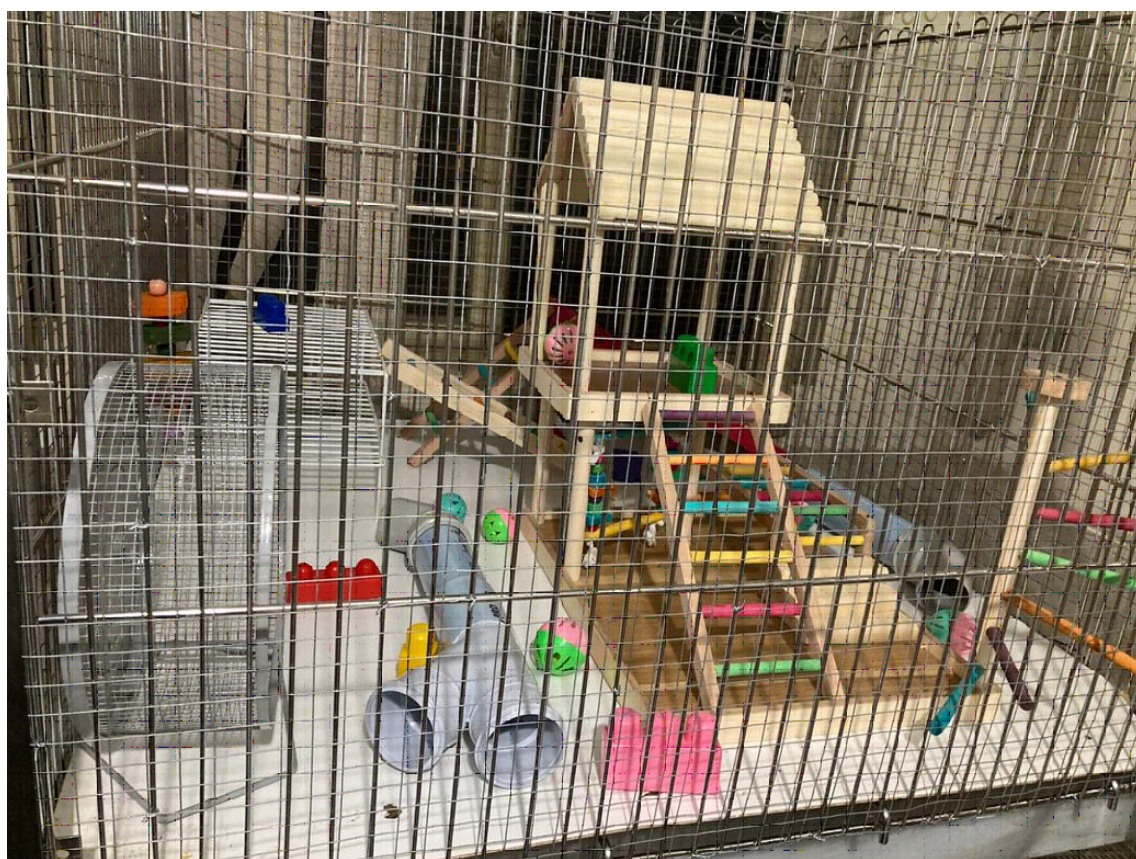
روی نمونه چسبانده شد. سپس عکسبرداری توسط میکروسکوپ نوری LABOMED انجام گرفت.

**تحلیل آماری:** به منظور توصیف و ارزیابی داده‌های پژوهش از آمار توصیفی به صورت میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. برای آزمون فرضیه‌ها، از آمار استنباطی استفاده شد. همچنین در ابتدای ارزیابی برای سنجش توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنوای یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح معناداری کوچک‌تر مساوی ۵ درصد استفاده شد. بررسی‌های آماری و ترسیم نمودارها به وسیله نرم‌افزار گراف پد پریزم نسخه ۸، SPSS نسخه ۲۱ و نرم‌افزار میکروسافت اکسل نسخه ۲۰۱۰ انجام گرفت.

نمونه‌ها با PBS شسته شده و آنتی‌بادی اولیه رقیق شده (۱ به ۱۰۰) روی نمونه‌ها ریخته شد و حدود یک ساعت در دمای محیط قرار گرفت. سپس نمونه‌ها سه مرتبه و هر بار به مدت پنج دقیقه با PBS شست‌وشو داده شدند. ۱۰۰ لانداز Linker (Diagnostic BioSystems-PV1۰۰۰D) به مدت ۱۵ دقیقه به نمونه‌ها اضافه شد. در ادامه سه مرتبه دیگر با PBS شست‌وشو داده شده و ۱۰۰ لانداز از محلول پلیمر (Diagnostic BioSystems-PV1۰۰۰D) به مدت ۳۰ دقیقه به نمونه‌ها اضافه شد. بار دیگر نمونه‌ها با PBS شسته شد و در ادامه ۱۰۰ لانداز از محلول DAB (ScyTek-ACV۹۹۹) به نمونه‌ها اضافه شد. پس از گذشت پنج دقیقه نمونه‌ها با آب شسته شده و به مدت ۱۰ ثانیه در داخل رنگ هماتوکسلین قرار داده شدند. پس از مراحل آبگیری و شفاف‌سازی نمونه‌ها، لامل

