

## The Role of High-Intensity Interval Training-Induced Lactate in Activating the MCT2–GPX4–BDNF Axis and Improving Antioxidant Function in the Hippocampus of Male Wistar Rats with Type 2 Diabetes

**Received:**

2025/11/06

**Accepted:**

2025/02/26

**Online ISSN**

3060-7078

**Pouria Khosravi**

Department of Sports Physiology,  
Faculty of Physical Education and  
Sports Sciences, Shahid  
Rajaei Teacher Training  
University, Tehran, Iran

**Fereshteh Shahidi**

Department of Sports Physiology,  
Faculty of Physical Education and  
Sports Sciences, Shahid  
Rajaei Teacher Training  
University, Tehran, Iran

**Arezo Eskandari**

Department of Sports Physiology,  
Faculty of Physical Education and  
Sports Sciences, Shahid  
Rajaei Teacher Training  
University, Tehran, Iran

\*Correspondence:

**Fereshteh Shahidi**

Email: [fe-shahidi@sru.ac.ir](mailto:fe-shahidi@sru.ac.ir)

<https://orcid.org/0000-0001-6593-4435>

### ABSTRACT

#### Introduction:

This study investigated the effects of high-intensity interval training (HIIT) on the lactate–MCT2–GPX4–BDNF axis and its potential role in mitochondrial function and amyloid-beta (A $\beta$ ) accumulation in the hippocampus of male rats with type 2 diabetes.

#### Materials and Methods:

Thirty-two male Wistar rats were divided into four groups: healthy control (CO), exercise (EX), type 2 diabetes (CO+DB), and type 2 diabetes plus exercise (DB+EX). Diabetes was induced using a high-fat diet followed by a streptozotocin injection (35 mg/kg). The exercise groups performed an eight-week treadmill-based HIIT protocol consisting of 4–10 bouts at 80–100% of maximal running velocity (V<sub>max</sub>). Serum lactate and hippocampal MCT2, BDNF, and GPX4 protein levels were measured using enzymatic assays, ELISA, and Western blotting. Differences among the groups were analyzed using analysis of variance or the Kruskal–Wallis test, followed by appropriate post hoc tests. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

#### Results:

Compared with the healthy control group, the CO+DB group showed significant increases in blood glucose, insulin resistance, and hippocampal A $\beta$  accumulation, together with decreases in MCT2, BDNF, and GPX4 levels ( $p < 0.0001$ ). HIIT increased serum lactate levels and the expression of these proteins and reduced A $\beta$  accumulation in the DB+EX group ( $p < 0.0001$ ), suggesting improved mitochondrial function and antioxidant capacity.

#### Conclusion:

By increasing lactate levels and activating the MCT2–GPX4–BDNF axis, HIIT may improve mitochondrial function and reduce the accumulation of neurotoxic proteins, thereby exerting a neuroprotective effect against diabetes-associated cognitive impairment.

#### Keywords:

Type 2 diabetes; High-intensity interval training (HIIT); Mitochondria; Lactate; Hippocampus; Cognitive impairment

**Extended Abstract****Introduction:**

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a chronic metabolic disorder characterized by insulin resistance, hyperglycemia, and mitochondrial dysfunction. It can lead to neurodegenerative complications. The hippocampus, a brain region essential for learning and memory, is particularly vulnerable to diabetes-induced oxidative stress and amyloid-beta ( $A\beta$ ) accumulation. Recent studies have highlighted the role of exercise-induced lactate as a signaling molecule that promotes neuroplasticity and mitochondrial biogenesis through pathways involving monocarboxylate transporter 2 (MCT2) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). However, the molecular mechanisms linking lactate metabolism to antioxidant protection in diabetic neuropathology remain poorly understood. This study aimed to investigate the effects of HIIT on the lactate–MCT2–GPX4–BDNF signaling axis and its potential role in improving mitochondrial function and reducing  $A\beta$  accumulation in the hippocampus of rats with type 2 diabetes.

