

اثر ریتم شبانه روزی متعاقب یک دوره فعالیت بدنی تداومی در صبح و عصر بر عوامل تخریب نوروئی و miR-132 در هیپوکمپ موش‌های دارای سندرم متابولیک

آسیه سادات موسویان^۱، سعید شاکریان^{۲*}، عبدالحمید حبیبی^۳، محمدرضا تابنده^۳

مقاله پژوهشی

مقدمه: سندرم متابولیک با ایجاد هیپرگلیسمی و دیس‌لیپیدمی، به بروز برخی بیماری‌های نورودژنراتیو منجر می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، مقایسه ریتم بیولوژیکی بدن پس از ۸ هفته تمرین بر ریسک فاکتورهای تخریب نوروئی و miR-132 می‌باشد. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۴۸ موش نژاد NMRI با میانگین وزن $26 \pm 22/3$ گرم، به منظور بررسی اثر تمرین هوازی تداومی صبحگاهی و عصرگاهی بر بیان miR-132 و سطح پروتئین آمیلوئید بتا ۴۲ در هیپوکمپ تحت شرایط سندرم متابولیک مورد بررسی قرار گرفتند. از این میان، ۳۲ موش با رژیم پرچرب به مدت ۱۲ هفته به سندرم متابولیک مبتلا شدند و سپس در شش گروه مختلف شامل کنترل‌های سالم و بیمار (صبح و عصر) و گروه‌های تمرینی صبحگاهی و عصرگاهی تقسیم شدند. تمرینات به مدت ۸ هفته (۵ روز در هفته، با شدت $50-60\%$ Vmax) اجرا شد و داده‌ها با آنالیز واریانس دوطرفه و نرم‌افزار SPSS version 16 تحلیل شدند.

نتایج: نتایج هشت هفته تمرین تداومی بر بیان miR-132 در هیپوکمپ موش‌های سندرم متابولیک نشان داد که اثر اصلی گروه، زمان و تعامل (گروه $\times$ زمان) بر بیان پروتئین miR-132 در هیپوکمپ معنی‌دار است. سطح miR-132 در گروه سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه سندرم متابولیک در عصر ($p=0/001$) افزایش معنی‌داری داشت و تفاوت معنی‌داری بین دو زمان مشاهده شد. سطح پروتئین A β 42 در گروه سندرم متابولیک - تمرین در صبح و عصر نسبت به گروه سندرم متابولیک، در عصر ($p=0/002$) و صبح ($p=0/001$) کاهش معنی‌دار داشت. همچنین، سطح پروتئین A β 42 در گروه سندرم متابولیک - تمرین نسبت به گروه موش‌های سالم، در عصر ($p=0/007$) و صبح ($p=0/01$) کاهش معنی‌داری نشان داد. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد زمان‌بندی تمرین، به‌ویژه در عصر، با تأثیر بر شاخص‌های متابولیک، می‌تواند نقش پیشگیرانه یا کنترلی در برابر بیماری‌های نورودژنراتیو ایفا کرده و به‌عنوان یک رویکرد بالقوه در بهبود کیفیت زندگی بیماران مبتلا به سندرم متابولیک در مطالعات بالینی مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تداومی، miR-132، A β 42، ریتم شبانه‌روزی، سندرم متابولیک

ارجاع: موسویان آسیه سادات، شاکریان سعید، حبیبی عبدالحمید، تابنده محمدرضا. اثر ریتم شبانه روزی متعاقب یک دوره فعالیت بدنی تداومی در صبح و عصر بر عوامل تخریب نوروئی و miR-132 در هیپوکمپ موش‌های دارای سندرم متابولیک. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۴؛ ۳۳ (۳): ۴۹-۸۸۳۱.

۱- دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۶۳۱۴۳۳۶۳، پست الکترونیکی: s.shakeryan@scu.ac.ir، صندوق پستی: ۶۱۳۵۷۸۳۱۵۱

مقدمه

سندرم متابولیک، نوعی اختلال در استفاده از انرژی و ذخیره سازی آن است که می تواند با ایجاد تغییرات منفی در متابولیسم کلسترول مغزی و مقاومت به انسولین منجر به تخریب سلول های عصبی گردد. تحقیقات اخیر نشان می دهند که عوامل ژنتیکی و محیطی مختلف ممکن است در ایجاد ارتباط بین سندرم متابولیک و بیماری های نورودژنراتیو مؤثر باشند. همچنین، تأثیر مؤلفه های سندرم متابولیک، مانند قند خون بالا، کلسترول HDL پایین و چاقی بر کاهش عملکرد شناختی تأیید شده است (۱). عوامل خطر محیطی، از جمله دیابت نوع ۲، چاقی و دیسلیپیدمی، به ویژگی های بیماری زای عصبی، مانند کاهش مصرف گلوکز در مغز، استرس اکسیداتیو، التهاب و اختلال عملکرد میتوکندری منجر می شوند که می توانند به تخریب نورونی منجر گردند (۲). مطالعات Positron emission tomography scan PET داده اند که مغز اسیدهای چرب را جذب می کند. سندرم متابولیک باعث افزایش جذب و تجمع این اسیدها در مغز می شود که این افزایش، با کاهش وزن رابطه معکوس دارد (۳). همچنین، گزارش شده است که رژیم های غذایی پرچرب ممکن است به بیماری های نورودژنراتیو، مانند آلزایمر Alzheimer's disease (AD)، منجر شوند (۴). درمان با متابولیت ها، به بهبود جزئی شناختی و کاهش التهاب، آپوپتوز و نارسایی سیناپسی در مدل های انسانی و موش منجر شده است (۵). در مدل های موش دیابتی (DM) نیز تغییراتی در متابولیسم گلوکز، سیگنال دهی انسولین، التهاب عصبی، هیپرفسفریلاسیون تاو پروتئین های تاو (Tau Proteins) پروتئین هایی هستند که ریزلوله ها را تثبیت می کنند. پروتئین تاو در نورون های دستگاه عصبی مرکزی به فراوانی و در آستروسیت ها و الیگودندرست ها به میزان کمتری یافت می شوند. عامل اصلی بیماری های مرتبط به زوال عقل مانند آلزایمر و پارکینسون هستند و پردازش نادرست آمیلوئید بتا ($A\beta$) یک پروتئین ۳۶ تا ۴۳ پپتیدی و سازنده اصلی پلاک های آمیلوئید است که در مغز مبتلایان به بیماری آلزایمر یافت

می شود. مشاهده شده که این موارد از ویژگی های برخی بیماری های نورودژنراتیو هستند. با این حال، نتایج تحت تأثیر متغیرهایی مانند رژیم غذایی، زمان مطالعه و مداخلات مختلف از جمله افزایش تحرک قرار دارند که نتیجه گیری قطعی را دشوار می کند (۶،۷). مطالعات نشان داده اند که تغییرات در توزیع و سطح کلسترول افزایش یافته در سندرم متابولیک، سیالیت غشاء و بخش های لیپیدی تنظیم کننده، بر سنتز، رسوب و پاکسازی آمیلوئید بتا ($A\beta$) تأثیر می گذارد (۸). پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا (APP) و آنزیم های پردازش آن (آلفا سکرترز و بتا سکرترز) در بخش های لیپیدی غشاء قرار دارند و تولید $A\beta$ به شدت به محیط لیپیدی غشاء وابسته است. افزایش کلسترول باعث افزایش تولید $A\beta$ و کاهش کلسترول باعث کاهش سطح آن می شود. همچنین، کاهش کلسترول غشای پلاسمایی، سمیت $A\beta$ را کاهش می دهد (۹). افزایش سطح کلسترول غشای پلاسمایی در سندرم متابولیک منجر به تولید آپولیپوپروتئین APOE می شود که حامل اصلی کلسترول در مغز است (۱۰). APOE4 به عنوان عاملی در تشکیل آمیلوئید بتا ($A\beta$) شناخته شده و بر پاکسازی و رسوب آن تأثیر می گذارد. وقتی APOE به لیپید A1 متصل می شود، چسبندگی آن افزایش می یابد و تجزیه پروتئولیتیک $A\beta$ را تسهیل کرده و از رسوب آن جلوگیری می کند (۱۱). پروتئین غشایی ABCA1 که وظیفه انتقال کلسترول از سلول به آپولیپوپروتئین های کم لیپید را دارد، با کاهش کلسترول سلولی می تواند تولید $A\beta$ را کاهش دهد و همچنین از طریق افزایش APOE لیپیدی، پاکسازی $A\beta$ را بهبود بخشد. افزایش سطح کلسترول در نورون ها و آستروسیت ها نیز به افزایش سمیت $A\beta$ منجر می شود (۱۲). بیشتر تحقیقات در این حوزه با استفاده از دستکاری های ژنتیکی یا دارویی انجام شده اند. این مطالعات نشان می دهند که حذف ژن ABCA1 باعث کاهش پاکسازی کلسترول در مغز می شود. در مغز بزرگسالان، متابولیسم کلسترول از طریق تولید S-۲۴ هیدروکسی کلسترول (24OHC) متعادل می شود. 24OHC به عنوان یکی از مشتقات کلسترول می تواند از سد خونی مغز عبور کرده و وارد

گردش خون شود و حدود ۶ میلی گرم در ۲۴ ساعت توسط مغز به جریان خون آزاد می شود (۱۳،۱۴). در عین حال مقاومت به انسولین (IR) در بیماران دارای سندرم متابولیک بر متابولیسم کلسترول در مغز تأثیر می گذارد و ارتباط متقابلی بین این دو وجود دارد. هیپرکلسترولمی و اختلال در هموستاز کلسترول می تواند باعث تشدید IR شوند، در حالی که IR نیز می تواند متابولیسم کلسترول را مختل کند. انسولین، فاکتورهای رونویسی SREBP را که در بیوسنتز کلسترول نقش دارند، فعال می کند و باعث افزایش سنتز کلسترول می شود. IR ناشی از آمیلوئید بتا ($A\beta$) نیز هموستاز کلسترول را به هم می زند. افزایش قند خون و کمبود انسولین، سنتز کلسترول در مغز را از طریق کاهش بیان SREBP2 کاهش می دهد (۱۵،۱۶). تجمع کلسترول تنها در سنین پیری در هیپوکامپ با افزایش سمیت $A\beta$ مشاهده می شود. کاهش سن محور در بیان ABCA1 ممکن است این تفاوت را توضیح دهد. این کاهش ممکن است به شرایط التهابی مزمن یا تغییرات در اکسی استرول های مغزی مرتبط باشد، اما تحقیقات بیشتری برای روشن شدن مکانیسم دقیق آن نیاز است (۱۷). سیستم ساعت شبانه روزی پستانداران به دو سطح تقسیم می شود: ساعت مرکزی و ساعت های محیطی. ساعت مرکزی در هسته سوپراکیاسماتیک (SCN) واقع شده و اطلاعات زمانی را از نور خورشید دریافت کرده و به ساعت های محیطی منتقل می نماید. این ساعت های محیطی می توانند به طور مستقل بیان ژن را تنظیم کرده و نشانه های زمانی، مانند فعالیت حرکتی و رفتار تغذیه ای را دریافت کنند (۱۸). ورزش در شبانه روزی سیستم دو نقش دارد: به عنوان یک نشانه زمانی عمل کرده و می تواند در تنظیم مجدد ساعت های شبانه روزی مؤثر باشد. همچنین ورزش تأثیرات قابل توجهی بر ترشح هورمون ها و پارامترهای فیزیولوژیکی دارد. ژن های PER2 و BMAL1 به عنوان ژن های فاز نوری تحت تأثیر REV-ERB تنظیم می شوند و با بیان ژن های سرکوبگر ریتم شبانه روزی ارتباط دارند REV-ERB. به تنظیم متابولیسم کمک کرده و با حس کردن کمبود انرژی ناشی از ورزش، حساسیت به انسولین را افزایش می دهد (۱۹).