جدول ۱. روش تمرینات هوازی تناوبی گروه تمرین اجباری HIIT با شیب صفر درجه

سرد کردن	بدنه اصلی تمرین		گرم کردن	مؤلفه‌های تمرین
	تناوب باز یافت (۸ تناوب)	تناوب شدید (۹ تناوب)		
۵	۲	۱٫۵	۵	زمان تمرین (دقیقه)
۴۰٪	۴۵٪	۸۵٪	۴۰٪	شدت تمرین (Smax)

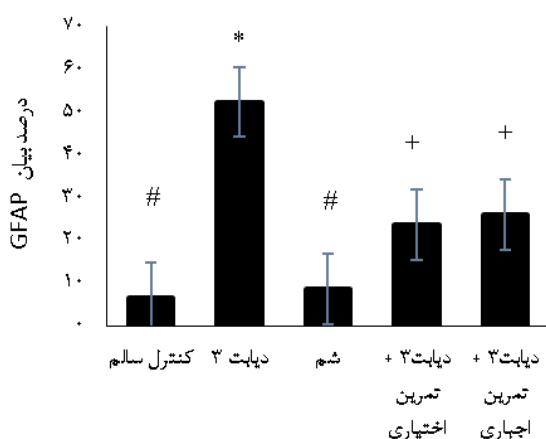


شکل ۱. محیط غنی‌سازی شده با انواع وسایل و محرک‌های تمرینی و فعالیت بدنی

## نتایج

گروه‌ها طی کردند (شکل ۴). این اختلاف از لحاظ آماری با گروه‌های کنترل سالم و شم معنادار بود ( $P \leq 0/05$ ). هرچند هر دو گروه تمرین اجباری پرشدت و اختیاری در محیط غنی سازی شده مسافت کمتری را نسبت به گروه دیابت نوع ۳ برای رسیدن به سکوی نجات طی کردند، اما این تفاوت آماری با این گروه معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). در مقایسه این دو نوع شیوه تمرینی با یکدیگر، میانگین مسافت طی شده گروه تمرین پرشدت برای رسیدن به سکوی نجات از گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده بیشتر بود، ولی این اختلاف از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P \leq 0/05$ ).

نتایج آزمون ۶۰ ثانیه‌ای به خاطرآوری اطلاعات نشان داد که گروه کنترل سالم و شم مدت زمان بیشتری را در ناحیه هدف نسبت به سایر گروه‌ها طی کرده‌اند (شکل ۵) و این اختلاف فقط با گروه دیابت نوع ۳ معنادار بود ( $P \leq 0/05$ ). هرچند هر دو شیوه تمرینی عملکرد بهتری در زمان سپری شده در ناحیه هدف نسبت به گروه دیابت نوع ۳ داشتند، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). در مقایسه این دو شیوه تمرینی با هم، حیوانات گروه تمرینات اختیاری در محیط غنی سازی شده زمان بیشتری را در ناحیه هدف سپری کردند و عملکرد آن‌ها در به خاطرآوری اطلاعات و حافظه فضایی بهتر از گروه تمرین اجباری پرشدت بود. با این حال

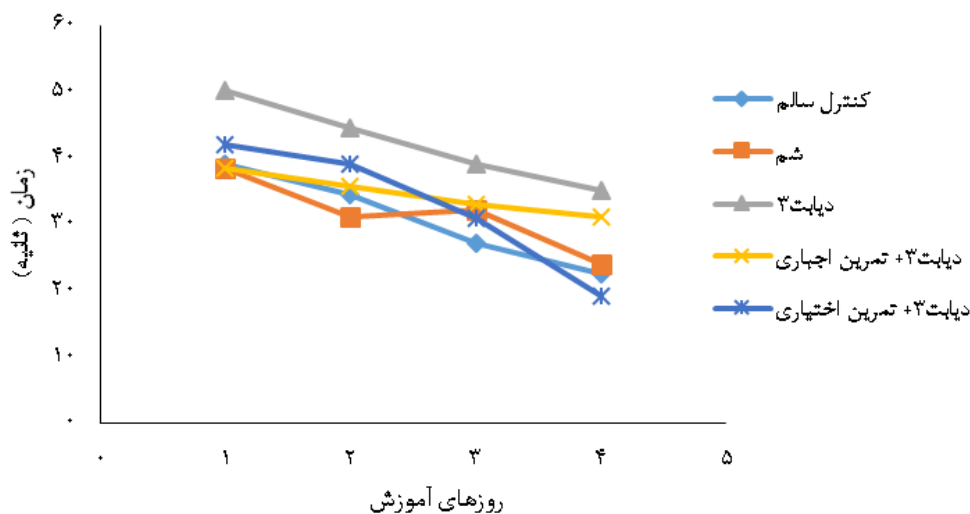


شکل ۲. میانگین درصد بیان پروتئین GFAP در بافت سفید هیپوکامپ گروه‌های پژوهشی با سطح معناداری ( $P \leq 0/05$ ) علائم روی هر ستون در صورت همنام بودن یعنی تفاوتی بین آن دو گروه وجود ندارد. در صورت غیر همنام بودن تفاوت معنادار را در آن گروه‌ها نشان می‌دهد. برای مثال تفاوت آماری بین گروه‌های کنترل سالم و شم با سایر گروه‌های مطالعه معنادار بود ( $P \leq 0/05$ ).