**Methodology:**

Thirty-two adult male Wistar rats were randomly assigned to four groups of eight animals each: control (CO), exercise (EX), diabetic (CO+DB), and diabetic plus exercise (DB+EX). Type 2 diabetes was induced by feeding the animals a high-fat diet for eight weeks followed by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (35 mg/kg). The HIIT protocol consisted of treadmill running at 80–100% of  $V_{max}$ , with 4–10 bouts per session, five days per week for eight weeks. Serum lactate levels were measured enzymatically. Hippocampal MCT2, BDNF, and GPX4 protein expression was assessed using Western blotting, and  $A\beta$  levels were measured using ELISA. Data normality and homogeneity of variance were assessed before analysis. Group differences were analyzed using one-way analysis of variance or the Kruskal–Wallis test with appropriate post hoc comparisons. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation, and statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

**Results:**

Compared with the control group, diabetic rats showed significantly higher fasting blood glucose and insulin resistance, lower hippocampal expression of MCT2, BDNF, and GPX4, and greater  $A\beta$  accumulation ( $p < 0.0001$ ). In contrast, HIIT markedly increased serum lactate levels and upregulated hippocampal MCT2, BDNF, and GPX4 expression in both the EX and DB+EX groups ( $p < 0.0001$ ). HIIT also significantly attenuated hippocampal  $A\beta$  accumulation and restored mitochondrial function, suggesting enhanced antioxidant defense and neuroprotection.

**Discussion:**

The findings indicate that HIIT promotes lactate production, which may activate the MCT2–GPX4–BDNF axis and thereby improve mitochondrial function and reduce neurotoxicity in diabetic rats. This metabolic–neurotrophic interaction may underlie the beneficial effects of HIIT on oxidative balance and cognitive function. The study provides mechanistic insight into how exercise-induced lactate signaling may mitigate diabetes-associated hippocampal damage and supports the potential of HIIT as a therapeutic intervention for preventing or delaying diabetes-related neurodegenerative changes. Overall, HIIT may exert neuroprotective effects in type 2 diabetes by enhancing lactate-mediated signaling through the MCT2–GPX4–BDNF pathway. This adaptive response may improve mitochondrial efficiency, reduce oxidative stress, and decrease  $A\beta$  accumulation in the hippocampus. These findings highlight the therapeutic potential of HIIT as a non-pharmacological strategy for counteracting diabetes-induced cognitive decline.

نقش لاکتات ناشی از تمرینات تناوبی شدید بر فعالسازی محور MCT2-GPX4-BDNF و بهبود عملکرد آنتی‌اکسیدانی در هیپوکمپ در رت‌های نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع ۲

| چکیده                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | تاریخ ارسال:<br>۱۴۰۴/۰۸/۱۵<br>تاریخ پذیرش:<br>۱۴۰۴/۱۲/۰۷<br>شاپا الکترونیکی<br>۳۰۶۰-۷۰۷۸                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>مقدمه:</b></p> <p>این مطالعه اثر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محور لاکتات MCT2-GPX4-BDNF و نقش آن در عملکرد میتوکندری و تجمع آمیلوئید بتا (<math>A\beta</math>) در هیپوکمپ رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲ را بررسی کرد.</p> <p><b>روش تحقیق:</b></p> <p>۳۲ رت نر ویستار به چهار گروه کنترل سالم (CO)، تمرین (EX)، دیابت نوع ۲ (CO+DB) و دیابت همراه تمرین (DB+EX) تقسیم شدند. دیابت با رژیم پرچرب و تزریق استریوتوزوتوسین (۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) القا شد. گروه‌های تمرینی ۸ هفته پروتکل HIIT روی تردمیل (۴-۱۰ وهله با ۸۰-۱۰۰٪ <math>V_{max}</math>) را انجام دادند. لاکتات سرم و پروتئین‌های MCT2، BDNF و GPX4 هیپوکمپ با ELISA و وسترن بلات اندازه‌گیری شدند. تفاوت گروه‌ها با ANOVA یا کروستال والیس و آزمون‌های تعقیبی تحلیل شد (<math>P &lt; 0.05</math>).</p> <p><b>یافته‌ها:</b></p> <p>گروه CO+DB افزایش معنی‌دار گلوکز خون، مقاومت به انسولین و تجمع <math>A\beta</math> و کاهش MCT2، BDNF و GPX4 داشت (<math>P &lt; 0.0001</math>). HIIT موجب افزایش لاکتات سرم و این پروتئین‌ها و کاهش تجمع <math>A\beta</math> در گروه DB+EX شد (<math>P &lt; 0.0001</math>)، نشان‌دهنده بهبود عملکرد میتوکندری و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بود.</p> <p><b>نتیجه‌گیری:</b></p> <p>HIIT با افزایش لاکتات و فعالسازی محور MCT2-GPX4-BDNF عملکرد میتوکندری را تقویت و تجمع پروتئین‌های نوروکسیک را کاهش می‌دهد و نقش محافظ عصبی در برابر اختلالات شناختی دیابتی دارد.</p> <p><b>واژگان کلیدی:</b> دیابت نوع ۲؛ تمرینات تناوبی شدید؛ میتوکندری؛ لاکتات؛ هیپوکمپ؛ اختلال شناختی</p> | <p><b>پوریا خسروی</b><br/>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران</p> <p><b>فرشته شهیدی</b><br/>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران</p> <p><b>آرزو اسکندری</b><br/>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران</p> <p>* نویسنده مسئول: فرشته شهیدی</p> <p>ایمیل:<br/><a href="mailto:fe-shahidi@sru.ac.ir">fe-shahidi@sru.ac.ir</a><br/><a href="https://orcid.org/0000-0001-6593-4435">https://orcid.org/0000-0001-6593-4435</a></p> |

