

## The effect of regular high-intensity interval exercise on some apoptotic factors in the brain tissue of old female rats

Hasani S<sup>1</sup>, Habibian M<sup>2\*</sup>

1- Department of Physical Education, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, I. R. Iran.

2- Department of Physical Education, Qaemshahar Branch, Islamic Azad University, Qaemshahar, I. R. Iran.

Received: 2017/09/22 | Accepted: 2018/02/24

### Abstract:

**Background:** The aging process is associated with a progressive deterioration of tissues and organs. Apoptotic cell death has been known as a possible causal factor in age-related pathologies. Therefore, this study was conducted to assess the effect of regular high-intensity interval exercise on some apoptotic factors in the brain tissue of aged female rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 14 aged female Wistar rats were selected and randomly divided into two equal groups (n=7) of control and exercise. The animals performed 10 bouts of 1-min high-intensity treadmill running (20–34 m·min<sup>-1</sup>), separated by 2 min of rest, for 3 days a week for 8 weeks. The rats were killed 48 h after the last treatment and their brain Bax and Bcl-2 levels were evaluated by the ELISA method.

**Results:** The results showed that an 8-week, high-intensity interval exercise decreased brain Bax levels in aged rats ( $P<0.05$ ). However, a significant increase was observed in the levels of brain Bcl-2 in the exercise group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that a high-intensity exercise may mediate part of its protective effect against aging-induced apoptosis, by increasing brain Bcl-2 and suppressing Bax levels in brain.

**Keywords:** Apoptotic, Brain, High-intensity interval training

\* Corresponding Author.

Email: Habibian\_m@yahoo.com

Tel: 0098 911 128 5726

Fax: 0098 11 421 55221

Conflict of Interests: *No*

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2018; Vol. 22, No 2, Pages 128-133*

Please cite this article as: Hasani S, Habibian M. The effect of regular high-intensity interval exercise on some apoptotic factors in the brain tissue of old female rats. *Feyz* 2018; 22(2): 128-33.

# اثر تمرین منظم تناوبی پرشدت بر برخی از شاخص‌های آپوپتوتیک در بافت مغز موش‌های صحرائی ماده پیر

سپیده حسنی<sup>۱</sup>، معصومه حبیبیان<sup>۲\*</sup>

خلاصه:

سابقه و هدف: فرایند پیری با زوال تدریجی بافت‌ها و اندام‌ها همراه است. مرگ سلولی آپوپتوتیک به‌عنوان یک عامل احتمالی در بروز آسیب‌های مرتبط با افزایش سن شناخته شده است. تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر تمرین منظم تناوبی پرشدت بر سطوح برخی از شاخص‌های آپوپتوتیک در بافت مغزی موش‌های صحرائی ماده پیر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی ۱۴ سر موش صحرائی ماده پیر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به ۲ گروه (۷تایی) کنترل و تمرین تقسیم شدند. حیوانات ۱۰ دوره تمرین تناوبی پرشدت دویدن روی نوارگردان با سرعت ۲۰-۳۴ متر در دقیقه به‌مدت ۱ دقیقه و همراه با ۲ دقیقه استراحت بین دوره‌ها، ۳ روز در هفته و به‌مدت ۸ هفته اجرا نمودند. موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله کشته شدند و سطوح مغزی Bax و Bcl-2 به روش الایزا تعیین شد.

نتایج: نتایج نشان داد که ۸ هفته تمرین تناوبی پرشدت موجب کاهش سطوح مغزی Bax در موش‌های صحرائی ماده پیر شده ( $P < 0.05$ )، و باعث افزایش معنی‌دار سطوح مغزی Bcl-2 در موش‌های گروه تمرین می‌شود ( $P < 0.05$ ).

نتیجه‌گیری: ممکن است تمرینات تناوبی پرشدت بخشی از اثرات حفاظتی خود در را در مقابل آپوپتوز ناشی از پیری به واسطه افزایش پروتئین ضد آپوپتیک Bcl-2 و سرکوب پروتئین پروآپوپتیک Bax در مغز میانجی‌گری نماید.