متابولیسم عضله اسکلتی نیز تحت تأثیر ریتم شبانه روزی قرار دارد؛ به طوری که غلظت گلوکز در پلاسما در صبح اوج می گیرد و حساسیت به انسولین در صبح بیشتر است. میتوکندری های عضله اسکلتی در ساعات شب ظرفیت اکسیداتیو بالاتری دارند. زمان بندی ورزش بر بافت موضعی و متابولیسم سیستمیک تأثیر می گذارد؛ به ویژه اینکه ورزش در شب به اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد (FFA) وابستگی بیشتری دارد (۲۰). در مطالعه Asher و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که ورزش تأثیرات متفاوتی بر بیان ژن در گروه تمرین صبح و گروه تمرین عصر دارد. در گروه تمرین صبح، مسیرهای سیگنال دهی انسولین و متابولیسم گلوکز به طور خاص افزایش یافت. همچنین، این گروه پس از ورزش کاهش شدیدتری در سطوح لیپیدها و اسیدهای آمینه در مقایسه با گروه تمرین عصر نشان داد (۲۱). ورزش عصرگاهی با ظرفیت تمرین و استقامت بیشتری همراه است و این موضوع به اتکای بیشتر به کربوهیدرات ها و دمای بالاتر بدن در عصر مرتبط است و در این زمان، کاهش مصرف اکسیژن و کاهش قند خون به ورزش کمک می کند (۲۲). در عوض، اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد (FFA) در صبح به طور بالقوه می تواند منجر به کاهش چربی بیشتری شود. همچنین، متابولیسم سیستم شبانه روزی در پستانداران تأثیر عمده ای بر متابولیسم انرژی دارد و جهش یا حذف ژن های مرتبط با ریتم شبانه روزی می تواند منجر به متابولیسم انرژی ناکارآمد شود. در نهایت، ژن های متابولیک اصلی و فعالیت های آنها با سیستم ساعت فعالیت ها همکاری نزدیکی دارند و برای تنظیم، هماهنگ سازی و تنظیم دقیق فرآیندهای فیزیولوژیکی متنوع بسیار مهم هستند (۲۳). ریزآران ای ها (miRNAs) یا میکرو RNA ها مولکول های کوچک اسید ریبونوکلئیک (RNA) هستند که طول آنها بین ۲۱ تا ۳۲ نوکلئوتید متغیر است. این مولکول ها از انواع RNA غیرکدکننده به شمار می آیند که برای بسیاری از عملکردهای بیولوژیکی ضروری هستند. خواه با انجام مستقیم عملکرد موردنظر (RNA غیرکدکننده) و خواه با ایجاد یک الگو برای تولید پروتئین ها (RNA پیام رسان). این مولکول ها با اتصال به

ناحیه UTR3 در mRNA های هدف، باعث تخریب و سرکوب ترجمه آن‌ها می‌شوند (۲۴). miRNAs نقش‌های حیاتی در کنترل عملکرد سلول‌های مغزی دارند و تغییر در بیان آن‌ها می‌تواند به بروز بیماری‌های پاتولوژیک منجر شود. به همین دلیل، miRNAs به عنوان ابزارهایی برای تشخیص، پیش‌آگهی و درمان بیماری‌های نورودژنراتیو مورد بررسی قرار می‌گیرند. با این حال، نقش و بیان دقیق آن‌ها در سیستم عصبی پستانداران بالغ هنوز به‌طور کامل روشن نشده است (۲۵). یکی از miRNAs خاص مغز، miR-132 است که در تنظیم ساعت شبانه‌روزی در هسته سوپراکایسماتیک (SCN) نقش دارد. miR-132 تحت تأثیر نشانه‌های نور، بیان ژن‌های ساعت را تعدیل کرده و اثرات ریتم‌ساز نور را کاهش می‌دهد (۲۶). تحقیقات نشان می‌دهد که miR-132 در سلول‌های عصبی غنی است و باعث رشد و جوانه‌زنی نورون‌ها (نوروژنز) می‌شود. همچنین، این miRNA می‌تواند لیپوژنز و کلسترول‌ساز را برنامه‌ریزی مجدد کند و فرآیندهای پایین‌دستی را که منجر به تغییرات در رونوشت‌های تنظیم‌کننده متابولیسم و در نتیجه تغییر پروفایل‌های چربی سرم می‌شود، آغاز کند (۲۷). هرناندز و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که سطح $A\beta$ در هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر (AD) که miR-132 آن‌ها حذف شده، نسبت به گروه کنترل به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است. این نشان می‌دهد که فقدان miR-132 می‌تواند تولید، تجمع و رسوب $A\beta$ را افزایش دهد (۲۸).

miR-132 به‌ویژه در تنظیم مسیرهای متابولیک لیپوژنز و کلسترول‌ساز از طریق بیوسنتز SREBP2 و ABCA1 نقش دارد و بر تنظیم لیپیدها در سرم و بیان $A\beta$ تأثیر می‌گذارد (۲۹،۳۰). همچنین، miR-132 تأثیراتی بر $A\beta$ دارد که به‌عنوان عامل آغازکننده بیماری آلزایمر و برخی بیماری‌های نورودژنراتیو شناخته می‌شود (۳۱). در پستانداران، miRNAs نقش مهمی در زمان‌بندی ساعت دارند. تحقیقات نشان داده‌اند که miR-132 به‌طور نوسانی در موش‌ها بیان می‌شود و این miRNA تحت تأثیر نور قرار می‌گیرد. به‌علاوه، miRNAs بر حلقه رونویسی شبانه‌روزی هسته تأثیر می‌گذارند، هرچند که

مکانیزم‌های دقیق اثرگذاری آن‌ها هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است (۳۲). در مجموع، تحقیقات در رابطه با بیان-miR-132 و استرس شبکه اندوپلاسمی (ER) بیشتر در اندام‌هایی مانند کلیه و مری انجام شده است. بنابراین، مطالعات بیشتری برای تعریف مکانیسم‌های مربوط به miR-132 در هیپوکامپ و اثرات آن بر نورودژنراسیون و سایر فرآیندهای فیزیولوژیکی مورد نیاز است (۳۳). به‌طور کلی، این مطالعه به بررسی سؤال اصلی این است که آیا تمرینات تداومی می‌توانند بر متابولیسم کلسترول در هیپوکامپ و عوامل مؤثر مانند استرس شبکه اندوپلاسمی و تشکیل پلاک‌های $A\beta$ تأثیر بگذارند و در نتیجه به پیشگیری یا بهبود تخریب نورونی در افراد مبتلا به سندرم متابولیک کمک کنند. همچنین، اثرات کربویدولوزیک تمرین بر این متغیرها مورد بررسی قرار می‌گیرد. به‌طور کلی، تحقیقات اخیر نشان داده است که اختلال در متابولیسم کلسترول در مغز در بیماران مبتلا به سندرم متابولیک، سبب بروز طیف گسترده‌ای از تغییرات مولکولی منجر به آسیب عصبی و تجمع بتا آمیلوئید می‌شود. که فعالیت بدنی می‌تواند سبب کاهش عوارض سندرم متابولیک در مغز شود (۳۴،۳۵). اگر چه اکثر مطالعات اتفاق نظر دارند که تمرینات هوازی یک راه مؤثر برای مدیریت بیماری‌های متابولیک است. با این حال به نظر می‌رسد اختلالات نورودژنراتیو و در نظر گرفتن چالش زمان، ممکن است امکان تحلیل دقیق‌تری برای آسیب‌شناسی سندرم متابولیک و طراحی مداخلات درمانی وابسته به زمان که هنوز ناشناخته است، برای بهبود عملکرد عصبی و مدیریت مؤثر عوارض وابسته به بیماری‌های متابولیک فراهم آورد. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر تأثیر ریتم شبانه روزی و زمان‌بندی فعالیت بدنی در صبح و عصر بر بیان ژن‌های مرتبط با پردازش بتا آمیلوئید وابسته به miR-132 در موش‌های دارای سندرم متابولیک می‌باشد.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع مطالعه تجربی، از لحاظ اجرا آزمایشگاهی و به روش نمونه‌گیری تصادفی ساده می‌باشد. ۴۸ سر موش‌های آزمایشگاهی نر بالغ هشت تا ده هفته‌ای، نژاد

NMRI با میانگین وزنی $26 \pm 3/22$ گرم از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری و در محیطی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. در ابتدا تعداد ۳۲ سر موش به‌طور تصادفی انتخاب و به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب و پرکالری (HFD) که به‌طور معمول به اختلال در تعادل انرژی بدن منجر می‌شود و باعث پرخوری و چاقی می‌گردد، تغذیه شدند (۳۶). از طرفی ۱۶ سر موش آزمایشگاهی تحت رژیم غذایی استاندارد قرار گرفتند که گروه موش‌های سالم را تشکیل دادند. چاقی موش‌ها با محاسبه شاخص لی، پس از ۱۲ هفته مصرف غذای چرب، حاصل شد (۳۶) ارزیابی چاقی (فرمول یک) در موش‌ها، مشابه در انسان و از ریشه سوم وزن بدن (گرم) تقسیم بر طول بدن (سانتی‌متر) ضرب در ۱۰۰۰ به‌دست آمد (۳۷).