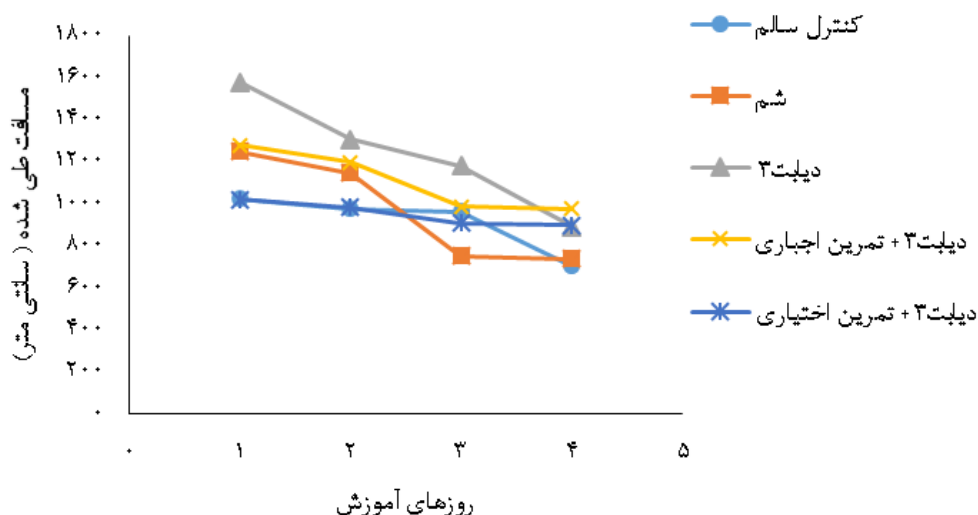
براساس نتایج پژوهش، درصد بیان پروتئین GFAP در بافت سفید هیپوکامپ در گروه کنترل سالم و گروه شم دارای کمترین مقدار نسبت به سایر گروه‌ها بود و از لحاظ آماری این تفاوت با سایر گروه‌ها معنادار است ( $P \leq 0/05$ ). نتایج نشان داد که گروه کنترل دیابت نوع ۳ دارای بیشترین مقدار بیان GFAP بوده و این تفاوت با تمام گروه‌های پژوهشی معنادار است ( $P \leq 0/05$ ). گروه تمرین اختیاری در محیط غنی و گروه تمرین پرشدت اجباریه صورت معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت نوع ۳ میزان GFAP کمتری داشتند ( $P \leq 0/05$ ). هرچند در مقایسه این دو شیوه تمرینی با یکدیگر گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده دارای میانگین پایین تری از درصد بیان پروتئین GFAP ( $23/67\%$ ) نسبت به میانگین گروه تمرین پرشدت اجباری ( $26/01\%$ ) بود. با این حال، این نوع فعالیت بدنی اختیاری در محیط غنی سازی شده عوارض آستروگلیوزیس ناشی از دیابت نوع ۳ را به مقدار بیشتری نسبت به تمرین اجباری انفرادی پرشدت کاهش داد (جدول ۱). از لحاظ آماری تفاوت میان دو گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده و گروه تمرین اجباری معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). تصاویر رنگ آمیزی با روش ایمونوهیستوشیمیایی DAB برای مقایسه بیان GFAP در بافت سفید هیپوکامپ تمامی گروه‌های پژوهشی در شکل ۶ نشان داده شده است.

نتایج ماز آبی نشان داد موش‌های گروه دیابت نوع ۳ در تمامی روزهای آموزش دیرتر از سایر گروه‌ها به سکوی نجات رسیدند (شکل ۳). این اختلاف با گروه‌های کنترل سالم و شم معنادار بود ( $P \leq 0/05$ ). هرچند هر دو گروه تمرین اجباری پرشدت و اختیاری در محیط غنی سازی شده زمان کمتری را نسبت به گروه دیابت نوع ۳ برای رسیدن به سکوی نجات طی کردند. اما تفاوت آماری با این گروه معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). در مقایسه این دو نوع شیوه تمرینی، میانگین زمانی گروه تمرین پرشدت برای رسیدن به سکوی نجات در مراحل آموزش، از گروه تمرین اختیاری در محیط غنی سازی شده کمتر بود. با این حال اختلاف بین دو گروه تمرینی معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). همچنین در تمام روزهای آموزش، موش‌های گروه دیابت نوع ۳ مسافت بیشتری را برای رسیدن به سکوی نجات نسبت به سایر

اختلاف بین این دو گروه تمرینی از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P > 0/05$ ).