واژگان کلیدی: آپوپتوز، مغز، تمرین تناوبی پرشدت

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۲، خرداد و تیر ۹۷، صفحات ۱۳۳-۱۲۸

## مقدمه

آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی یک شکل فیزیولوژیکی از مرگ سلولی است که در دوران رشد و نمو جنینی و پیری رخ می‌دهد. همچنین، آپوپتوز نامناسب یا بیش از حد در بسیاری از شرایط پاتولوژیک منجر به از بین رفتن نورون‌ها می‌شود [۶]. خانواده Bcl-2 نقش مهمی در تنظیم مرگ سلولی سیستم عصبی بالغ دارند و دست‌کاری فارموکولوژیکی عمل خانواده Bcl-2 می‌تواند مزایای زیادی در سکتة مغزی و بیماری‌های تحلیل‌برنده بافت عصبی ایفا نماید [۷]. پروتئین‌های خانواده Bcl-2 از جمله پروتئین‌های کلیدی هستند که نقش حیاتی در تنظیم آپوپتوز ایفا می‌کنند. خانواده Bcl-2 به پروتئین‌های ضد آپوپتوز (Bcl-2، BCL-XL و غیره) و پروتئین‌های پروآپوپتیک خانواده Bax طبقه‌بندی می‌شود؛ این پروتئین‌ها نقش حیاتی در تنظیم مسیر آپوپتوزی ذاتی و اصلی (میتوکندری) ایفا می‌کنند [۶]. نشان داد شده است که القاء پیری مغز [۱] و یا القای بیماری شیزوفرنی [۸] با کاهش بیان Bcl-2، افزایش بیان Bax به‌ترتیب در بافت‌های مغز و هیپوکامپ موش‌های صحرائی همراه بوده و متعاقب مداخله‌های دارویی و فعالیت ورزشی معکوس می‌شود. امروزه بیشتر افراد مبتلا به پیری مغزی-عصبی طبیعی می‌شوند و دانشمندان هشدار داده‌اند که دست‌یابی به‌روش‌های درمان اختلالات عصبی در آینده نزدیک بعید است [۹]. فعالیت ورزشی بسیاری از جنبه‌های عملکرد مغز را تحت تاثیر قرار می‌دهد و اثرات گسترده‌ای بر سلامت کلی

پیری یک فرآیند پیچیده و طبیعی است که با بسیاری از تغییرات فیزیولوژیکی و اختلالات عملکردی همراه است و پیر شدن مغز نیز یکی از ابعاد مهم این فرآیند است [۱]. با افزایش سن، عملکردهای شناختی و فکری دچار اختلال می‌شوند، اما تا زمان مشاهده با بیماری‌های دیگر، در معاینات بالینی افراد مسن قابل تشخیص نیستند [۲]. با این وجود، بیش از ۵۰ درصد از افراد ۸۵ ساله دچار اختلالات غیرپاتولوژیک شناختی ساده در حافظه تا زوال عقل می‌شوند [۳]. نتایج حاصل از مطالعات انجام شده روی مغز انسان و مدل‌های حیوانی نشان می‌دهند که از دست رفتن سلول‌های عصبی به واسطه آپوپتوز، ارتباط زیادی با اختلالات عملکردی مانند زوال عقل و ناتوانی‌های حرکتی دارد [۴]. همچنین، پیری مغزی با از دست دادن اتصالات سیناپسی و آپوپتوز نورونی همراه است [۵].

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه تربیت بدنی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

## \* نشانی نویسنده مسئول:

قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، گروه تربیت بدنی

تلفن: ۰۹۱۱۲۸۵۷۲۶ | دوزنویس: ۰۱۱۴۲۱۵۵۲۲۱

پست الکترونیک: Habibian\_m@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۳۱ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۲/۵