وزن بدن (گرم)^۲

شاخص چاقی =

طول بدن (سانتی‌متر) $\times 1000$

فرمول یک: فرمول تعیین شاخص چاقی

همچنین، برای ارزیابی شاخص‌های زیستی سندرم متابولیک، موش‌های چاق شده در اثر رژیم غذایی پرچرب و پرکالری با خون‌گیری از ورید دمی، دسی لیتر و تری گلیسیرید بالاتر از ۱۱۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر دارا بودند، معیارهای سندرم متابولیک اثبات گردید (۳۷). ضمناً از موش‌های گروه کنترل و تغذیه شده با غذای استاندارد نیز خون‌گیری به‌عمل آمد. در ادامه، موش‌های آزمایشگاهی در ۶ گروه (N=8) شامل گروه کنترل سالم صبح، گروه کنترل عصر سالم، گروه کنترل صبح سندرم متابولیک، کنترل عصر سندرم متابولیک، گروه تمرین تداومی صبح سندرم متابولیک، گروه تمرین تداومی عصر سندرم متابولیک، تقسیم‌بندی شده و تا پایان مداخله ورزشی غذای مورد استفاده موش‌های

آزمایشگاهی، رژیم استاندارد با کالری طبیعی بود. تمرین موش‌ها بر روی تردمیل موش‌های آزمایشگاهی بود که با دوره آشناسازی ۷ روزه (تمرین شم) شروع شد. به منظور آشنایی با دستگاه و کاهش استرس و سازگاری با شرایط تمرینی در طی یک هفته، تمرین کردند. برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان حیوانات بدون تمرین به مدت مشابه حیوانات تمرین کرده بر روی تردمیل موش‌های آزمایشگاهی قرار داده شدند. به‌طور خلاصه، موش‌ها برای دویدن روی تردمیل مخصوص موش‌های آزمایشگاهی به مدت یک هفته از ۱۰-۲۵ دقیقه فعالیت دویدن با سرعت ۵-۱۰ متر در دقیقه قبل از انجام مداخله ورزشی ۸ هفته‌ای سازگار شدند. تمرین تداومی با شدت کم تا متوسط (جدول ۱): در گروه‌های تمرینی به مدت ۲ ماه (۵ روز در هفته، در وقت صبح از ساعت ۱۰-۹ و عصر از ساعت ۱۹-۲۰ برنامه تمرین تداومی را اجرا کردند. آزمون حداکثر سرعت دویدن موش‌ها، Vmax قبل از ۶ هفته و ۸ هفته پس از شروع پروتکل تمرینی، برای تعیین شدت برنامه تمرینی و کنترل اعمال اضافه بار مطابق با مطالعات قبلی انجام شد (۳۸). برای اجرای این آزمون، موش‌های گروه تمرین تداومی با شدت متوسط moderate intensity continuous training (MICT) پس از گرم کردن با سرعت ۵ الی ۸ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه شروع به دویدن کردند. سرعت تردمیل هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۰/۳ متر بر ثانیه (حدود ۲ متر در دقیقه) افزایش یافت. Vmax سرعتی بود که با وجود اعمال تحریکات ملایم (با چوب دستی)، موش توانایی و یا تمایلی برای ادامه دویدن نداشته باشد. پروتکل تمرینی با اقتباس از تحقیقات منتشر شده قبلی (۳۹،۴۰) پس از برآورد حداکثر سرعت دویدن موش‌ها Vmax آغاز گردید. به‌طوری که، پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه، موش‌ها در گروه تمرین با شدت ۶۰-۵۰ درصد Vmax به مدت ۶۰-۳۰ دقیقه و پنج جلسه در هفته به مدت ۸ هفته دویدند. در انتهای هر جلسه، سردکردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه به مدت ۳ دقیقه اجرا شد. در طول دوره مطالعه، موش‌ها بر روی

تردمیل، ۱۳ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته اول دویدند. سپس سرعت هفته‌ای ۱ متر در دقیقه و زمان ۱۰ دقیقه هر دو هفته افزایش یافت که به سرعت هدف ۲۰ متر در دقیقه و زمان ۶۰ دقیقه افزایش یابد (جدول ۱). به‌طور خلاصه برنامه فعالیت بدنی (شکل ۱): تمرین روزانه ۶۰-۳۰ دقیقه‌ای به مدت ۸ هفته (شکل ۱)، با شدت ۵۰-۶۰٪ VMAX که ۵ روز در هفته تکرار شد (۴۱). تغییرات سندرم متابولیک، وزن، گلوکز خون، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌ها: متغیرهای وزن و گلوکز خون در حالت پایه (هفته اول) بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و غلظت گلوکز خون ناشتا کمتر از ۶/۵ میلی‌مول/لیتر (۱۱۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) تری‌گلیسیرید ۶۳/۶۶ HDL و ۷۳/۳۳ LDL بود که نشان‌دهنده این است سطوح سرمی آنها در وضعیت استاندارد قرار داشته است. پس از ۱۲ هفته تغذیه با رژیم غذایی پرکالری و پرچرب، افزایش معنی‌داری در وزن بدن، غلظت گلوکز، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های خون موش‌های تحت رژیم نسبت به گروه کنترل به وجود آمد ($P < 0.05$). در گروه‌های سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین، غلظت گلوکز خون ناشتا بیشتر از ۶/۵ میلی‌مول برلیتر (۱۱۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بوده و تری‌گلیسیرید سرمی ۱۳۳/۱۶ HDL و ۱۲۹/۱۶ LDL سرمی ۱۳۲ بود که نشان‌دهنده تأیید سندرم متابولیک در موش‌ها است. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و ۸ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی به‌وسیله تزریق درون صفاقی زایلایزین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند، خون‌گیری به میزان ۴ میلی‌لیتر مستقیماً از قلب حیوان صورت گرفت. بلافاصله توسط سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. سپس سرم‌ها در میکروتیوب‌ها جمع‌آوری و جهت کاهش احتمال سوگیری در آزمایش‌ها کدگذاری گردید. برای سنجش و تعیین شاخص‌های خونی موردنظر سرم تهیه‌شده از ۴ میلی‌لیتر خون استفاده شد. برای تهیه نمونه بافتی، ابتدا موش‌ها با

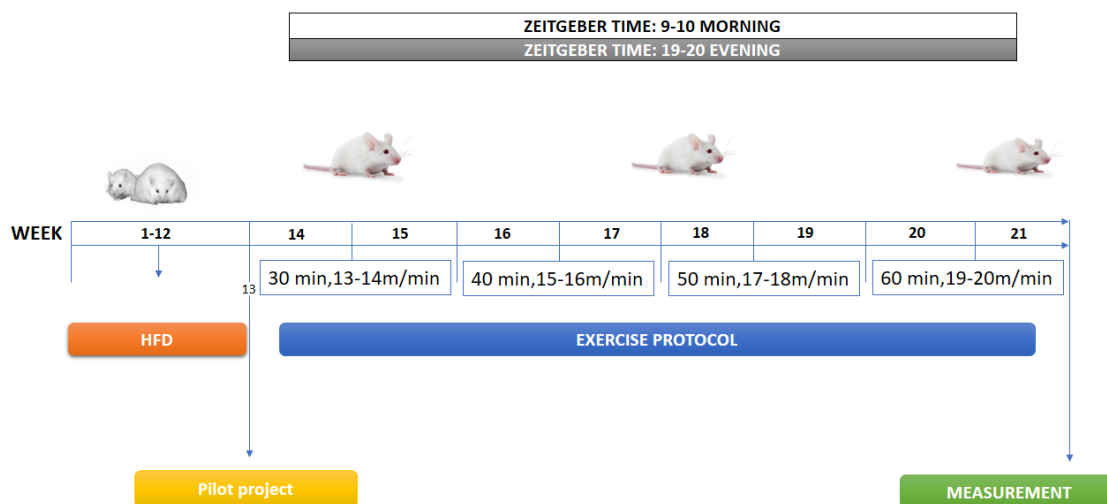
ترکیب کتامین زایلایزین به نسبت ۶۰ به ۴۰ بی‌هوش شدند. سپس با جدا کردن سر موش با کمک قیچی مخصوص و جدا کردن کل مغز و خارج کردن آن از کاسهٔ مججمه، هیپوکامپ از سایر قسمت‌های مختلف مغز جدا شد و بلافاصله در ازت قرار گرفت پس از منجمدشدن، بافت در یخچال مخصوص در دمای -۸۰ درجه نگهداری شد. برای هموژن کردن، ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت به‌وسیله بافر سالین در یک بشر استریل شستشو داده شد. بافت در یک میلی‌لیتر از بافر سالین هموژن خواهد شد و به مدت ۱۶ ساعت در دمای -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس بافت از حالت انجماد خارج و دوباره منجمد شد. جهت تخریب غشاء پلاسمایی این عمل سه بار تکرار خواهد شد. ترکیب حاصل به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس محلول روبی جدا و در دمای ۸۰ - درجه سانتی‌گراد برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شد. پیش از انجام آزمایش، برای سنجش مقدار پروتئین‌ها، نمونه یک‌بار به مدت ۲ دقیقه با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد و دوباره محلول روبی جدا و مورد استفاده قرار گرفت. جهت ارزیابی مقادیر پروتئین‌های تحقیق از روش Realtime PCR و وسترن بلات استفاده شد. به‌منظور ارزیابی انجام وسترن بلات ابتدا نمونه‌ها با استفاده از بافر لیز کننده RIPA و با استفاده از هموژنایزر، هموژنیزه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ و مایع روبی جهت آنالیزهای بعدی استفاده می‌شوند. میزان پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد سنجیده شد. SDS-PAGE به روش متعارف با استفاده از ژل ۱۰٪ و سیستم بافری پیوسته انجام شد. پس از انجام SDS-PAGE نمونه‌ها با استفاده از روش متعارف و در دستگاه بلاتینگ به کاغذهای نیترو سلولز منتقل می‌شود. آماده‌سازی کاغذها در بافر انتقال ۲ ساعت قبل از انجام آزمون انجام شد. پس از انتقال نمونه‌ها به کاغذهای نیتروسلولز انجام مراحل شستشو و مسدودسازی با Skimmed milk ۵٪ انجام شد. به‌منظور ردیابی پروتئین‌های موردنظر از آنتی‌بادی اولیه پلی‌کلونال ضد پروتئین‌های مورد مطالعه با رقت ۱/۲۰۰ و

PCR با استفاده از کیت miRcute miRNA qPCR Detection Kit (SYBR Green) و روش مقایسه‌ای $\Delta\Delta Ct$ مورد ارزیابی قرار گرفت. از ژن u6 به عنوان کالیبراتور استفاده گردید. نتایج براساس فرمول عمومی $\Delta\Delta Ct-2$ گزارش شد. تمام نمونه‌ها با ۲ بار تکرار انجام گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS version 16 استفاده گردید. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون سنجیده شده است. محاسبات آماری از طریق نرم‌افزار با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (۹.۰.۰) از مسیر تحلیل colume با استفاده از آنالیز Two-way Anova رسم شده‌اند. آزمون تعقیبی توکی و همچنین از آزمون همبستگی پیرسون نیز برای بررسی رابطه بین متغیرها استفاده و همچنین سطح معنی‌داری برای تمام روش‌های آماری در سطح احتمال ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

آنتی‌بادی ثانویه پلی‌کلونال ضد IgG با HRP استفاده شد. آشکارسازی با استفاده از کروموزن DAB انجام شد. از پروتئین GAPDH یا بتا اکتین به عنوان کالیبراتور استفاده شد. ارزیابی نسبت دانسیته باندهای پروتئین‌های هدف نسبت به GAPDH با استفاده از نرم‌افزار MEA5 انجام شد و نتایج با واحد قراردادی و نسبت به بیان پروتئین کالیبراتور گزارش شد. به منظور ارزیابی بیان miR-132، از روش Realtime PCR استفاده شد. از RNA U6 به عنوان کالیبراتور استفاده شد. استخراج RNA با استفاده از روش فنول-کلروفرم-گوانیدین ایزو-تیو-سیانات و کیت تجاری miRcute miRNA Isolation Kit-Tiagen، چین انجام می‌شود. به منظور سنتز cDNA در ارزیابی بیان miRNAs از روش polyadenylation و کیت‌های Tiagen-mirCUITE، چین استفاده شد. کیفیت RNA استخراج‌شده با استفاده از روخوانی نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ و دستگاه نانودراپ انجام گردید. نمونه‌های cDNA به منظور انجام واکنش Real time