## مقدمه:

دیابت نوع ۲ (T2D) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی قرن حاضر است که به دلیل مقاومت به انسولین و اختلال در متابولیسم گلوکز، به صورت پیشرونده منجر به آسیب چندسیستمی در بدن می‌شود (۱). در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی نشان داده‌اند که پیامدهای عصبی ناشی از دیابت، به ویژه در نواحی حساس مغزی مانند هیپوکمپ، از مهم‌ترین عوامل بروز اختلالات شناختی و بیماری‌های نورودژنراتیو از جمله آلزایمر محسوب می‌شوند (۲). در واقع، کاهش مصرف گلوکز در مغز، استرس اکسیداتیو، و اختلال عملکرد میتوکندری از جمله مکانیسم‌های کلیدی هستند که در آسیب‌های نورونی مرتبط با دیابت نقش دارند (۳). در این میان، اختلال عملکرد میتوکندری به عنوان یکی از ویژگی‌های بارز دیابت نوع ۲ شناخته می‌شود. کاهش کارایی زنجیره انتقال الکترون و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) منجر به آسیب اکسیداتیو و اختلال در حفظ هموستاز انرژی در سلول‌های عصبی می‌شود (۳). مطالعات نشان داده‌اند که حفظ سلامت میتوکندری نقش تعیین‌کننده‌ای در پیشگیری از آسیب‌های نورونی و تجمع پروتئین‌های سمی مانند بتا آمیلوئید ( $A\beta$ ) دارد (۴). در این زمینه، آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز ۴ (GPX4) به عنوان یکی از عوامل کلیدی در حفظ تعادل اکسیداتیو و پایداری غشای میتوکندری شناخته می‌شود و افزایش میزان پروتئین آن با بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش آسیب نورونی همراه است (۵). در سال‌های اخیر، نقش تمرینات تناوبی شدید (HIIT) <sup>۱</sup> به عنوان مداخله‌ای مؤثر برای بهبود متابولیسم سلولی و عملکرد شناختی در بیماران مبتلا به دیابت مورد توجه قرار گرفته است. HIIT با افزایش نیاز انرژی و تسریع متابولیسم گلوکز، منجر به افزایش تولید لاکتات می‌شود؛ متابولیسمی که برخلاف تصور سنتی، تنها محصول جانبی گلیکولیز نبوده بلکه به عنوان یک مولکول سیگنال‌دهنده در تنظیم عملکرد مغزی و نوروپلاستیسیته نقش دارد (۶). لاکتات از طریق ناقل مونوکربوکسیلات ۲ (MCT2) به نورون‌های هیپوکمپ منتقل می‌شود. افزایش بیان MCT2 باعث تسهیل انتقال لاکتات از آستروسیت‌ها به نورون‌ها شده و انرژی لازم برای حفظ پتانسیل میتوکندری را فراهم می‌کند (۷). شواهد اخیر نشان داده‌اند که افزایش سطح لاکتات در مغز می‌تواند موجب تقویت مسیرهای آنتی‌اکسیدانی، افزایش میزان پروتئین GPX4 و بهبود عملکرد میتوکندری گردد (۸). در نتیجه، این فرآیند نه تنها از آسیب اکسیداتیو جلوگیری می‌کند، بلکه به کاهش تجمع  $A\beta$  در نورون‌ها نیز منجر می‌شود (۹). افزون بر این، لاکتات به عنوان یک مولکول پیام‌رسان، نقش مهمی در تنظیم بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) ایفا می‌کند، همچنین BDNF یکی از عوامل اصلی در حفظ و رشد نورون‌ها و همچنین در فرآیندهای یادگیری و حافظه است. (۱۰). مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی از طریق افزایش لاکتات موجب افزایش میزان پروتئین BDNF در هیپوکمپ می‌شوند (۱۱). افزایش BDNF با بهبود نورون‌ز، افزایش بقاء نورونی و کاهش تجمع  $A\beta$  همراه است (۱۲). با وجود شواهد متعدد در زمینه اثرات مفید تمرینات ورزشی و لاکتات بر عملکرد مغز، مسیرهای مولکولی دقیق میان افزایش لاکتات ناشی از HIIT، بهبود عملکرد میتوکندری از طریق GPX4، و افزایش BDNF که نهایتاً منجر به کاهش تجمع  $A\beta$  می‌شود، هنوز به طور کامل روشن نشده است (۱۳، ۱۴). اگرچه تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) در پژوهش‌های متعددی به عنوان مداخله‌ای مؤثر برای بهبود عملکرد میتوکندری و افزایش فاکتورهای نوروتروفیک مانند BDNF گزارش شده‌اند، شواهدی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد پاسخ‌های بیولوژیک به HIIT می‌تواند منفی یا نامطمئن باشد، به ویژه در بافت مغز و مسیرهای مرتبط با میتوکندری. مطالعه‌ای که اثرات ۷ هفته HIIT را بر هیپوکمپ موش‌های میانسال بررسی کرد نشان داد که این نوع تمرین موجب کاهش