بین دوره‌ها اجرا می‌شد که با سرعت ۲۰ متر/دقیقه در هفته اول شروع شده و با افزایش تدریجی (۲ متر/دقیقه در هر هفته) به سرعت ۳۴ متر/دقیقه در هفته هشتم رسید [۱۶، ۱۵]. همچنین، ۵ دقیقه زمان قبل و بعد از تمرین برای گرم و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد. پروتکل تمرینی در ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح و با رعایت قوانین و دستورالعمل‌های بین‌المللی مبتنی بر مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در ضمن تمام جنبه‌های اخلاقی و حقوقی این پژوهش در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری بررسی و تأیید شد. هشت هفته پس از اجرای تحقیق، تمام حیوانات با شرایط کاملاً مشابه و به دنبال ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و تزریقات بی‌هوش و کشته شدند. بافت مغز پس از شکافتن جمجمه به دقت جدا شد و پس از شستشو با آب مقطر، در دمای ۷۰- فریز شد. پس از هموژنیزه کردن بافت مغز در بافر پروتئاز (PBS, pH 7.4)، سطوح مغزی Bcl-2 و Bax با استفاده از روش الایزا و کیت‌های ویژه شرکت کازابایو کشور چین به ترتیب با حساسیت کمتر از ۰/۰۷۸ نانوگرم/میلی‌لیتر و ۱۵/۶ پیکوگرم/میلی‌لیتر تعیین شد. توزیع طبیعی داده‌ها و برابری واریانس‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و لون مشخص شد. از آزمون t مستقل برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های مورد نظر بین دو گروه کنترل و تمرین استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  انجام شد.

### نتایج

یافته‌ها نشان داد که پس از ۸ هفته تمرین تناوبی پرشدت سطوح مغزی Bcl-2 گروه تمرینی ( $25/95 \pm 3/26$  نانوگرم/میلی-گرم) در مقایسه با گروه کنترل ( $20/36 \pm 2/09$  نانوگرم/میلی-گرم) افزایش معنی‌دار یافت ( $P = 0/002$ ، شکل شماره ۱). همچنین، سطوح مغزی Bax در گروه تمرین ( $10/09 \pm 1/67$  نانوگرم/میلی-گرم) در مقایسه با گروه کنترل ( $7/72 \pm 0/92$  نانوگرم/میلی-گرم) به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ( $P = 0/006$ ، شکل شماره ۲). در حالی که نسبت Bax به Bcl-2 (Bax/Bcl-2) متعاقب تمرین تناوبی پرشدت در گروه تمرین ( $0/30 \pm 0/01$ ) در مقایسه با گروه کنترل ( $0/49 \pm 0/03$ ) کاهش معنی‌داری یافت ( $P < 0/001$ ).

### بحث

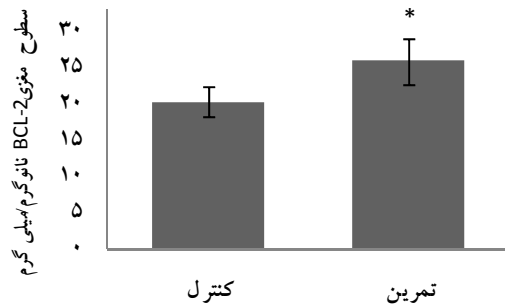
اگرچه امروزه استفاده از داروها و یا مواد حمایت‌کننده از اعصاب امری بسیار مهم شمرده می‌شود [۱۷]، اما تمرینات ورزشی نیز یک ابزار مفید برای تحریک عروقی در اندام‌های مختلف محسوب می‌شوند [۱۴].