شکل ۱: نمودار جریانی طراحی پژوهش

جدول ۱: خلاصه برنامه تمرینی

دوره زمانی (Period)	سرعت (Velocity)	مدت زمان (Duration)
آمادگی (Adaptation)	5-10	10-25
Week 1	13	30 min
Week 2	14	30 min
Week 3	15	40 min
Week 4	16	40 min
Week 5	17	50 min
Week 6	18	50 min
Week 7	19	60 min
Week 8	20	60 min

نتایج

مطالعه حاضر نیز نشان داد که رژیم غذایی پرچرب می تواند ویژگی های MetS را در مدل های جوندگان القا کند. موش های آزمایشگاهی که با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند، دچار چاقی، هیپرگلیسمی، دیس لیپیدمی و اختلال در تحمل گلوکز گردیدند ($p < 0.05$). به دلیل شیوع بالای سندرم متابولیک در سنین میانسالی، در این مطالعه رژیم غذایی را از ۱۲ ماهگی معادل میانسالی در انسان آغاز کردیم و با توجه به اینکه که این اختلالات در متابولیسم کلسترول در مغز بیماران مبتلا به سندرم متابولیک می تواند به تغییرات مولکولی و آسیب های عصبی منجر شود، بعد از ۸ هفته اثرات کرونوبیولوژیک فعالیت بدنی بر عامل تخریب نورونی Aβ42 و miR-132 را بررسی کردیم که بدین شکل تغییر یافتند (جدول ۲). نتایج آزمون حداکثر سرعت نشان داد که تفاوت معنی داری بین گروه های تجربی در حالت پایه وجود ندارد ($P > 0.05$). هشت هفته تمرین هوازی در صبح و عصر باعث افزایش معنی دار نتایج آزمون حداکثر سرعت موش - های گروه سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه سندرم متابولیک و کنترل شد ($P < 0.05$). بیشترین افزایش حداکثر سرعت در گروه سندرم متابولیک + تمرین در عصر مشاهده شد. بین اثر هشت هفته تمرین هوازی در صبح نسبت به عصر بر حداکثر سرعت موش های گروه های سندرم متابولیک + تمرین تفاوت معنی داری وجود دارد ($P \leq 0.05$). علاوه بر این، هم چنین هشت هفته تمرین تداومی باعث کاهش وزن گروه های سندرم متابولیک + تمرین به نسبت گروه های سندرم متابولیک شد اما

به سطح معنی داری نرسید ($P > 0.05$). این نتایج نشان دهنده تاثیرگذاری هشت هفته مداخله تمرینی بر متغیرهای تثبیت کننده در تحقیق حاضر است. تغییرات شاخص های مقاومت به انسولین نشان داد که بیشترین میانگین گلوکز خون، انسولین و HOMA-IR در گروه های سندرم متابولیک بویژه در عصر مشاهده شد ($p < 0.05$). هم چنین میزان گلوکز خون، انسولین و HOMA-IR در گروه سندرم متابولیک + تمرین در عصر نسبت به گروه سندرم متابولیک + تمرین صبح کاهش نشان داده است ($p < 0.05$). نتایج آزمون شاپیرولیک و لوین نشان می دهد که متغیرهای تحقیق در تمام گروه ها دارای سطح معنی داری بالاتر از ۰.۰۵ می باشد که نشان دهنده توزیع طبیعی و برابری واریانس در گروه ها است ($P > 0.05$). تغییرات پروتئین های ساعت شبانه - روزی در هیپوکمپ نشان داد که کمترین میزان پروتئین BMAL1 در گروه های سندرم متابولیک بویژه در عصر و بیشترین مقدار آن در گروه کنترل در اوایل فاز روشنایی مشاهده شد. پروتئین BMAL1 در گروه سندرم متابولیک + تمرین در اوایل فاز روشنایی نسبت به گروه سندرم متابولیک + تمرین در عصر افزایش نشان داده است ($p < 0.05$). علاوه بر این، کمترین میزان پروتئین PER2 در گروه کنترل در اوایل فاز روشنایی و بیشترین مقدار آن در گروه کنترل در عصر مشاهده شد. پروتئین PER2 در گروه سندرم متابولیک + تمرین در اوایل فاز روشنایی نسبت به گروه سندرم متابولیک + تمرین در عصر افزایش نشان داده است ($p < 0.05$).

mir 132 در گروه کنترل ($P=0/001$) نسبت به گروه سندرم متابولیک + تمرین ($P=0/001$) در صبح نسبت به عصر کاهش معنی داری نشان داد. (۳) سطح miR-132 در گروه سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه سندرم متابولیک در عصر ($P=0/001$) افزایش معنی دار داشت (شکل ۳ و ۲).

اثرات کرونوبیولوژیک تمرین بر پردازش بتا آمیلوئید: نتایج تحلیل واریانس دو راهه نشان داد (جدول ۳) که اثر اصلی گروه ($P=0/001$) و اثر اصلی زمان ($P=0/000394$) برای سطح $A\beta 42$ معنی دار است اما اثر تعامل (گروه $\times$ زمان) معنی دار نمی باشد ($P=0/1076$). بنابراین با توجه به سطح معنی داری اثر تعامل تفاوت معنی داری در غلظت ($A\beta 42$) بین گروه های کنترل، سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین در اوایل فاز روشنائی و عصر وجود ندارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای سطح پروتئین $A\beta 42$ نشان داد که: (۱) سطح پروتئین $A\beta 42$ در گروه سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه کنترل در هر دو زمان صبح و عصر افزایش معنی داری یافت ($P=0/001$). (۲) سطح پروتئین $A\beta 42$ در گروه سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین در صبح نسبت به عصر $A\beta 42$ معنی داری نشان نداد. (۳) سطح پروتئین $A\beta 42$ در گروه سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه سندرم متابولیک در عصر ($P=0/002$) کاهش معنی دار داشت (شکل ۳ و ۲).

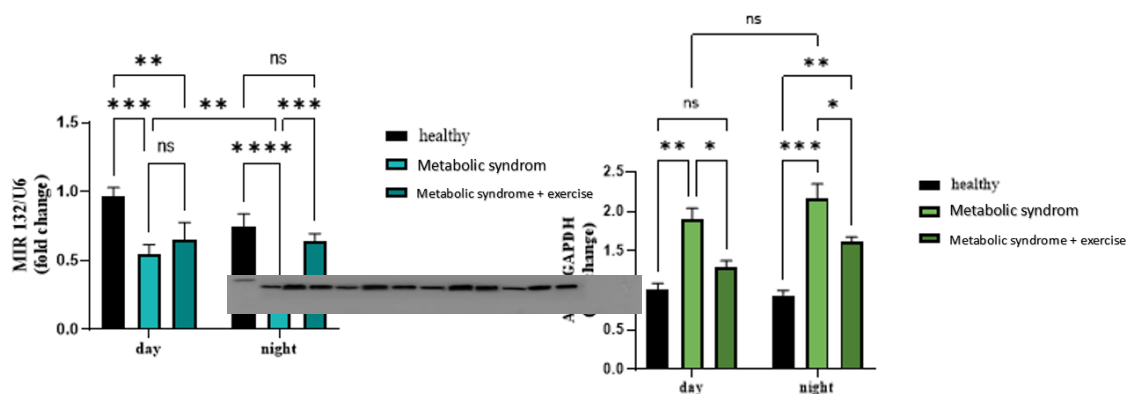
اثرات کرونوبیولوژیک تمرین بر بیان miR-132: بر اساس نتایج تحلیل واریانس دو راهه که در جدول ۳ نشان داده شده است، جهت مقایسه های بین گروهی بیان miR-132 در هیپوکمپ موش های سندرم متابولیک نشان داد که اثر اصلی گروه، اثر اصلی زمان و اثر تعامل (گروه $\times$ زمان) بر بیان پروتئین miR-132 در هیپوکمپ گروه های تحقیق معنی دار می باشد. بنابراین با توجه به معنی داری اثر تعامل ($P=0/001$)، اختلاف معنی داری بین میانگین miR-132 گروه های کنترل، سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین در صبح و عصر وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای اثر اصلی گروه نشان داد که سطح miR-132 در گروه های سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه کنترل در روز افزایش معنی دار داشت ($P=0/001$). همچنین افزایش معنی داری سطح miR-132 در گروه های سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه سندرم متابولیک در روز مشاهده شد. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای اثر اصلی زمان نشان دهنده افزایش معنی دار سطح miR-132 در صبح نسبت به عصر است ($P=0/009$) اما این افزایش در مقایسه گروه های تمرین معنی دار نبود ($P\geq 0/9999$). با این حال نتایج آزمون تعقیبی توکی برای سطح miR-132 نشان داد که: (۱) سطح miR-132 در گروه سندرم متابولیک نسبت به گروه کنترل در هر دو زمان صبح و عصر کاهش معنی داری یافت ($P=0/001$). (۲) سطح

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار میزان تغییرات پارامترهای مورد مطالعه پس از مداخله در گروه های مختلف آزمایشی