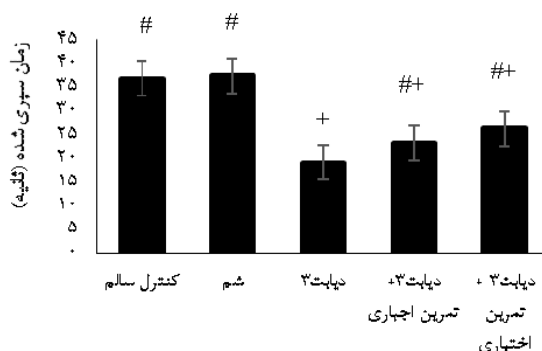
شکل ۳. منحنی یادگیری حیوانات طی روزهای آموزش، مقایسه مدت زمان پیدا کردن سکو در گروه‌های مورد بررسی



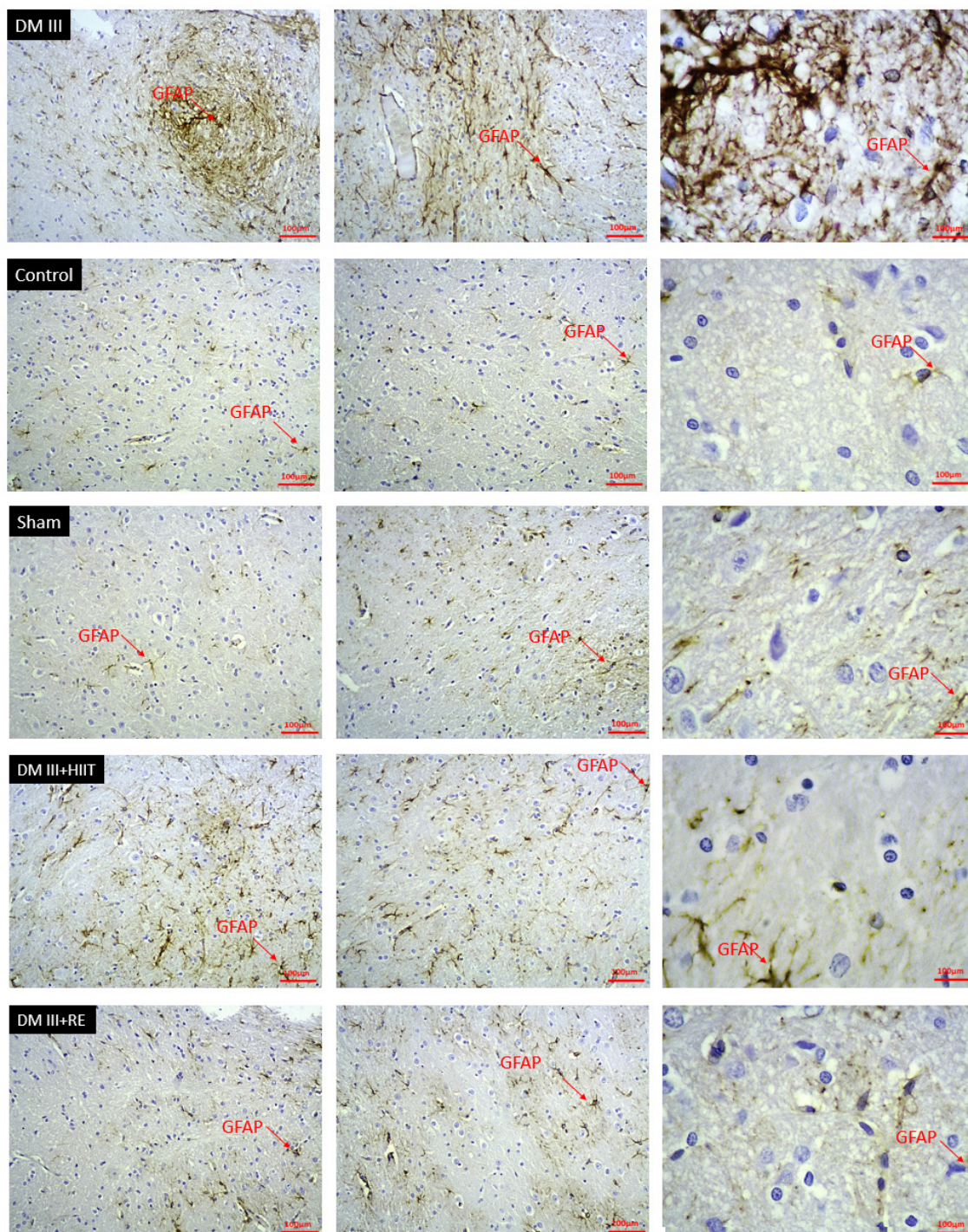
شکل ۴. منحنی یادگیری حیوانات طی روزهای آموزش، مقایسه مسافت پیموده شده تا سکو در گروه‌های مورد بررسی