مغز دارد؛ به طوری که مزایای فعالیت ورزشی بر یادگیری، حافظه و حفاظت در مقابل تخریب عصبی و کاهش افسردگی، به ویژه در جمعیت سالمند به خوبی تأیید شده است [۱۰]. مشخص شده است که ورزش‌های هوازی تناوبی در جلسات ۶ تا ۱۰ دقیقه‌ای می‌تواند در بهبود ظرفیت هوازی، به خصوص برای افرادی با ظرفیت هوازی محدود موثر باشد [۱۱]، اما نگرانی‌های زیادی در مورد بی‌خطر و متناسب بودن این تمرینات وجود دارد. از سوی دیگر، تمرینات تناوبی با شدت زیاد ممکن است از نظر بالینی خطرات منحصربه-فردی را برای مغز در دوره کوتاه‌مدت ایجاد کنند [۱۲]. در تحقیقات قبلی تأثیر فعالیت ورزشی تداومی بر افزایش Bcl-2 و کاهش Bax در بافت مغز مدل‌های حیوانی مبتلا به بیماری آلزایمر گزارش شده است [۱۳]. با این وجود، در خصوص تأثیر تمرینات تناوبی با استفاده از یک مدل حیوانی از موش‌های پیر ماده یا نر به در شرایط پیری طبیعی مطالعه‌ای مشاهده نشد. قبل از بازنویسی دستورالعمل‌های ورزشی با تمرینات کوتاه‌تر و با شدت بالا، گزینه‌ای که راحت‌تر و به طور مسلم موثرتر برای جمعیت‌های سالم و بیمار به نظر می‌رسد این می‌باشد که مفاهیم عملکردی این تمرینات برای سلامت مغز چه می‌باشند [۱۲]. به علاوه، با توجه به افزایش جمعیت سالمندان و شیوع بیماری‌های مغزی مربوط به دوران پیری مانند بیماری آلزایمر و پارکینسون، شناسایی و انتخاب تمرینات ورزشی مطلوب‌تر استراتژی‌های مهمی به منظور حفظ سلامت مغز در پیری محسوب می‌شوند [۱۴]. بنابراین تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر تمرین منظم تناوبی پرشدت بر سطوح مغزی برخی از شاخص‌های آپوپتوتیک در موش‌های صحرانی ماده پیر انجام شد.

### مواد و روش‌ها

برای انجام پژوهش تجربی حاضر ۱۴ سر موش صحرایی ماده مسن نژاد ویستار (بیش از ۲۴ ماه که در مرحله یائسگی بودند) با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم به صورت تصادفی به ۲ گروه کنترل و تمرین تناوبی پرشدت (۷ سر موش در هر گروه) تقسیم شدند. یک هفته قبل از شروع پروتکل اصلی و به منظور آشنایی با برنامه تمرینی، موش‌های گروه تمرین ۵ روز و به مدت ۵ دقیقه تمرین داده شدند و سرعت رسیدن هر حیوان تا رسیدن به واماندگی از طریق افزایش تدریجی سرعت تمرین تعیین شد. برنامه تمرینی اصلی ورزشی شامل دویدن روی نوارگردان (بدون شیب) ویژه جوانگان به مدت ۸ هفته و ۳ جلسه در هفته بود. هر جلسه تمرینی نیز در ۱۰ دوره فعالیت ۱ دقیقه‌ای با شدت ۷۰ درصد سرعت حداکثر (رسیدن به واماندگی) و ۲ دقیقه استراحت