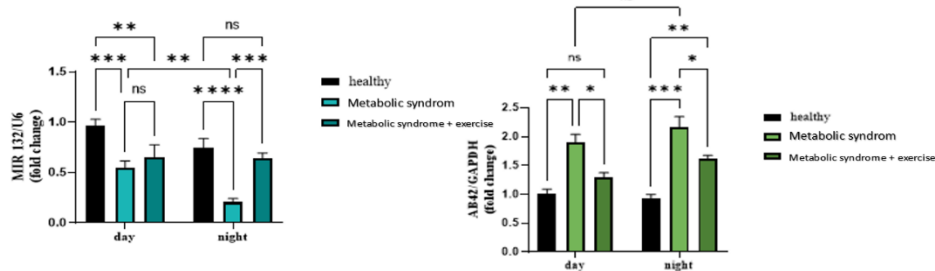
ZTE/MS.E	ZTM/MS.E	ZTE/MS	ZTM/MS	ZTE/H	ZTM/H	
۲/۰±۹۱/۲۷	۳/۰±۱۶/۴۷	۴/۰±۴۵/۳۰	۴/۰±۰۲/۲۵	۱/۰±۸۸/۲۴	۱/۰±۸۳/۱۷	Insulin
۱۲۷/۸±۴۰/۹۷	۱۴۳/۵±۲۰/۶۴	۱۵۷/۱۵±۳۴/۴۶	۱۴۳/۵±۵۸/۱۰	۱۱۶/۴±۴۰/۲۳	۱۰۱/۴±۱۸/۱۰	Glucose
۷/۰±۶۱/۹۹	۹/۱±۵۷/۲۸	۱۴/۱±۳۱/۵۱	۱۱/۰±۸۰/۳۰	۴/۰±۴۸/۶۶	۳/۰±۷۸/۳۲	HOM IR
۳۶/۳۳±۱/۵۲	۳۴/۳۳±۱/۵۲	۴۰/۶۶±۳/۰۵	۴۱/۳۳±۱/۵۲	۳۴/۰±۲/۶۴	۳۳/۰±۳/۶۰	Weight
۱۲۲±۸/۵۴	۱۶۲±۱۰/۱۴	۱۹۲/۶۶±۲۸/۵۰	۲۰۳±۱۷/۰۸	۹۱/۶۶±۳/۸۷	۹۴/۶۶±۷/۷۶	Cholesterol
۱۰۶/۶۶±۸/۷۳	۱۱۲±۱۰/۵۸	۱۳۱/۶۶±۹/۷۱	۱۵۴/۳۳±۹/۲۹	۶۲/۶۶±۶/۶۵	۶۳/۶۶±۷/۵۷	TG
۶۶/۳۳±۴/۵۰	۱۰۷±۶	۱۴۴/۳۳±۲۶/۵۷	۱۵۱/۳۳±۱۶/۰۴	۳۴/۳۳±۸/۷۳	۴۰/۶۶±۶/۱۱	HDL
۹۷±۹/۱۶	۱۰۵/۳۳±۶/۶۵	۱۵۲±۱۷/۴۳	۱۵۸/۶۶±۹/۰۱	۷۶±۱۱/۳۵	۷۳/۳۳±۱۰/۰۱	LDL
۲۴/۶۶±۱/۷۰	۲۴/۶۶±۱/۱۵	۱۵/۶۰±۰/۹۱	۱۴/۸۳±۱/۶	۱۵/۵۰±۱/۳۲	۱۵/۱۶±۱/۰۴	VMAX
۰/۰±۳۲/۰۱	۰/۰±۶۶/۰۳	۰/۰±۱۶/۰۲	۰/۰±۳۷/۰۲	۰/۰±۴۷/۰۳	۱/۰±۰/۰۳	BMAL1
۱/۰±۹۵/۱۶	۲/۰±۱۰/۱۰	۱/۰±۲۰/۰۴	۱/۰±۶۱/۱۷	۳/۰±۲۷/۱۹	۱/۰±۰/۰۶	PER2
۱/۶۱±۰/۰۵	۱/۲۹±۰/۰۸	۲/۱۵±۱/۱۹	۱/۸۹±۰/۱۴	۰/۹۳±۰/۰۵	۱/۰۰±۰/۰۸	AB42
۰/۶۴±۰/۰۵	۰/۶۵±۰/۱۲	۰/۲۰±۰/۰۳	۰/۵۴±۰/۰۶	۰/۷۴±۰/۰۹	۰/۹۶±۰/۰۶	miR-132

جدول ۳: نتایج تحلیل واریانس دوره‌ای

متغیر	منابع تغییرات	P	F
Aβ42	عامل اصلی گروه	۰/۰۰۰۱	۸۷/۰۸
	عامل اصلی زمان	۰/۰۳۹۴	۶/۸۸۶
	اثر تعامل (گروه × زمان)	۰/۱۰۷۶	۳/۳۰۸



جدول متغیرهای جانبی در پس آزمون				
زمان		گروه		
متغیر	صبح	کنترل	سندرم متابولیک	سندرم متابولیک + تمرین
BMAL1	-	-	-	↑
PER2	صبح	-	-	↑
PER2	عصر	-	-	↑
TG	صبح	-	-	↓
TG	عصر	-	-	↓
گلوکز ناشتا	صبح	-	-	↓
گلوکز ناشتا	عصر	-	-	↓
وزن (گرم)	صبح	-	-	↓
وزن (گرم)	عصر	-	-	↓
حداکثر سرعت (متر/دقیقه)	صبح	-	-	↑
حداکثر سرعت (متر/دقیقه)	عصر	-	-	↑



شکل ۲: تغییرات Aβ42 در پس آزمون

شکل ۳: تغییرات miR-132 در پس آزمون

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تغییرات متابولیک ناشی از HFD به طور قابل توجهی باعث القاء فنوتیپ سندرم متابولیک می شود که با افزایش معنی دار شاخص های مقاومت به انسولین از جمله؛ هیپرگلیسمی، هیپرانسولینمی و HOMA-IR هیپرکلسترولمی و افزایش تری گلیسیرید، تغییرات لیپوپروتئین ها و افزایش وزن مشخص می شود. این نتایج به طور کلی با یافته های برخی از مطالعات که نشان داده اند رژیم های پرچرب منجر به افزایش وزن، هیپرگلیسمی و دیس لیپیدمی می شوند، هم خوان است (۱،۳،۳۷). برای مثال در مطالعه فریس و همکاران، در سال ۲۰۱۹ نشان دادند، استفاده از رژیم غذایی پرچرب از ۱۲ ماهگی تأثیرات منفی بر وضعیت متابولیک موش ها در مراحل میانسالی خواهد داشت (۴۲). در این مطالعه، نتایج آزمون حداکثر سرعت نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی منجر به بهبود معنادار سرعت حداکثر موش های گروه سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه های کنترل و سندرم متابولیک شد. این افزایش در آزمون حداکثر سرعت می تواند به عنوان نشان دهنده بهبود عملکرد فیزیکی در گروه های تمرینی تفسیر شود. این یافته ها با نتایج مطالعه دیگر که تأثیر مثبت فعالیت های ورزشی بر بهبود قدرت بدنی و ظرفیت فیزیکی در مدل های حیوانی مبتلا به اختلالات متابولیک را نشان می دهند، هم خوانی دارد (۴۲). هم چنین، بیشترین افزایش سرعت در گروه های تمرین در عصر مشاهده شد که می تواند به تأثیر زمان انجام تمرین بر نتایج بدنی و فیزیولوژیکی اشاره کند. این یافته با شواهد موجود در مطالعه Reilly & Waterhouse در سال ۲۰۰۹ مبنی بر تأثیر ریتم شبانه روزی بر عملکرد فیزیولوژیکی بدن هماهنگ است. در ساعات عصر، افزایش طبیعی دمای مرکزی بدن می تواند به بهبود توان عضلانی، افزایش جریان خون و ارتقاء عملکرد ورزشی منجر شود (۴۳). Chtourou & Souissi در سال ۲۰۱۲ در مطالعه ای نشان داده اند که اوج عملکرد جسمی اغلب در اواخر بعدازظهر تا اوایل شب مشاهده می شود، زمانی که بدن از نظر دما، ترشح هورمون ها و واکنش های عصبی در بهترین وضعیت قرار دارد هم چنین،

فرصت کافی برای تغذیه، استراحت و آمادگی روانی در طول روز می تواند در ارتقاء عملکرد عصرگاهی مؤثر باشد (۴۴). یکی دیگر از جنبه های مهم این مطالعه تغییرات در شاخص های مقاومت به انسولین از جمله گلوکز خون، انسولین و HOMA-IR است. این شاخص ها نشان دهنده تغییرات در متابولیسم گلوکز و حساسیت به انسولین در مدل های سندرم متابولیک هستند. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان گلوکز خون، انسولین و HOMA-IR در گروه های سندرم متابولیک بیشتر از گروه های کنترل بود، اما این شاخص ها پس از هشت هفته تمرین هوازی کاهش یافتند. به طور خاص، تمرینات در عصر تأثیر بیشتری بر کاهش این شاخص ها داشتند. این نتایج نشان دهنده تأثیر مثبت تمرین هوازی بر بهبود حساسیت به انسولین و کاهش مقاومت به انسولین در موش های مبتلا به سندرم متابولیک است. این یافته ها با مطالعاتی چون مرادی و همکاران در سال ۲۰۲۲، که نشان داده اند تمرینات ورزشی می توانند مقاومت به انسولین را بهبود بخشند و متابولیسم گلوکز را تنظیم کنند، سازگاری دارد (۴۵). هم چنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین تداومی در عصر در مقایسه با صبح به طور مؤثری هایپرگلیسمی و مقاومت به انسولین ناشی از سندرم متابولیک را بهبود بخشید. این مزیت متابولیکی تا حدودی از طریق تنظیم ژن های ساعت BMAL1 و PER2 توسط تمرین تناوبی میانجی گری می شود. این یافته ها می تواند نشان دهنده تأثیر فعالیت بدنی بر تنظیم ساعت زیستی و بهبود عملکرد مغزی در مدل های سندرم متابولیک باشد. تغییرات در این پروتئین ها می تواند به کاهش آسیب های عصبی و بهبود عملکرد مغزی کمک کند و از این طریق تأثیرات متابولیک نامطلوب را کاهش دهد. مطالعه ای از Zhai و همکاران، در سال ۲۰۲۴ که به بررسی اثرات تمرینات ورزشی بر ساعت بیولوژیک در مدل های حیوانی دیابتی پرداخته، نیز نشان داده شده بهبود متغیرهای بیولوژیک و تأثیرات آنها بر روند درمان بسیار مفید است (۴۶). پروتئین های ساعت شبانه روزی مانند BMAL1 و PER2 نقش مهمی در تنظیم ریتم شبانه روزی دارند و می توانند تأثیرات قابل توجهی بر متابولیسم و پلاستیسیته عصبی داشته باشند. در تحقیق حاضر، نتایج نشان می دهد که کمترین میزان پروتئین BMAL1 در گروه های سندرم متابولیک، به ویژه در عصر مشاهده شد، در