شکل ۵. مقایسه مدت زمان سپری شده در ناحیه هدف در گروه‌های مورد بررسی

علائم روی هر ستون در صورت همنام بودن یعنی تفاوتی بین آن دو گروه وجود ندارد. در صورت غیر همنام بودن تفاوت معنادار را در آن گروه‌ها نشان می‌دهد. در این آزمون از لحاظ آماری تنها بین گروه‌های کنترل سالم و شم با گروه دیابت نوع ۳ اختلاف معنادار بود ( $P \leq 0/05$ ).







شکل ۶. بیان پروتئین GFAP در بافت سفید هیپوکامپ با روش رنگ آمیزی که به صورت رنگ تیره نشان داده شده است.

### بحث و نتیجه گیری

بسیار بیشتر از نورون‌ها هستند (۲۶). آستروسیت‌ها به دو نوع رشته‌ای و پروتوپلاسمیک تقسیم می‌شوند. آستروسیت‌های پروتوپلاسمیک در ماده خاکستری قرار می‌گیرند و توسط زوائد شاخه‌ای شکل خود نورون‌ها را احاطه می‌کنند. اما آستروسیت‌های رشته‌ای در ماده سفید قرار می‌گیرند و دارای انتهای رگی هستند که سلول‌ها را به بخش خارجی دیواره مویزها متصل

در این تحقیق تأثیر فعالیت بدنی اختیاری در محیط غنی‌سازی شده و تمرینات اجباری با شدت بالا بر بیان پروتئین GFAP در بافت سفید هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۳ بررسی شد. آستروسیت‌ها در دستگاه عصبی مرکزی حدود ۲۵ تا ۵۰ درصد از حجم مغز را اشغال کرده‌اند. این سلول‌ها به نسبت ۱۰ به ۱

می‌کند. نشان داده شده است که آستروسیت‌های رشته‌ای نسبت به آستروسیت‌های پرتوپلاسمیک GFAP بیشتری دارند (۲۷). ناهنجاری‌های شناسایی شده در مغز و هیپوکامپ بیماران مبتلا به AD و ناهنجاری‌های مشابه شناسایی شده در بیماران دیابتی رابطه مهمی را میان دیابت و آلزایمر برقرار می‌کند (۲۸). هیپوکامپ قسمتی از دستگاه لیمبیک مغز است که مرکز یادگیری و حافظه نام‌گذاری می‌شود. حافظه افراد و مدل‌های حیوانی که هیپوکامپ آنها آسیب دیده یا برداشته شده و به شدت مختل شده است. هیپوکامپ در قسمت فوقانی و جانبی توسط آلئوس (alveus) پوشانده شده است که حاوی رشته‌های ماده سفید منتهی به فیمبریا (Fimbria) است (۲۹). STZ تزریق شده داخل بطن مغز با اختلال در پیام‌رسانی انسولین سبب القای دیابت نوع ۳ می‌شود. در الگوهای حیوانی نشان داده شده است که سبب کاهش عملکرد شناختی و اختلال در یادگیری می‌شود. رسوب و تجمع بتا آمیلوئیدها سبب افزایش بیان سایتوکاین‌های التهابی و فعال شدن انواع آبشارهای پیام‌رسانی داخل سلولی در داخل مغز و هیپوکامپ شده و موجب واکنش‌های گلیوزیس و یا آستروگلیوزیس می‌شود. بیان بیش‌ازحد سایتوکاین‌های التهابی CNTF و IL6 سبب فعال شدن مسیر JAK/STAT شود. هنگامی که یک سایتوکاین به گیرنده خاص خود بر روی غشای سلولی متصل شود، فعالیت کیناز سیتوپلاسمی گیرنده مرتبط با JAKs فعال می‌شود. JAKs فعال شده باقیمانده تیروزین را در دامنه سیتوپلاسمی گیرنده سایتوکاین فسفوریله می‌کند تا فضای خالی برای STAT فراهم کند. STAT گیرنده سایتوکاین را از طریق دامنه SH2 خود متصل می‌کند و در بقایای تیروزین توسط JAKs فسفوریله می‌شود که در نهایت به تشکیل همو یا هترو دیمرها از طریق تعامل فسفات SH2 منجر می‌شود. فسفوریله شدن STAT سبب بیان پروتئینی به نام GFAP می‌شود که متعلق به رشته‌های میانی کلاس III (IFS) است و به طور ویژه در سیتوپلاسم آستروسیت‌های دستگاه عصبی مرکزی بیان می‌شود (۳۰). GFAP در آستروسیت‌های بیماری‌های مزمن تخریب‌کننده اعصاب مرکزی (ND)، به ویژه در موش‌های مبتلا به آلزایمر افزایش می‌یابد و این بیان بیش‌ازحد، از شاخص‌های مهم در نشان دادن واکنشی شدن آستروسیت‌ها و آسیب‌های