<sup>1</sup> High-Intensity Interval Training

سطوح فسفریله CREB و BDNF و تنظیم نابجا در میزان پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی در میتوکندری هیپوکمپ شد، که حاکی از اختلال در پلاستیسیته عصبی و کیفیت میتوکندریایی است (15). مطالعه دیگری نیز نشان داد که پس از ۶ هفته HIIT در هیپوکمپ موش‌ها، تغییر معناداری در نشانگرهای اصلی میتوفاژی مانند PARKIN، PINK1 و LC3 مشاهده نشد و تنها کاهش در P62 دیده شد؛ این یافته حاکی است که HIIT ممکن است در القای پاسخ میتوفاژیک قوی در بافت عصبی ناکارآمد باشد (16). علاوه بر این، در عضله اسکلتی نیز بررسی‌ها نشان داده‌اند که تمرین‌های HIIT تا ۱۰ هفته پاسخ قابل توجهی در نشانگرهای میتوفاژی ایجاد نکرده یا تغییرات محدود داشته‌اند، که نشان می‌دهد اثرات مثبت HIIT بر ماشین‌آلات میتوفاژی ممکن است نیازمند مدت‌زمان یا شدت متفاوت باشد (11). برخی مطالعات دیگر نیز بر عدم تأثیر مشخص HIIT روی مسیرهای میتوفاژی و کیفیت میتوکندری در برخی مدل‌های حیوانی تأکید کرده‌اند، به‌طوری که افزایش میزان پروتئین‌های مرتبط با این مسیرها مشاهده نشده یا ناچیز بوده است، که همسو با یافته‌های فوق است. در مجموع، این شواهد نشان می‌دهد که پاسخ میتوکندری و فاکتورهای مغزی به HIIT یکسان و همواره سودمند نیست و می‌تواند تحت تأثیر شرایط فیزیولوژیک، سن، مدت‌زمان تمرین و نوع بافت هدف قرار گیرد.

بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تمرینات تناوبی شدید بر مسیر سیگنالینگ لاکتات MCT2-GPX4-BDNF و نقش آن در بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش تجمع بتا‌آمیلوئید در هیپوکمپ مدل حیوانی دیابت نوع ۲ است. روشن شدن این مکانیسم می‌تواند درک جدیدی از ارتباط میان فعالیت فیزیکی، متابولیسم عصبی و پیشگیری از زوال شناختی ناشی از دیابت فراهم سازد.

## روش تحقیق:

این مطالعه تجربی بر روی حیوانات آزمایشگاهی شامل ۳۲ سر رت نر از نژاد ویستار، با سن ۸ هفته و وزن میانگین  $12 \pm 200$  گرم انجام شد. حیوانات از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شدند و در قفس‌های پلی‌کربنات، تحت شرایط محیطی کنترل‌شده شامل دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی  $50 \pm 4$  درصد و چرخه‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در طول دوره‌ی مطالعه، دسترسی به آب و غذای استاندارد به‌صورت آزاد برای همه حیوانات فراهم بود.