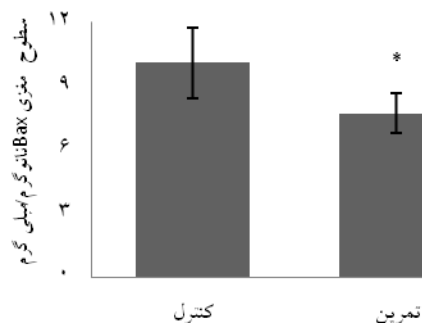
متابولیسمی و سمی همراه است [۵]. قبل از دریافت یک محرک مرگ، پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 به صورت داخل سلولی با Bax هترومر می شود. در صورت بیان اضافی Bcl-2 این مولکول-ها تشکیل همودایمر می دهند و به طور هم زمان آپوپتوز ناشی از تحریک را مهار می کنند. به طور معکوس بیان اضافی Bax منجر به همودایمر شدن خودش و در نتیجه افزایش حساسیت به محرک-های آپوپتوتیک می شود [۱۹]. آپوپتوز مغزی بیان گر شرایط پاتولوژیکی مختلف است که منجر به پیری مغز شده و به عنوان یک شاخص آسیب مغزی به کار می رود [۲۰]. بنابراین، به هم خوردن تعادل آپوپتوزی و شیفت آن به سمت افزایش Bcl-2 متعاقب مداخله تمرین تناوبی تحقیق، ممکن است با اثرات حمایت مغزی همراه باشد. در این راستا Um و همکاران [۱۳] نشان داده اند که پس از ۱۶ هفته فعالیت ورزشی سطوح افزایش یافته Bax در بافت مغز موش های کوچک مبتلا به بیماری آلزایمر کاهش یافته و مقادیر Bcl-2 به طور معنی داری افزایش می یابد. این در حالی است که مختاری زائر و همکاران [۶] افزایش بیان Bcl-2 و سرکوب بیان Bax در بافت هیپوکامپ موش های صحرایی وابسته به مورفین را پس از ۱۰ روز فعالیت های ورزشی اختیاری (چرخ دوار) و یا اجباری با شدت کم مشاهده نمودند. Chung و همکاران [۸] نیز سرکوب شاخص های پروآپوپتوتیک عصبی Bax، کاهش در نسبت افزایش یافته Bax به Bcl-2 و همچنین تنظیم مثبت بیان Bcl-2 در موش های کوچک مبتلا به شیزوفرنی را متعاقب ۲ هفته فعالیت ورزشی شامل ۶۰ دقیقه دویدن روی نوار گردان بدون شیب گزارش داده اند. اگرچه مطالعاتی درخصوص تاثیر تمرینات تناوبی پرشدت بر بافت مغز موش های پیر مشاهده نشد که از محدودیت های این تحقیق نیز محسوب می شود، ولی با مقایسه مطالعات مورد بحث و نتایج تحقیق حاضر به نظر می رسد که فعالیت ورزشی دارای اثرات محافظت نوروئی بوده و خطر ابتلا به بیماری های مغزی را کاهش می دهد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، Fang و همکاران [۲۱] نشان داده اند که پس از ۱۲ هفته تمرین روی نوارگردان سطوح Bcl-2 در هیپوکامپ و قشر مغز موش های پیر افزایش می یابد. همچنین، فعالیت ورزشی از طریق فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B منجر به کاهش سطوح فاکتورهای پروآپوپتوتیک Bax و سیتوکروم C و در نتیجه مهار آپوپتوز در این مناطق مغزی می شود. ارتباط مثبت بین آمادگی هوازی، سلامت مغز و عملکرد شناختی، پایه ای برای هدف قرار دادن آمادگی قلبی-عروقی از طریق مداخلات ورزشی های هوازی فراهم می کند [۲۲]. بر اساس مشاهدات قبلی تمرینات تناوبی با شدت زیاد در مقایسه با تمرینات ورزشی تداومی با تاثیر بیشتری بر توسعه



شکل شماره ۱- اثر تمرین منظم تناوبی پرشدت بر سطوح Bcl-2

بافت مغز موش های صحرایی ماده پیر

$P < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل (\*): داده ها بر اساس میانگین و انحراف معیار است.



شکل شماره ۲- اثر تمرین منظم تناوبی پرشدت بر سطوح Bax

بافت مغز موش های صحرایی ماده پیر

$P < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل (\*): داده ها بر اساس میانگین و انحراف معیار است.

بر اساس یافته های پژوهش ۸ هفته تمرین تناوبی پرشدت منجر به کاهش معنی دار در سطوح مغزی Bax و نسبت Bax/Bcl-2 و همچنین افزایش سطوح Bcl-2 بافت مغزی در موش های صحرایی ماده پیر شد که بیان گر تاثیر حفاظتی تمرین تناوبی پرشدت از بافت مغزی موش های پیر از طریق مسیرهای تنظیمی مطلوب شاخص های آپوپتوتیک است. در این راستا Keleshian و همکاران [۱۸] نشان داده اند با افزایش سن، بیان mRNA شاخص پروآپوپتوتیک Bax همراه با شاخص های التهابی و اکسایشی در بخش قشری فرونتال مغز افزایش یافته و سطوح Bcl-2 کاهش می یابد. علاوه بر این، Wu و همکاران [۱] نیز گزارش نموده اند که القا پیری مغز منجر به افزایش استرس اکسایشی، کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، کاهش بیان Bcl-2 و افزایش بیان Bax در بافت مغز موش های صحرایی بیمار شده با D گالاکتوز می شود. پیری مغز با از دست رفتن اتصالات سیناپسی و آپوپتوز نوروئی همراه است و منجر به تغییر در عملکرد شناختی می شود. روند پیری و اختلال مرتبط با آن با ترکیبی از استرس های اکسیداتیو،