سلولی است (۳۱). پژوهش‌های متعددی تأثیرات مطلوب فعالیت‌های ورزشی را در کاهش عوارض مخرب بیماری آلزایمر و دیابت نشان داده‌اند. با این حال، پژوهش و تحقیقی با رویکرد بررسی اثر فعالیت بدنی بر اصلی‌ترین عامل آستروگلیوزیس GFAP، در بیماران مبتلا به آلزایمر و دیابت نوع ۳ یافت نشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات اختیاری گروهی در محیطی غنی‌سازی شده با انواع محرک‌های تمرینی و ورزشی، نسبت به تمرینات پرشدت اجباری می‌تواند تأثیرات مطلوب‌تری را در کاهش بیان پروتئین GFAP، در بافت سفید هیپوکامپ موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۳ به همراه داشته است. همچنین این نکته حائز اهمیت است که با وجود اختیاری بودن فعالیت بدنی در محیط غنی‌سازی شده، و شدت و حجم کمتر این نوع تمرین نسبت به تمرینات پرشدت اجباری، این نوع فعالیت بدنی تأثیرات مطلوب‌تری در بهبود حافظه فضایی و به خاطر آوردن اطلاعات در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۳ دارد. در پژوهش برناردی و همکاران (۲۰۱۳) روی موش‌های صحرایی سالم، نشان داده شد که نوارگردان با شدت متوسط ۲۰ دقیقه در روز به مدت چهار هفته سبب کاهش GFAP و افزایش گلوتامین سنتتاز (GS) می‌شود (۳۲). لیانگ و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرینات پرشدت HIIT توانست عوارض تجمع پلاک‌های آمیلوئید بتا را در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری شده کاهش دهد (۳۳). پژوهش‌های محدودی تأثیر محیط غنی‌سازی شده در AD را بررسی کرده‌اند. ناکانو و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که محیط غنی‌سازی شده توانست حافظه فضایی موش‌های آلزایمری شده را نسبت به گروه کنترل بهبود بخشد (۳۴). این نتایج با نتایج پژوهش حاضر همسو بود. اما جانکوآسکی و همکاران (۲۰۰۳) گزارش دادند که دو ماه نگهداری و هوسینگ در محیط غنی‌سازی شده در موش‌های ترانس ژنیک سبب افزایش و تجمع پلاک‌های بتا آمیلوئید خواهد شد و این نتایج با سایر نتایج پژوهش‌های دیگر ناهم‌سوست (۳۵). با این حال، بیشتر پژوهش‌های بررسی شده در محیط غنی‌سازی شده به صورت نگهداری و سکونت (هوسینگ) طولانی‌مدت بود و فعالیت بدنی با زمان محدود و مشخص در AD یا دیابت نوع ۳، مانند روش فعالیت بدنی در پژوهش حاضر در مطالعه‌ای یافت نشد. در مقایسه این دو نوع



روش تمرینی پژوهش حاضر و مقایسه آن با نگهداری و فعالیت طولانی مدت در محیط غنی سازی شده، روی عوامل مخرب آستروگلیوزیس و بتا آمیلوئید در بیماران مبتلا به آلزایمر و دیابت نوع ۳ بررسی شود. همچنین با توجه به قرارگیری آستروسیت های پروتوپلاسمیک در ماده خاکستری مغز، پیشنهاد می شود پژوهشی با رویکرد بررسی انواع مختلف تمرینات ورزشی بر بیان GFAP و بتا آمیلوئید در هر دو بافت خاکستری و سفید هیپوکامپ بیماران مبتلا به دیابت نوع ۳ صورت پذیرد و اثر فعالیت های ورزشی در این دو بافت با یکدیگر مقایسه شود.

### حامی / حامیان مالی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری پژوهشگر است و هیچ گونه حامی مالی ندارد.

### مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده سازی مقاله مشارکت یکسان داشته اند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند هیچ گونه تعارض منافی در مقاله حاضر وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

از جناب دکتر محمدرضا کردی و سرکار خانم دکتر فاطمه شب خیز و خانم دکتر مظاهری به سبب راهنمایی در تدوین، اجرا و همچنین تکمیل مطالعات این پژوهش تشکر و قدردانی می شود. از سرکار خانم ها زنجانیان، خرمشاهی و آقای فلاح و سایر عزیزانی که در انجام این پژوهش همکاری داشتند نیز سپاسگزاریم. تمامی منابع مالی این پژوهش توسط پژوهشگر تأمین شده است.

### منابع

1. Gold CA, Budson AE. Memory loss in Alzheimer's disease: Implications for development of therapeutics. Vol. 8, Expert Review of Neurotherapeutics. Expert Rev Neurother; 2008. p. 1879-91.
2. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. Vol. 377, The Lancet. Lancet Publishing Group; 2011. p. 1019-31.