## گروه‌بندی حیوانات

ابتدا حیوانات به مدت یک هفته برای سازگاری با محیط آزمایشگاه نگهداری شدند. سپس به‌صورت تصادفی در چهار گروه هشت‌تایی تقسیم شدند:

- (i) گروه کنترل سالم (CO)،
- (ii) گروه تمرین (EX)،
- (iii) گروه کنترل دیابت نوع ۲ (CO+DB)،
- (iv) گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین (DB+EX).

## القای دیابت نوع ۲

در هشت هفته‌ی نخست مطالعه، رت‌های گروه‌های CO+DB و DB+EX با رژیم پرچرب (HFD) تغذیه شدند که ترکیب آن شامل ۶۰٪ چربی، ۲۰٪ پروتئین و ۲۰٪ کربوهیدرات بود تا تغییرات متابولیکی لازم برای القای دیابت ایجاد شود (۱۷). پس از پایان این دوره، حیوانات به مدت ۱۲ ساعت در حالت ناشتایی قرار گرفتند و سپس یک تزریق درون صفاقی از استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۳۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن جهت القای دیابت دریافت کردند (۱۸). سه روز پس از تزریق STZ، قند خون ناشتا (FBG) حیوانات با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شد تا القای دیابت مورد تأیید قرار گیرد (۱۹).

## پروتکل تمرینی

برای آماده‌سازی حیوانات جهت اجرای تمرین روی تردمیل، یک دوره‌ی تطبیقی پنج‌روزه در نظر گرفته شد. در این مرحله، رت‌ها روزانه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ثابت ۸ متر بر دقیقه بر روی تردمیل دویدند. پس از پایان این دوره‌ی سازگاری، آزمون تدریجی تعیین حداکثر سرعت دویدن ( $V_{max}$ ) اجرا شد. آزمون با سرعت ۶ متر بر دقیقه آغاز گردید و پس از دو دقیقه، سرعت تردمیل در هر دو دقیقه به میزان ۲ متر بر دقیقه افزایش می‌یافت تا زمانی که حیوانات به نقطه‌ی خستگی کامل می‌رسیدند. بیشترین سرعتی که حیوان پیش از خستگی قادر به حفظ آن بود به عنوان  $V_{max}$  ثبت شد. بر اساس مقادیر به‌دست‌آمده از آزمون  $V_{max}$ ، شدت تمرین برای هر حیوان تنظیم شد و این تنظیم هر دو هفته یک‌بار به‌روزرسانی گردید (۲۰). جزئیات پروتکل تمرینی در جدول ۱ ارائه شده است.

## جدول ۱. جزئیات پروتکل تمرین تناوبی شدید (HIIT)

Table 1. HIIT detail

| شیب<br>(درجه) | تعداد<br>جلسات در<br>هفته | تعداد<br>تناوب‌ها | مدت تناوب<br>با شدت<br>بالا<br>(دقیقه) | مدت تناوب<br>با شدت<br>پایین<br>(دقیقه) | سرعت تناوب با<br>شدت بالا<br>(%Vmax)     | سرعت تناوب با<br>شدت پایین<br>(%Vmax)   | کل زمان<br>تمرین در<br>هر جلسه<br>(دقیقه) | هفته |
|---------------|---------------------------|-------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|------|
| Slope         | Frequency                 | Intervals         | High-intensity interval duration (min) | Low-intensity interval duration (min)   | High-intensity interval velocity (%Vmax) | Low-intensity interval velocity (%Vmax) | Total exercise time in a session (min)    | Week |
| 0             | 5                         | 4                 | 2                                      | 1                                       | 80                                       | 50                                      | 12                                        | 1    |
| 0             | 5                         | 4                 | 2                                      | 1                                       | 85                                       | 50                                      | 12                                        | 2    |
| 0             | 5                         | 6                 | 2                                      | 1                                       | 85                                       | 50                                      | 18                                        | 3    |
| 0             | 5                         | 6                 | 2                                      | 1                                       | 90                                       | 50                                      | 18                                        | 4    |
| 0             | 5                         | 8                 | 2                                      | 1                                       | 90                                       | 50                                      | 24                                        | 5    |
| 0             | 5                         | 8                 | 2                                      | 1                                       | 95                                       | 50                                      | 24                                        | 6    |
| 0             | 5                         | 10                | 2                                      | 1                                       | 95                                       | 50                                      | 30                                        | 7    |
| 0             | 5                         | 10                | 2                                      | 1                                       | 100                                      | 50                                      | 30                                        | 8    |