حالی که بیشترین مقدار آن در گروه کنترل در صبح دیده شد. این نتایج نشان می‌دهند که سندرم متابولیک می‌تواند بر ریتم شبانه‌روزی پروتئین‌های ساعت زیستی تأثیر بگذارد، به‌طور خاص در گروه سندرم متابولیک پروتئین BMAL1 نسبت به گروه کنترل تغییرات منفی بیشتری دارد. پروتئین BMAL1 یکی از پروتئین‌های کلیدی در سیستم ساعت بیولوژیک است که با تنظیم بیان ژن‌های ساعت زیستی نقش مهمی در هماهنگ کردن فرآیندهای متابولیک و فیزیولوژیک ایفا می‌کند. کاهش سطح BMAL1 در گروه‌های سندرم متابولیک می‌تواند نشان‌دهنده اختلال در ریتم شبانه‌روزی و تنظیم ساعت بیولوژیک باشد که ممکن است باعث بدتر شدن علائم دیابت و اختلالات متابولیکی شود. در مطالعه Liu و همکاران، در سال ۲۰۲۰ نیز مشاهده شد که در مدل‌های حیوانی سندرم متابولیک، کاهش سطح BMAL1 با بروز اختلالات متابولیکی و افزایش مقاومت به انسولین همراه است (۴۷). از این رو، یافته‌های تحقیق حاضر با این داده‌ها همخوانی دارند و به این نکته اشاره دارند که اختلال در پروتئین‌های ساعت زیستی می‌تواند به عنوان یکی از عوامل مؤثر در بروز مشکلات متابولیکی و دیابت نوع ۲ عمل کند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که پروتئین BMAL1 در گروه سندرم متابولیک + تمرین در صبح نسبت به گروه سندرم متابولیک + تمرین در عصر افزایش یافته است. این تغییرات در سطح پروتئین BMAL1 نشان‌دهنده اثر مثبت تمرینات هوازی بر بازسازی و تنظیم مجدد ساعت زیستی در مدل‌های سندرم متابولیک است. این یافته‌ها با نتایج مطالعه Shen و همکاران در سال ۲۰۲۳ مشابه هستند که نشان دادند تمرینات ورزشی می‌توانند اثرات مثبتی بر ریتم‌های شبانه‌روزی بدن داشته و به بهبود عملکرد ساعت زیستی کمک کنند (۴۸). پروتئین PER2 نیز در تحقیق حاضر تغییراتی را در سطح صبح و عصر نشان داد. کمترین میزان این پروتئین در گروه کنترل در صبح و بیشترین میزان آن در عصر مشاهده شد. این یافته‌ها بیانگر تنظیم دقیق ریتم شبانه‌روزی پروتئین‌های ساعت زیستی در شرایط طبیعی هستند. اما در گروه سندرم متابولیک + تمرین، افزایش سطح پروتئین PER2 در صبح نسبت به عصر مشاهده شد که نشان‌دهنده اثرات مفید تمرینات ورزشی در تنظیم مجدد این پروتئین است. مطالعات متعدد، از

جمله تحقیق Xu و همکاران، در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که تمرینات ورزشی می‌توانند تأثیرات مثبتی بر تنظیم پروتئین‌های ساعت زیستی از جمله BMAL1 و PER2 داشته باشند (۴۹). این اثرات می‌توانند به تنظیم مجدد ریتم‌های شبانه‌روزی و بهبود عملکرد متابولیک کمک کنند، که در نهایت منجر به کاهش عوارض دیابت و بهبود کیفیت زندگی افراد مبتلا به این بیماری می‌شود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد، تمرین تداومی باعث کاهش سطوح A β 42 در هر دو زمان صبح و عصر در هیپوکمپ موش‌های آزمایشگاهی می‌شود. تعدیل و افزایش میزان miR-132 در تمرین عصر تفاوت معنی داری را نشان می‌دهد. همسو با نتایج این مطالعه نشان داده شده است که که زمانبندی شبانه‌روزی می‌تواند بر نتایج فعالیت بدنی در سطح مولکولی تأثیر بگذارد (۴۸،۵۰). شواهد در انسان (۵۲، ۵۱) و موش (۵۳،۵۴) نشان می‌دهد که انجام تمرینات ورزشی در زمان‌های مختلف روز منجر به اثرات متابولیکی متفاوتی می‌شود. با این حال، اطلاعات در مورد مکانیسم‌های زیربنایی این تفاوت‌ها محدود است. به نظر می‌رسد که ریتم‌های فیزیولوژیکی تأثیر مستقیمی بر پاسخ‌های تمرینی دارد (۵۰). A β 42 یکی از پروتئین‌های آمیلوئیدی است که در تشکیل پلاک‌های آمیلوئید در مغز نقش دارد و به عنوان یک شاخص مهم در بیماری آلزایمر شناخته می‌شود. تجمع غیرطبیعی A β 42 در مغز به طور مستقیم با اختلالات شناختی و نوروپلاستیسیته همراه است. در این مطالعه، افزایش سطح A β 42 در گروه‌های سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین نشان‌دهنده تأثیرات منفی این پروتئین در وضعیت پاتولوژیک سندرم متابولیک است، ولی کاهش سطح آن در گروه تمرین نسبت به گروه بدون تمرین، مؤید اثرات مثبت ورزش بر کاهش تجمع این پروتئین است. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که تمرینات هوازی می‌توانند سطح A β 42 را کاهش دهند و از تجمع آن در مغز جلوگیری کنند. لذا، در مطالعه‌ای توسط Tang و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان داده شد که تمرینات هوازی قادرند سطح A β 42 را در مدل‌های حیوانی کاهش دهند (۵۵). این مطالعه نیز مشابه به یافته‌های ماست، که در آن مشاهده شد که گروه‌های تمرین شده در عصر سطح کمتری از A β 42 را نسبت به گروه سندرم متابولیک نشان دادند. همچنین، تحقیقی توسط Anderot و

همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داده شد که تمرینات ورزشی می‌توانند با کاهش التهاب سیستمیک و بهبود فرآیندهای اتوفاژی از تجمع پروتئین‌های آمیلوئیدی جلوگیری کنند (۵۶). در این تحقیق، تفاوت‌های مشاهده شده در سطح $A\beta_{42}$ در دو زمان صبح و عصر نشان‌دهنده این است که زمان تمرین ممکن است بر پردازش پروتئین‌های آمیلوئیدی تأثیر بگذارد. این نکته می‌تواند نشان‌دهنده اثرات متغیر تمرین در ساعات مختلف روز بر متابولیسم مغز و پردازش پروتئین‌ها باشد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح $miR-132$ در گروه‌های سندرم متابولیک و سندرم متابولیک + تمرین نسبت به گروه کنترل در روز افزایش معناداری داشته است. این نتیجه نشان‌دهنده اثر مثبت تمرینات ورزشی بر بیان $miR-132$ در هیپوکمپ موش‌های مبتلا به سندرم متابولیک است. همچنین مشاهده شد که افزایش سطح $miR-132$ در گروه سندرم متابولیک + تمرین در مقایسه با گروه سندرم متابولیک به‌طور معناداری بیشتر بوده است. این یافته‌ها به‌طور مستقیم تأثیر تمرینات هوازی بر تنظیم $miRNAs$ در هیپوکمپ را تأیید می‌کنند. اکثر مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌توانند بر سطح $miR-132$ تأثیر بگذارند. به عنوان مثال، در تحقیق Mu, C, Gao و همکاران، در سال ۲۰۲۴ اثرات تمرینات ورزشی بر بیان $miR-132$ در مدل‌های حیوانی سندرم متابولیک بررسی شد که نشان دادند فعالیت بدنی می‌تواند سطح $miR-132$ را در هیپوکمپ افزایش دهد و به بهبود پلاستیسیته سیناپسی و عملکرد شناختی کمک کند (۵۷). همچنین Liu و همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه‌ای بر روی موش‌های مبتلا به آلزایمر، گزارش کردند که تمرینات ورزشی باعث افزایش $miR-132$ در هیپوکمپ و کاهش آسیب‌های نورونی ناشی از آمیلوئید شدند (۴۷). نتایج تحقیق حاضر نیز این اثرات مشابه را تأیید می‌کنند و نشان می‌دهند که $miR-132$ به عنوان یک مولکول کلیدی در فرآیندهای پلاستیسیته عصبی می‌تواند تحت تأثیر تمرینات ورزشی قرار گیرد. در ارتباط با تأثیر زمان بر بیان $miR-132$ در مطالعه حاضر نشان دادیم که سطح $miR-132$ در زمان‌های صبح نسبت به عصر افزایش معنی‌داری دارد. این یافته‌ها به‌ویژه برای گروه‌های تمرین حائز اهمیت است. در واقع، تفاوت‌های زمانی در پاسخ به تمرینات می‌تواند نشان‌دهنده حساسیت

متفاوت سیستم‌های مولکولی به تمرین در ساعات مختلف روز باشد. این مورد می‌تواند به دلیل تأثیرات متفاوت ریتم‌های شبانه‌روزی بر فرآیندهای سلولی و مولکولی در هیپوکمپ باشد. مطالعه Zhai و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان دادند که زمان‌بندی تمرینات بر میزان تغییرات $miRNAs$ و دیگر نشانگرهای مولکولی تأثیر می‌گذارد (۴۶). این یافته‌ها مشابه نتایج تحقیق حاضر هستند که نشان می‌دهند پاسخ‌های $miRNAs$ به تمرینات ورزشی ممکن است تحت تأثیر زمان اجرای تمرینات قرار گیرند. به‌طور خاص، در شرایط خاصی از جمله در ساعات صبح، پاسخ‌ها می‌توانند شدت بیشتری داشته باشند که ممکن است ناشی از تفاوت‌های درون‌سلولی و تنظیمات کرونوبیولوژیک باشد. در ارتباط با اثر تعامل گروه $\times$ زمان بر سطح $miR-132$ ، نتایج تحلیل تعامل (گروه $\times$ زمان) نشان داد که در گروه سندرم متابولیک، سطح $miR-132$ در هر دو زمان صبح و عصر نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. این نتیجه به خوبی نشان‌دهنده اختلالات مولکولی در گروه‌های مبتلا به سندرم متابولیک است که می‌تواند تأثیرات منفی این بیماری بر تنظیم $miRNAs$ را توضیح دهد. به علاوه، در گروه سندرم متابولیک + تمرین، سطح $miR-132$ نسبت به گروه سندرم متابولیک در هر دو زمان صبح و عصر به‌طور معناداری افزایش یافت که نشان‌دهنده تأثیر مثبت تمرینات ورزشی در تنظیم $miR-132$ حتی در شرایط پاتولوژیک است. این نتایج با مطالعات دیگر همخوانی دارد که نشان داده‌اند اختلالات در تنظیم $miRNAs$ در بیماری‌هایی مانند دیابت و سندرم متابولیک می‌تواند بر پلاستیسیته عصبی و عملکرد مغزی تأثیر منفی بگذارد. Mu, C, Gao و همکاران در سال ۲۰۲۴ در مطالعه‌ای روی موش‌های مبتلا به سندرم متابولیک گزارش کردند که کاهش $miR-132$ در هیپوکمپ به کاهش عملکرد شناختی و یادگیری منجر می‌شود. تمرینات ورزشی در این مطالعه باعث افزایش مجدد $miR-132$ و بهبود پلاستیسیته عصبی شدند که مشابه نتایج تحقیق حاضر است (۵۷). در مطالعه همسوی Aten و همکاران، در سال ۲۰۱۸ نشان دادند که $miR-132$ به‌طور قابل‌توجهی در نورون‌ها در AD و بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو کاهش نشان داد و با توجه به فیزیولوژی شبانه‌روزی، بیان کرد که بیان $miR-132$ تحت

پژوهش حاضر مجالی جهت بررسی ریتم شبانه‌روزی در سایر اندام‌ها و اعمال دیگر شدت‌ها و مدل‌های تمرینی نبوده است، لذا انجام پژوهش‌هایی با موارد عنوان شده پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به دنبال تمرین تداومی و بهبود فاکتورهای متابولیک، کاهش میزان A β 42 به دنبال افزایش بیان miR-132 در هیپوکامپ موش‌های آزمایشگاهی دارای سندرم متابولیک رخ می‌دهد. تغییرات ایجاد شده در miR-132 در عصر با کاهش عوامل تخریب نورونی همچون A β 42 ناشی از این تمرینات ورزشی می‌تواند در ارتباط باشد. در نتیجه به نظر می‌رسد، تمرینات تداومی می‌تواند از طریق تعدیل فاکتورهای مرتبط با ریتم شبانه‌روزی و در نتیجه افزایش بیان پروتئین‌ها و miRNAs از تحلیل سیستم عصبی ناشی از سندرم متابولیک جلوگیری کند.