شیوه تمرینی، تمرینات گروهی اختیاری به علت تعاملات بالای حیوانات با یکدیگر (مانند تعقیب کردن همدیگر، جست و جو کردن، کشتی گرفتن ها، ماهیت رقابتی آن مانند تلاش برای اکتساب دستگاه هایی مانند چرخ گردان و نردبان و فعالیت در آن، همچنین وجود انواع مختلف محرک های مناسب تمرینی) توانست رابطه مستقیمی را بین کاهش عوارض آستروگلیوزیس و عملکرد حافظه در این گروه نسبت به گروه تمرینات انفرادی با شدت بالا نشان دهد. هرچند این اختلاف معنادار نبود، ولی این موضوع می تواند نسبت مستقیمی با نتایج آزمون حافظه فضایی ماز آبی و به خاطر آوردن اطلاعات داشته باشد. به نحوی که نتایج نشان داد موش های گروه تمرین اختیاری محیط غنی سازی شده، عملکرد بهتری در آزمون حافظه فضایی داشتند و زمان سپری شده توسط آن ها در چارک ناحیه هدف، بیشتر از گروه تمرین اجباری پر شدت بود. در مقایسه این دو نوع شیوه تمرینی می توان به یکی دیگر از نتایج آزمون ماز آبی مورپس اشاره کرد که با توجه به داده های مراحل آموزش، حیوانات گروه تمرین پر شدت اجباری مسافت بیشتری، در زمان سپری شده کمتری را نسبت به حیوانات گروه تمرین اختیاری برای رسیدن به سکو نجات پیمودند. این نتایج می تواند احتمال تأثیرات و سازگاری های عصبی عضلانی تمرینات پر شدت انجام گرفته در این حیوانات را نسبت به حیوانات گروه تمرین اختیاری در این آزمون نشان دهد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می رسد فعالیت های گروهی اختیاری در محیط غنی سازی شده تأثیرات مطلوب تری در کاهش عوارض ناشی از دیابت نوع ۳ خواهد داشت. هرچند تمرینات پر شدت اجباری HIIT نیز توانست واکنش آستروگلیوزیس را نسبت به گروه کنترل دیابت نوع ۳ کاهش دهد، ولی به نظر می رسد تعاملات و فعالیت گروهی و همچنین وجود محرک های محیطی مختلف هنگام فعالیت بدنی، ممکن است تأثیرات مطلوب تری در مسیر JAK/STAT در کاهش عوامل مخرب آستروگلیوزیس GFAP در هیپوکامپ بیماران مبتلا به دیابت نوع ۳ داشته باشد. از محدودیت های این پژوهش می توان به این موضوع اشاره کرد که به علت نقصان و خاموشی در دستگاه برق در طول هشت هفته پژوهش، دو جلسه تمرینی برگزار نشد. در پژوهش های آتی پیشنهاد می شود تأثیر تمرینات کوتاه مدت در محیط غنی سازی شده همانند