## شاخص خستگی و تعیین حداکثر سرعت دویدن (Vmax)

به منظور ارزیابی ظرفیت هوازی و عملکرد دویدن در رت‌ها، از پروتکل تدریجی دویدن روی تردمیل استفاده شد. شاخص خستگی به عنوان ناتوانی حیوان در ادامه‌ی دویدن، حتی پس از سه بار قرار دادن دستی در جلوی تردمیل توسط پژوهشگر، تعریف شد. به طور مشخص، اگر حیوان در حین آزمون از دویدن بازمی ماند و به انتهای نوار تردمیل منتقل می شد، پژوهشگر آن را به آرامی به ابتدای نوار بازمی گرداند. در صورتی که رت پس از سه تلاش متوالی نتواند دویدن را از سر گیرد، به عنوان خسته (Exhausted) در نظر گرفته می شد. در این حالت، سرعت مرحله‌ی آخر که حیوان به طور کامل آن را طی کرده بود، به عنوان حداکثر سرعت دویدن (Vmax) ثبت گردید. این روش معیار عینی و قابل تکراری برای تعیین پایان تمرین و سنجش عملکرد فیزیکی در مدل‌های حیوانی فراهم می کند.

## نمونه گیری

## نمونه خون

چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات تحت بیهوشی با تزریق درون صفاقی کتامین (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) قربانی شدند. نمونه های خون مستقیماً از قلب جمع آوری و در دمای

۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم به دست آمده در میکروتیوب‌های مجزا تقسیم و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای  $^{\circ}\text{C} 80$  -نگهداری گردید (۲۰).

### نمونه بافت هیپوکمپ

بافت هیپوکمپ به دقت جداسازی و با محلول فسفات بافر سالین (PBS) شستشو داده شد تا بقایای خونی و بافتی حذف گردد. سپس بافت در شرایط سرد (روی یخ) و با استفاده از هموژنایزر فراصوتی در بافر RIPA حاوی کوکتل مهارکننده‌ی پروتئاز همگن شد تا از تخریب پروتئین‌ها جلوگیری شود. هموژنات به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید تا اجزای سلولی جدا شوند. سوپرناتانت حاصل جمع‌آوری و بلافاصله در دمای  $^{\circ}\text{C} 80$  -برای انجام آنالیزهای بیوشیمیایی ذخیره شد.

به منظور کاهش اثرات احتمالی ریتم شبانه‌روزی بر میزان پروتئین‌ها، به‌ویژه برای مارکرهای وابسته به زمان مانند BDNF و NRF2، کلیه‌ی نمونه‌گیری‌ها در بازه‌ی زمانی بین ساعت ۸:۰۰ تا ۱۳:۰۰ انجام شد. انتخاب این بازه‌ی زمانی استاندارد، موجب یکنواختی شرایط آزمایش و کاهش تغییرات وابسته به زمان شبانه‌روزی بین گروه‌ها گردید.

### آزمون الایزا (ELISA)

غلظت‌های لاکتات سرم با استفاده از روش الایزا و بر اساس دستورالعمل‌های کیت تجاری اندازه‌گیری شدند. مقادیر لاکتات سرمی بر اساس میزان کل پروتئین (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نرمال‌سازی شد. برای آماده‌سازی نمونه‌ها، خون جمع‌آوری شده در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد تا سرم جدا گردد و از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها جلوگیری شود. به منظور جلوگیری از تجزیه‌ی پروتئین‌ها، محلول مهارکننده‌ی پروتئاز حاوی ۰.۵ میلی‌مول فیل‌متیل‌سولفونیل‌فلوراید (PMSF) به نمونه‌ها افزوده شد. پس از سانتریفیوژ، سوپرناتانت به آرامی جمع‌آوری و میزان لاکتات با روش ELISA و توسط دستگاه ELISA Reader اندازه‌گیری شد. نتایج به صورت نانومتر لاکتات بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید. تمامی اندازه‌گیری‌ها با استفاده از کیت ELISA مخصوص رت (Eastbiopharm, China) انجام شد (۲۱).