## نتیجه گیری

براساس یافته‌های پژوهش بخشی از اثرات حفاظتی تمرین تناوبی پرشدت در مقابل آپوپتوز بافت مغز پیر ممکن است به‌واسطه افزایش پروتئین ضدآپوپتیک Bcl-2 و سرکوب پروتئین پروآپوپتیک Bax میانجی‌گری شود. لذا، باتوجه به نقش تمرین تناوبی پرشدت به‌عنوان یک مداخله غیردارویی در بهبود زندگی دوران سالمندی و داشتن پیری مغز نرمال اجرای تحقیقات گسترده-تر با تعداد نمونه‌های بیشتر به‌منظور درک دقیق‌تر مکانیسم‌های مداخله‌گر در فرآیند آپوپتوز مغز در دوران پیری ضرورت دارد.

## تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد ۲۰۸۲۱۴۰۴۹۴۲۰۳۶ می‌باشد. بدین‌وسیله، از کلیه همکارانی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References:

- [1] Wu W, Wang X, Xiang Q, Meng X, Peng Y, Du N, et al. Astaxanthin alleviates brain aging in rats by attenuating oxidative stress and increasing BDNF levels. *Food Funct* 2014; 5(1): 158-66.
- [2] Park DC, Yeo SG. Aging. *Korean J Audiol* 2013; 17(2): 39-44.
- [3] Paillard T. Preventive effects of regular physical exercise against cognitive decline and the risk of dementia with age advancement. *Sports Med Open* 2015; 1(1): 20.
- [4] Chung HY, Sung B, Jung KJ, Zou Y, Yu BP. The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8(3-4): 572-81.
- [5] Esiri MM. Ageing and the brain. *J Pathol* 2007; 211(2): 181-7.
- [6] Mokhtari-Zaer A, Ghodrati-Jaldbakhan S, Vafaei AA, Miladi-Gorji H, Akhavan MM, Bandegi AR, et al. Effects of voluntary and treadmill exercise on spontaneous withdrawal signs, cognitive deficits and alterations in apoptosis-associated proteins in morphine-dependent rats. *Behav Brain Res* 2014; 271: 160-70.
- [7] Akhtar RS, Ness JM, Roth KA. Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1644(2-3): 189-203.
- [8] Chung JW, Seo JH, Baek SB, Kim CJ, Kim TW. Treadmill exercise inhibits hippocampal apoptosis through enhancing N-methyl-D-aspartate receptor expression in the MK-801-induced schizophrenic mice. *J Exerc Rehabil* 2014; 10(4): 218-24.
- [9] Mattson MP, Magnus T. Ageing and neuronal vulnerability. *Nature Reviews Neurosci* 2006; 7: 278-94.

عملکرد نورولوژیکی و حافظه موش‌های دچار ایسکمی عروق مغزی همراه بوده است [۲۳]. با این وجود، فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسایشی، کاهش التهاب و تنظیم مثبت دفاع آنتی‌اکسیدانی [۱۳،۲۴] و افزایش پروتئین ضدآپوپتیک Bcl-2 نیز می‌تواند منجر به کاهش شاخص‌های پروآپوپتیک Bax در بافت مغز موش‌های پیر شود. در تحقیق حاضر وضعیت استرس اکسایشی و آنتی‌اکسیدان‌ها تعیین نشد که از محدودیت‌های دیگر این تحقیق نیز محسوب می‌شود. با این وجود، محققین نشان داده‌اند که ۱۵ هفته تیمار با جنیستین (دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالا) منجر به کاهش آپوپتوز نورونی، تنظیم مثبت بیان Bcl-2 و تنظیم منفی بیان Bax در هیپوکامپ موش‌های صحرانی اورکتومی‌شده می‌شود [۲۵]. همچنین، تیمار مزمن با آستاگزانتین منجر به کاهش مالون-دی‌آلدئید و کربنیل‌اسیون پروتئین، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین کاهش بیان Bax، افزایش بیان Bcl-2 و افزایش نسبت Bcl-2/Bax در مغز موش‌های صحرایی پیر شده [۱] که می‌تواند تاییدی بر این مکانیسم پیشنهادی باشد.