- mild Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2012 Jan;33(1):43–52.
15. Association A. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*. 2019 Mar 1;15(3):321–87.
  16. Mohammadi H, Avandi SM, Jamshidi M, Gooya M. Effect of eight weeks resistance training and ginger supplementation on glycosylated hemoglobin index in type 2 diabetes patients. *Koomesh J*. 2017;19(4). (In Persian).
  17. Rahmati MR, Kordi MR, Ravasi AA. Effect of six weeks forced and voluntary training before EAE induction on the expression of some adhesive molecules affecting the blood-brain barrier permeability. *J Sport Exerc Physiol*. 2022;15(1):57–68. (In Persian).
  18. Amrolahi Z, Avandi SM, Khaledi N. The effect of six weeks' progressive resistance training on hippocampus BDNF gene expression and serum changes of TNF- $\alpha$  in diabetic wistar rats. *J Sport Exerc Physiol*. 2022;15(1):1–10. (In Persian).
  19. Naderi S, Habibi A, Kesmati M, Rezaie A, Ghanbarzadeh M. The Effects of Six Weeks High Intensity Interval Training on Amyloid Beta1-42 Peptide in Hippocampus of Rat Model of Alzheimer's Disease Induced with STZ. *J Clin Res Paramed Sci*. 2018;In Press(In Press). (In Persian).
  20. Beauquis J, Pavía P, Pomilio C, Vinuesa A, Podlutzkaya N, Galvan V, et al. Environmental enrichment prevents astroglial pathological changes in the hippocampus of APP transgenic mice, model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 2013;239:28–37.
  21. Wang N, Liu Y, Ma Y, Wen D. High-intensity interval versus moderate-intensity continuous training: Superior metabolic benefits in diet-induced obesity mice. *Life Sci*. 2017 Dec 15;191:122–31.
  22. COE. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *Cets*. 1991. p. 123.
  23. Ritschl LM, Fichter AM, Häberle S, von Bomhard A, Mitchell DA, Wolff K-D, et al. Ketamine-Xylazine Anesthesia in Rats: Intraperitoneal versus Intravenous Administration Using a Microsurgical Femoral Vein Access. *J Reconstr Microsurg*. 2015 Jun;31(5):343–7.
  24. Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2006 Mar;9(1):13–33.
  25. Grieb P. Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. *Mol Neurobiol*. 2016 Apr;53(3):1741–52.
  26. Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: The revolution
  3. Ho AJ, Raji CA, Becker JT, Lopez OL, Kuller LH, Hua X, et al. Obesity is linked with lower brain volume in 700 AD and MCI patients. *Neurobiol Aging*. 2010/06/08. 2010 Aug;31(8):1326–39.
  4. Kandimalla R, Thirumala V, Reddy PH. Is Alzheimer's disease a Type 3 Diabetes? A critical appraisal. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2017;1863(5):1078–89.
  5. von Bartheld CS, Bahney J, Herculano-Houzel S. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting. Vol. 524, *Journal of Comparative Neurology*. Wiley-Liss Inc.; 2016. p. 3865–95.
  6. Pekny M, Wilhelmsson U, Bogestål YR, Pekna M. The Role of Astrocytes and Complement System in Neural Plasticity. Vol. 82, *International Review of Neurobiology*. 2007. p. 95–111.
  7. Wilhelmsson U, Bushong EA, Price DL, Smarr BL, Phung V, Terada M, et al. Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Nov 14;103(46):17513–8.
  8. Walker DG, Kim SU, McGeer PL. Complement and cytokine gene expression in cultured microglia derived from postmortem human brains. *J Neurosci Res*. 1995 Mar 1;40(4):478–93.
  9. Colliot O, Chételat G, Chupin M, Desgranges B, Magnin B, Benali H, et al. Discrimination between Alzheimer disease, mild cognitive impairment, and normal aging by using automated segmentation of the hippocampus. *Radiology*. 2008 Jul;248(1):194–201.
  10. Rémy F, Vayssière N, Saint-Aubert L, Barbeau E, Pariente J. White matter disruption at the prodromal stage of Alzheimer's disease: Relationships with hippocampal atrophy and episodic memory performance. *NeuroImage Clin*. 2015;7:482–92.
  11. Nasrabady SE, Rizvi B, Goldman JE, Brickman AM. White matter changes in Alzheimer's disease: a focus on myelin and oligodendrocytes. *Acta Neuropathol Commun*. 2018;6(1):22.
  12. Bozzali M, Falini A, Franceschi M, Cercignani M, Zuffi M, Scotti G, et al. White matter damage in Alzheimer's disease assessed in vivo using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry*. 2002;72(6):742–6.
  13. Stoub TR, Detolledo-Morrell L, Dickerson BC. Parahippocampal white matter volume predicts Alzheimer's disease risk in cognitively normal old adults. *Neurobiol Aging*. 2014 Aug;35(8):1855–61.
  14. Wang C, Stebbins GT, Medina DA, Shah RC, Bammer R, Moseley ME, et al. Atrophy and dysfunction of parahippocampal white matter in



- cise induces hippocampal astroglial alterations in rats. *Neural Plast.* 2013;2013.
33. Li B, Liang F, Ding X, Yan Q, Zhao Y, Zhang X, et al. Interval and continuous exercise overcome memory deficits related to  $\beta$ -Amyloid accumulation through modulating mitochondrial dynamics. *Behav Brain Res.* 2019;376:112171.
34. Nakano M, Kubota K, Hashizume S, Kobayashi E, Chikenji TS, Saito Y, et al. An enriched environment prevents cognitive impairment in an Alzheimer's disease model by enhancing the secretion of exosomal microRNA-146a from the choroid plexus. *Brain, Behav Immun - Heal.* 2020;9:100149.
35. Jankowsky J, Xu G, Fromholt D, Gonzales V, Borchelt D. Environmental Enrichment Exacerbates Amyloid Plaque Formation in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. *J Neuro-pathol Exp Neurol.* 2004 Jan 1;62:1220-7.
- continues. Vol. 6, *Nature Reviews Neuroscience.* Nature Publishing Group; 2005. p. 626-40.
27. Barres BA. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron.* 2008 Nov;60(3):430-40.
28. Pugazhenth S, Qin L, Reddy PH. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2017 May 1;1863(5):1037-45.
29. *The Human Hippocampus: Functional Anatomy, Vascularization and Serial Sections with MRI*, 3rd edition. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2005 Nov;26(10):2702.
30. Yan Z, Gibson SA, Buckley JA, Qin H, Benveniste EN. Role of the JAK/STAT signaling pathway in regulation of innate immunity in neuroinflammatory diseases. *Clin Immunol.* 2018;189:4-13.
31. Middeldorp J, Hol EM. GFAP in health and disease. *Prog Neurobiol.* 2011;93(3):421-43.
32. Bernardi C, Tramontina AC, Nardin P, Biasibetti R, Costa AP, Vizueti AF, et al. Treadmill exer-