### وسترن بلات (Western Blot)

تعیین غلظت پروتئین‌های ناقل مونوکربوکسیلات ۲ (MCT2; sc-166925, Santa Cruz Biotechnology)، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF; sc-166731, Santa Cruz Biotechnology)، گلوکاتایون پراکسیداز ۴ (GPX4; sc-166570)، بتا‌آمیلولوئید (A $\beta$ ; sc-28365) با استفاده از روش وسترن بلاتینگ انجام شد.

سنجش لاکتات با روش فلوریمتری انجام شده است. نمونه‌ها پس از آماده‌سازی، ابتدا با روش الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید (SDS-PAGE) جداسازی و سپس بر روی غشای نیتروسولوز (قطر منفذ ۰.۴۵ میکرومتر) با جریان ۰.۵ آمپر به مدت ۱.۵ ساعت انتقال داده شدند. پس از انتقال، غشاها در بافر انتقالی به مدت حداقل ۱۰ دقیقه پیش‌انکوبه شدند. غشاهای نیتروسولوز و فیلترپدها در ابعاد مناسب برش داده شده و به صورت یک ساندویچ بلات در قاب پلاستیکی قرار گرفتند و در تانک حاوی بافر انتقالی غوطه‌ور شدند. غشاها با آنتی‌بادی‌های اولیه (رقیق‌سازی ۱:۱۰۰۰) به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوبه شدند. سپس با آنتی‌بادی‌های

ثانویه در بافر EIA به مدت ۱.۵ ساعت نگه داشته شدند. پس از آن، غشاها دوبار با بافر TBST و یک بار با PBS شستشو داده شدند. برای آشکارسازی باندهای پروتئینی، غشاها در محلول سابسترا TMB قرار گرفتند تا باندها ظاهر شوند، سپس واکنش با شستشو در آب مقطر متوقف گردید. باندهای پروتئینی با استفاده از سیستم تصویربرداری Chemi Doc XRS+ (Bio-Rad, USA) ثبت و با نرم‌افزار ImageJ مورد تجزیه و تحلیل کمی قرار گرفتند. بتا-اکتین ( $\beta$ -actin) به عنوان کنترل داخلی برای نرمال سازی داده‌ها استفاده شد (۲۲).

### محاسبه شاخص‌های مقاومت و حساسیت به انسولین

برای ارزیابی مقاومت به انسولین، از دو شاخص متفاوت استفاده شد: مدل ارزیابی هموستاز مقاومت به شاخص HOMA-IR با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{HOMA-IR} = [(\mu\text{U/ml}) \text{ قند خون ناشتا} (\text{میلی مول در لیتر}) \times (\text{انسولین ناشتا})] / 22.5$$

این روش به طور گسترده برای سنجش میزان مقاومت به انسولین بر اساس مقادیر قند و انسولین ناشتا به کار می‌رود و تخمینی از توانایی بدن در تنظیم سطح قند خون در ارتباط با ترشح انسولین ارائه می‌دهد. این شاخص ابزاری ساده، دقیق و قابل اعتماد برای اندازه‌گیری حساسیت به انسولین محسوب می‌شود و نشان می‌دهد که بدن تا چه حد در شرایط ناشتا از انسولین برای کنترل قند خون به طور مؤثر استفاده می‌کند. این شاخص اطلاعات مهمی درباره وضعیت متابولیکی بدن، به ویژه از نظر مقاومت یا حساسیت به انسولین، فراهم می‌آورند. (34)

### تحلیل آماری

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk) استفاده شد و آزمون لون (Levene) برای بررسی همگنی واریانس‌ها میان گروه‌ها به کار رفت. بسته به نوع توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها، از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) به همراه آزمون تعقیبی توکی (Tukey) یا از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) به همراه آزمون تعقیبی دان (Dunn's post-hoc test) برای مقایسه تفاوت میان گروه‌ها استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (SD) گزارش شدند و سطح معنی‌داری آماری در  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. تمامی تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۱۰ انجام گرفت تا تفسیر و مصورسازی داده‌ها با دقت بالا صورت گیرد.