- [10] Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci* 2007; 30(9): 464-72.
- [11] Macfarlane DJ, Taylor LH, Cuddihy TF. Very short intermittent vs continuous bouts of activity in sedentary adults. *Prev Med* 2006; 43(4): 332-6.
- [12] Lucas SJ, Cotter JD, Brassard P, Bailey DM. High-intensity interval exercise and cerebrovascular health: curiosity, cause, and consequence. *J Cereb Blood Flow Metab* 2015; 35(6): 902-11.
- [13] Um HS, Kang EB, Leem YH, Cho IH, Yang CH, Chae KR, et al. Exercise training acts as a therapeutic strategy for reduction of the pathogenic phenotypes for Alzheimer's disease in an NSE/APPSw-transgenic model. *Prev Med* 2008; 22(4): 529-39.
- [14] Ding Q, Vaynman S, Souda P, Whitelegge JP, Gomez-Pinilla F. Exercise affects energy metabolism and neural plasticity-related proteins in the hippocampus as revealed by proteomic analysis. *Eur J Neurosci* 2006; 24(5): 1265-76.
- [15] Hoshino D, Yoshida Y, Kitaoka Y, Hatta H, Bonen A. High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013; 38(3): 326-33.
- [16] Songstad NT, Kaspersen KH, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of High Intensity Interval Training on Pregnant Rats, and the Placenta, Heart and Liver of Their Fetuses. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143095.
- [17] Commenges D, Scotet V, Renaud S, Jacqmin-Gadda H, Barberger-Gateau P, Dartigues JF. Intake

of flavonoids and risk of dementia. *Eur J Epidemiol* 2000; 16(4): 357-63.

[18] Keleshian VL, Modi HR, Rapoport SI, Rao JS. Retracted: Aging is associated with altered inflammatory, arachidonic acid cascade, and synaptic markers, influenced by epigenetic modifications, in the human frontal cortex. *J Neurochem* 2013; 125 (1): 63-73.

[19] Shacka JJ, Roth KA. Bcl-2 family and the central nervous system: from rheostat to real complex. *Cell Death Differ* 2006; 13(8): 1299-304.

[20] Zhang C, Bazan NG. Lipid-mediated cell signaling protects against injury and neurodegeneration. *J Nutr* 2010; 140(4): 858-63.

[21] Fang G, Zhao J, Li P, Li L, Yu T, Yang X, et al. Long-term treadmill exercise inhibits neuronal cell apoptosis and reduces tau phosphorylation in the cerebral cortex and hippocampus of aged rats. *Sci Bulletin* 2017; 6 (11): 755-7.

[22] Kirk-Sanchez NJ, McGough EL. Physical

exercise and cognitive performance in the elderly: current perspectives. *Clin Interv Aging* 2014; 9: 51-62.

[23] Rezaei R, Nourshahi M, Khodaghohi F, Haghparast A, Nasoohi S, Bigdeli M, et al. Differential impact of treadmill training on stroke-induced neurological disorders. *Brain Inj* 2017; 31(13-14): 1910-7.

[24] Cho JY, Um HS, Kang EB, Cho IH, Kim CH, Cho JS, et al. The combination of exercise training and alpha-lipoic acid treatment has therapeutic effects on the pathogenic phenotypes of Alzheimer's disease in NSE/APPsw-transgenic mice. *Int J Mol Med* 2010; 25(3): 337-46.

[25] Peng Y, Jiang B, Wu H, Dai R, Tan L. Effects of genistein on neuronal apoptosis, and expression of Bcl-2 and Bax proteins in the hippocampus of ovariectomized rats. *Neural Regen Res* 2012; 7(36): 2874-81.