سپاس‌گزاری

بدینوسیله از زحمات اساتید و کادر محترم دانشکده تربیت بدنی و دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله منتج از پایان نامه مقطع دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد که در دانشگاه شهید چمران اهواز تصویب و با حمایت مالی این دانشگاه به انجام رسیده است.

حامی مالی: ندارد

تعارض در منافع: وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

تمام مراحل آزمایش بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید چمران اهواز با کد اخلاق IR.SCU.REC.1403.044 طراحی و اجرا شد.

مشارکت نویسندگان

نویسنده اول و دوم و چهارم در ارائه ایده و در طراحی مطالعه، نویسنده اول در جمع‌آوری داده‌ها و در تجزیه و تحلیل داده‌ها مشارکت داشته و همه نویسندگان در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سوالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

کنترل نوسان‌گر شبانه‌روزی در SCN است (۲۶). کاهش بیان miR-132 در بیماران مبتلا به AD و ALS نیز مشاهده می‌شود، احتمالاً به این دلیل که miR-132 به شدت در مغز بیان می‌شود و چندین مسیر مرتبط با استرس اکسیداتیو را تنظیم می‌کند. miR-132 نمونه‌ای از این نوع پلیوتروپی تنظیمی miRNA با پیامدهای مستقیم در تخریب عصبی است (۲۹،۵۳). مطالعات نشان دادند که در مقابل، بیان miR-132 در ترویج التهاب در سلول‌های چربی نقش دارد. این فرآیند در التهاب مزمن که ممکن است زمینه ساز مقاومت به انسولین در افراد چاق باشد، نقش دارد (۲۸،۵۸). در این رابطه Hernandez و همکاران، در سال ۲۰۱۶ دریافتند که مقدار A β 42 محلول درون زا در هیپوکامپ در موش‌های AD تراخیخته سه گانه ۱۸ ماهه (3xTg-AD) با غیرفعال‌سازی miR-132 در مقایسه با گروه کنترل و بدون حذف miR-132 به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است، که نشان داد که کمبود miR-132 در موش می‌تواند تولید A β افزایش دهد تجمع و رسوب‌گذاری نقش داشته باشد. علاوه بر این، با توجه به داده‌های برخی مطالعات همسو، محققان دریافتند که سطح miR-132 در بیماران مبتلا به اختلال شناختی خفیف (MCI) و AD در مقایسه با افراد سالم پایین‌تر است و بین سطوح miR-132 همبستگی منفی وجود دارد و سطح miR-132 و A β 42 نامحلول نیز به طور قابل‌توجهی همبستگی داشتند (۲۸). برای تأیید بیشتر ارتباط بین miR-132 و A β ، نشان داده شد که miR132 در رده‌های سلولی به طور پایدار A β (انسانی) را بیان می‌کنند. در رده‌های سلولی، miR-132 به‌طور قابل‌توجهی سطوح A β 40 و A β 42 انسانی (محلول) را کاهش داد، که نشان می‌دهد کمبود miR-132 باعث افزایش تولید A β می‌شود (۲۸). در مجموع در مطالعه حاضر ما نشان دادیم که انجام تمرینات تداومی با شدت متوسط می‌تواند با تقویت ژن‌های ساعت به بهبود عوامل متابولیک و کاهش آمیلوئید بتا به دنبال بیان miR-132 در هیپوکامپ موش‌های دارای سندرم متابولیک منجر شود. از طرفی نشان دادیم تمرین در عصر تأثیر بیشتری در این ارتباط داشته است. از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم کنترل غذای مصرفی، بررسی دیگر وهله‌های ساعت بیولوژی مثل بعد از ظهر و همچنین ارزیابی دیگر ژن‌های وابسته به ریتم شبانه‌روزی بوده است و در

References:

- 1-Ezkurdia A, Ramírez MJ, Solas M. **Metabolic Syndrome as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: A Focus on Insulin Resistance.** Inter J Molecular Sci Int J Mol Sci 2023; 24(5): 4354.
- 2-Arjunan A, Song J. **Pharmacological and Physiological Roles of Adipokines and Myokines in Metabolic-Related Dementia.** Biomedicine & Pharmacotherapy 2023; 163: 114847.
- 3-Simopoulos AP. **Dietary Omega-3 Fatty Acid Deficiency and High Fructose Intake in the Development of Metabolic Syndrome, Brain Metabolic Abnormalities, And Non-Alcoholic Fatty Liver Disease.** Nutrients 2013; 5(8): 2901-23.
- 4- Zuliani I, Lanzillotta C, Tramutola A, Barone E, Perluigi M, Rinaldo S, et al. **High-Fat Diet Leads to Reduced Protein O-Glcacylation and Mitochondrial Defects Promoting the Development of Alzheimer's Disease Signatures.** Int J Mol Sci 2021; 22(7): 3746.
- 5- Henriques JF, Serra D, Dinis TC, Almeida LM. **The Anti-Neuroinflammatory Role of Anthocyanins and their Metabolites for the Prevention and Treatment of Brain Disorders.** Int J Mol Sci 2020; 21(22): 8653.
- 6- Lynn J, Park M, Ogunwale C, Acquah-Mensah GK. **A Tale of Two Diseases: Exploring Mechanisms Linking Diabetes Mellitus with Alzheimer's Disease.** J Alzheimer's Dis 2022; 85(2): 485-501.
- 7-Menon S, Sengupta N. **Influence of Hyperglycemic Conditions on Self-Association of the Alzheimer's Amyloid B (A β 1-42) Peptide.** ACS Omega 2017; 2(5): 2134-47.
- 8-Campos-Peña V, Pichardo-Rojas P, Sánchez-Barbosa T, Ortiz-Islas E, Rodríguez-Pérez CE, Montes P, et al. **Amyloid B, Lipid Metabolism, Basal Cholinergic System, and Therapeutics in Alzheimer's Disease.** Int J Mol Sci 2022; 23(20): 12092.
- 9- Rudajev V, Novotny J. **Cholesterol-Dependent Amyloid B Production: Space for Multifarious Interactions between Amyloid Precursor Protein, Secretases, and Cholesterol.** Cell & Bioscience 2023; 13(1): 171.
- 10-Ahmed H, Wang Y, Griffiths WJ, Levey AI, Pikuleva I, Liang SH, et al. **Brain Cholesterol and Alzheimer's Disease: Challenges and Opportunities in Probe and Drug Development.** Brain. 2024; 147(5): 1622-35.
- 11-Raulin A-C, Doss SV, Trottier ZA, Ikezu TC, Bu G, Liu C-C. **ApoE in Alzheimer's Disease: Pathophysiology and Therapeutic Strategies.** Molecular Neurodegener 2022; 17(1): 72.
- 12-Jacobo-Albavera L, Domínguez-Pérez M, Medina-Leyte DJ, González-Garrido A, Villarreal-Molina T. **The Role of the ATP-Binding Cassette A1 (ABCA1) in Human Disease.** Int J Mol sci 2021; 22(4): 1593.
- 13-Wu M, Zhai Y, Liang X, Chen W, Lin R, Ma L, et al. **Connecting the Dots between Hypercholesterolemia and Alzheimer's Disease: A Potential Mechanism Based on 27-Hydroxycholesterol.** Front Neurosci 2022; 16: 842814.
- 14-Liu Lc, Liang Jy, Liu Yh, Liu B, Dong Xh, Cai Wh, et al. **The Intersection of Cerebral Cholesterol**

- Metabolism and Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Prospects.** Heliyon 2024; 10(9): e30523.
- 15-Hong DY, Lee DH, Lee JY, Lee EC, Park SW, Lee MR, et al. **Relationship between Brain Metabolic Disorders and Cognitive Impairment: LDL Receptor Defect.** Int J Molecular Sci 2022; 23(15): 8384.
- 16-Gamba P, Staurengi E, Testa G, Giannelli S, Sottero B, Leonarduzzi G. **A Crosstalk between Brain Cholesterol Oxidation and Glucose Metabolism in Alzheimer's Disease.** Front Neurosci 2019; 13: 556.
- 17-Feringa FM, Van der Kant R. **Cholesterol and Alzheimer's Disease; From Risk Genes to Pathological Effects.** Frontiers in Aging Neurosci 2021; 13: 690372.
- 18-Astiz M, Heyde I, Oster H. **Mechanisms of Communication in the Mammalian Circadian Timing System.** Int J Mol Sci 2019; 20(2): 343.
- 19-Healy KL, Morris AR, Liu AC. **Circadian Synchrony: Sleep, Nutrition, and Physical Activity.** Front Netw Physiol 2021; 1: 732243.
- 20-Harmsen JF, Kotte M, Habets I, Bosschee F, Frenken K, Jorgensen JA, et al. **Exercise Training Modifies Skeletal Muscle Clock Gene Expression but Not 24- Hour Rhythmicity in Substrate Metabolism of Men with Insulin Resistance.** J Physiol 2023.
- 21-Asher G, Sassone-Corsi P. **Time for Food: The Intimate Interplay between Nutrition, Metabolism, and the Circadian Clock.** Cell 2015; 161(1): 84-92.
- 22-Bennett S, Sato S. **Enhancing the Metabolic Benefits of Exercise: Is Timing the Key?** Front Endocrinol 2023; 14: 987208.
- 23-Liu M, Zhang Z, Chen Y, Feng T, Zhou Q, Tian X. **Circadian Clock and Lipid Metabolism Disorders: A Potential Therapeutic Strategy for Cancer.** Frontiers in Endocrinol 2023; 14: 1292011.
- 24-Peng X, Wang Q, Li W, Ge G, Peng J, Xu Y, et al. **Comprehensive Overview of Microrna Function in Rheumatoid Arthritis.** Bone Res 2023; 11(1): 8.
- 25-Zhang J, Chen Z, Chen H, Deng Y, Li S, Jin L. **Recent Advances in the Roles of Microrna and Microrna-Based Diagnosis in Neurodegenerative Diseases.** Biosensor 2022; 12(12): 1074.
- 26-Aten S, Hansen KF, Price KH, Wheaton K, Kalidindi A, Garcia A, et al. **Mir-132 couples the Circadian Clock to Daily Rhythms of Neuronal Plasticity and Cognition.** Learning & Memory 2018; 25(5): 214-29.
- 27-Walgrave H, Penning A, Tosoni G, Snoeck S, Davie K, Davis E, et al. **Microrna-132 Regulates Gene Expression Programs Involved in Microglial Homeostasis.** IScience 2023; 26(6): 106829.
- 28-Hernandez-Rapp J, Rainone S, Goupil C, Dorval V, Smith PY, Saint-Pierre M, et al. **Microrna-132/212 Deficiency Enhances Aβ Production and Senile Plaque Deposition in Alzheimer's Disease Triple Transgenic Mice.** Scientific reports 2016; 6(1): 30953.
- 29-Li Y, Zhang J, He J, Zhou W, Xiang G, Xu R. **Microrna-132 Cause Apoptosis of Glioma Cells Through Blockade of the SREBP-1c Metabolic Pathway Related to SIRT1.** Biomedicine & Pharmacotherapy 2016; 78: 177-84.
- 30-Salama II, Sami SM, Abdellatif GA, Mohsen A, Rasmy H, Kamel SA, et al. **Plasma Micrornas**

- Biomarkers in Mild Cognitive Impairment among Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.** PloS one 2020; 15(7): e0236453.
- 31-Zhang M, Bian Z. **Alzheimer's Disease and Microrna-132: A Widespread Pathological Factor and Potential Therapeutic Target.** Front Neuros 2021; 15: 687973.
- 32-Mendoza-Viveros L, Obrietan K, Cheng H-M. **Commentary: Mir-132/212 Modulates Seasonal Adaptation and Dendritic Morphology of the Central Circadian Clock.** Cell Reports 2017; 19(3): 505.
- 33-Kouhnavardi S, Cabatic M, Mañas-Padilla MC, Malabanan M-A, Smani T, Cicvaric A, et al. **Mirna-132/212 Deficiency Disrupts Selective Corticosterone Modulation of Dorsal Vs. Ventral Hippocampal Metaplasticity.** Int J Mol Sci 2023; 24(11): 9565.
- 34-Babaei M, SiahKouhian M, Pourrahim A. **The Effect of Physical Training on Brain-Derived Nerve Growth Factor Levels and Beta-Amyloid Plaques in Patients with Alzheimer's Disease: A Review Article.** Paramedical Sci Military Health 2024; 19(1): 76-88.
- 35-Xu L, Liu R, Qin Y, Wang T. **Brain Metabolism in Alzheimer's Disease: Biological Mechanisms of Exercise.** Transl Neurodegener 2023; 12(1): 33.
- 36-Huang WC, Xu JW, Li S, Ng XE, Tung YT. **Effects of Exercise on High-Fat Diet-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Lipid Metabolism in Apoe Knockout Mice.** Nutr Metab 2022; 19(1): 10.
- 37-Caponi PW, Lehnen AM, Pinto GH, Borges J, Markoski M, Machado UF, et al. **Aerobic Exercise Training Induces Metabolic Benefits in Rats with Metabolic Syndrome Independent of Dietary Changes.** Clinics 2013; 68(7): 1010-7.
- 38-Wang J, Polaki V, Chen S, Bihl JC. **Exercise Improves Endothelial Function Associated with Alleviated Inflammation and Oxidative Stress of Perivascular Adipose Tissue in Type 2 Diabetic Mice.** Oxid Med Cell Longev 2020; 2020: 8830537.
- 39-Ostler JE, Maurya SK, Dials J, Roof SR, Devor ST, Ziolo MT, et al. **Effects of Insulin Resistance on Skeletal Muscle Growth and Exercise Capacity in Type 2 Diabetic Mouse Models.** Am J Physiol Endocrinol Metab 2014; 306(6): E592-E605.
- 40-Lee S, Park Y, Dellsperger KC, Zhang C. **Exercise Training Improves Endothelial Function Via Adiponectin-Dependent and Independent Pathways in Type 2 Diabetic Mice.** Am J Physiol Heart Circ Physiol 2011; 301(2): H306-14
- 41-Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. **Effects of High-Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training on Glycaemic Control and Skeletal Muscle Mitochondrial Function in Db/Db Mice.** Sci Rep 2017; 7(1): 204.
- 42-Song M, Bai Y, Song F. **High-Fat Diet and Neuroinflammation: The Role of Mitochondria.** Pharmacol Res 2025; 212: 107615.
- 43-Reilly T, Waterhouse J. **Sports Performance: Is There Evidence That the Body Clock Plays a Role?** Eur J Appl Physiol 2009; 106(3): 321-32.
- 44-Chtourou H, Souissi N. **The Effect of Training at A Specific Time of Day: A Review.** J Strength Cond Res 2012; 26(7): 1984-2005.
- 45- Moradi, Goodarz, Ghahremani, Mehran. **The Effect of Aerobic and Interval Training on Adropin Levels**

- and Insulin Resistance in Overweight Men*. Exercise and Biokinesiology 2022; 27(14): 13-23.
- 46-Qu Y, Zhai S, Zhang D, Li T, Xie Y, Tao S, et al. *Moderating Effects of Clock Genes DNA Methylation on the Relationship Between Physical Activity Trajectories and Depressive Symptoms Among Chinese College Students*. Health Psychol 2024 Sep 30.
- 47- Liu Y, Huang H, Gao R, Liu, Y. *Dynamic Phenotypes and Molecular Mechanisms to Understand the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy in Two Widely Used Animal Models of Type 2 Diabetes Mellitus*. Front Cell Dev Biol 2020; 8: 172.
- 48-Shen B, Ma C, Wu G, Liu H, Chen L, Yang G. *Effects of Exercise on Circadian Rhythms in Humans*. Front Pharmacol 2023; 14: 1282357.
- 49-Xu M, Zhu J, Liu XD, Luo MY, Xu NJ. *Roles of Physical Exercise in Neurodegeneration: Reversal of Epigenetic Clock*. Transl Neurodegener 2021; 10(1): 30.
- 50-Wolff CA, Esser KA. *Exercise Timing and Circadian Rhythms*. Curr Opin Physiol 2019; 10: 64-9.
- 51-Savikj M, Gabriel BM, Alm PS, Smith J, Caidahl K, Björnholm M, et al. *Afternoon Exercise Is More Efficacious than Morning Exercise at Improving Blood Glucose Levels in Individuals with Type 2 Diabetes: A Randomised Crossover Trial*. Diabetologia 2019; 62(2): 233-7.
- 52-Chiang SL, Heitkemper MM, Hung YJ, Tzeng WC, Lee MS, Lin CH. *Effects of a 12-Week Moderate-Intensity Exercise Training on Blood Glucose Response in Patients with Type 2 Diabetes: A Prospective Longitudinal Study*. Medicine 2019; 98(36): e16860.
- 53-Ezagouri S, Zwighaft Z, Sobel J, Baillieul S, Doutreleau S, Ladeuix B, et al. *Physiological and Molecular Dissection of Daily Variance in Exercise Capacity*. Cell Metab 2019; 30(1): 78-91
- 54-Sato S, Basse AL, Schönke M, Chen S, Samad M, Altıntaş A, et al. *Time of Exercise Specifies the Impact on Muscle Metabolic Pathways and Systemic Energy Homeostasis*. Cell Metab 2019; 30(1): 92-110.
- 55-Tang M, Guo JJ, Guo RX, Xu SJ, Lou Q, Hu QX, Wang QW. *Progress of Research and Application of Non-Pharmacologic Intervention in Alzheimer's Disease*. J Alzheimer's Dis 2024; 102(2): 275-94.
- 56- Andreotti DZ, Silva JDN, Matumoto AM, Orellana AM, De Mello PS, Kawamoto EM. *Effects of Physical Exercise on Autophagy and Apoptosis in Aged Brain: Human and Animal Studies*. Front Nut 2020; 7: 94.
- 57-Mu C, Gao M, Xu W, Sun X, Chen T, Xu H, Qiu H. *Mechanisms of Microrna-132 in Central Neurodegenerative Diseases: A Comprehensive Review*. Biomedicine & Pharmacotherapy 2024; 170: 116029.
- 58-Metzinger-Le Meuth V, Metzinger L. *The Roles of Micrornas in Obesity: Emphasizing Links with Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disorders*. Obesities 2023; 3(3): 243-52.

Effect of Circadian Rhythm Following a Period of Continuous Physical Activity in the Morning and Evening on Neuronal Degradation Factors and Mir-132 in the Hippocampus of Mice with Metabolic Syndrome

Asieh Sadat Mousavian¹, Saeed Shakerian^{*1}, Abdolhamid Habibi¹, MohammadReza Tabandeh²

Original Article

Introduction: Metabolic syndrome, through its effects on hyperglycemia and dyslipidemia, is associated with several neurodegenerative diseases. Therefore, the aim of the present study was to compare the biological rhythm of the body after 8 weeks of continuous exercise in relation to the risk factors for neuronal degeneration, with a focus on miR-132 as a determinant factor in neurodegenerative disorders.

Methods: In this experimental study, 48 male NMRI laboratory mice with an average weight of 26 ± 3.22 grams were included. Initially, 24 mice were randomly selected and fed a high-fat, high-calorie diet (HFD) for 12 weeks, confirming the parameters of metabolic syndrome. The mice were then randomly divided into 6 groups: healthy morning control, healthy afternoon control, metabolic syndrome morning control, metabolic syndrome afternoon control, continuous exercise morning metabolic syndrome, and continuous exercise afternoon metabolic syndrome. During the intervention, the exercise groups underwent 8 weeks of continuous physical activity (5 days per week at 50-60% Vmax intensity) on a treadmill. The levels of miR-132 were measured using the Real-time PCR method, and the β -42 amyloid protein levels in the hippocampus were assessed across all groups. Data analysis was performed using a two-way analysis of variance.

Results: The results of the 8 weeks of continuous exercise on miR-132 expression in the hippocampus of the metabolic syndrome mice showed that the main effect of the group, the main effect of time, and the interaction effect (group $\times$ time) on miR-132 protein expression were statistically significant among the study groups. The miR-132 levels in the metabolic syndrome + exercise group were significantly higher than those in the metabolic syndrome group, both in the afternoon ($P = 0.001$) and in the morning ($P = 0.001$). No significant difference was observed between the two time points. The A β 42 protein levels in the metabolic syndrome - exercise group were significantly lower than those in the metabolic syndrome group, both in the afternoon ($P = 0.002$) and in the morning ($P = 0.001$). Furthermore, the A β 42 protein levels in the metabolic syndrome - exercise group were also significantly lower than in the healthy mice group, but only in the afternoon ($P = 0.002$).

Conclusion: Appropriate timing of continuous exercise, particularly in the afternoon, appears to modify metabolic factors and may serve as a preventive or controlling factor for neurodegenerative diseases. This suggests that it could be a promising candidate for further clinical studies aimed at improving the quality of life for patients with metabolic syndrome.

Keywords: Continuous Exercise, miR132, A β 42, Circadian Rhythm, Metabolic Syndrome.

Citation: Mousavian A.S, Shakerian S, Habibi A, Tabandeh M.R. **Effect of Circadian Rhythm Following a Period of Continuous Physical Activity in the Morning and Evening on Neuronal Degradation Factors and Mir-132 in the Hippocampus of Mice with Metabolic Syndrome.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2024; 33(3): 8831-49

¹Ph.D Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

²Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

³Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

***Corresponding author: Tel:** 09163143363, **email:** s.shakeryan@scu.ac.ir