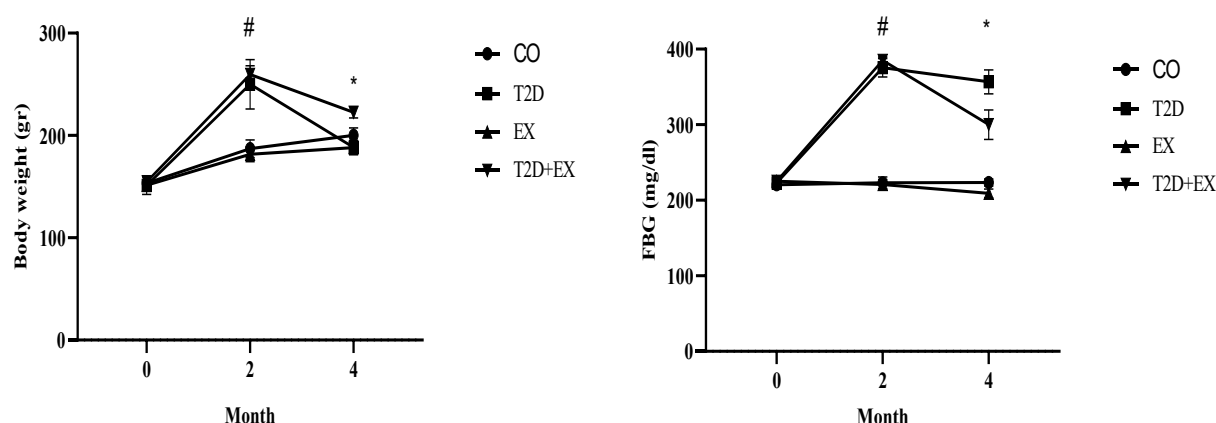
### یافته‌ها:

#### وزن بدن، گلوکز خون ناشتا، انسولین سرم و شاخص HOMA-IR

به منظور تأیید اثربخشی پروتکل القای دیابت، سطوح گلوکز خون ناشتا (FBG) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمون ANOVA یک طرفه نشان داد که بین گروه‌های آزمایشی از نظر FBG اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $F(3,28) = 239.27, P < 0.001, \eta^2 = 0.967$ ). مقایسه با گروه کنترل (CO) به طور معنی‌داری افزایش یافته است ( $P < 0.001, \text{Cohen's } d = -15.02$ ). در مقابل، گروه تمرین (EX) سطوح FBG به طور معنی‌داری پایین‌تری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0.001$ ).

Cohen's  $d = -6.97$ ، همچنین، گروه دیابتی تمرین کرده (DB+EX) کاهش قابل توجهی در غلظت FBG در مقایسه با گروه دیابتی داشت. ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = 5.22$ )

نتایج آزمون ANOVA یک طرفه اختلاف معنی داری را در وزن بدن بین گروه‌های آزمایشی نشان داد ( $F(3,28) = 120.19$ ,  $P < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.936$ ). نسبت به گروه CO بود. ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = -8.46$ ) همچنین گروه EX وزن بدن به طور معنی داری پایین‌تری نسبت به گروه کنترل داشت ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = -6.04$ )، در حالی که گروه DB+EX کاهش قابل توجهی در وزن بدن نسبت به گروه دیابتی نشان داد ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = 2.78$ ) (جدول ۱).



شکل ۱. وزن بدن و قند خون ناشتا (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) در همه گروه‌ها قبل از شروع مداخله (ماه ۰)، پس از القای دیابت (دو ماه رژیم غذایی پرچرب و تزریق STZ (ماه ۲)، و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (ماه ۴) ( $n=8$ ) اندازه‌گیری شد. توضیحات گروه‌ها: FBG: قند خون ناشتا، Con: کنترل، T2D: دیابت نوع ۲ (تزریق STZ)، EX: فقط تمرین، و T2D+EX: دیابت نوع ۲ + تمرین. نشانه‌ها: # اختلاف معنی دار گروه‌های T2D و T2D+EX با سایر گروه‌ها، \* اختلاف معنی دار بین گروه‌های T2D و T2D+EX.

نتایج آزمون ANOVA یک طرفه همچنین نشان داد که بین گروه‌ها از نظر سطح انسولین سرم اختلاف معنی داری وجود دارد ( $F(3,28) = 177.32$ ,  $P < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.960$ ). به طور معنی داری کمتر از گروه CO بود. ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = -5.44$ ) علاوه بر این، گروه DB+EX سطوح انسولین سرم به طور معنی داری بالاتری نسبت به گروه DB نشان داد ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = 3.18$ ) (جدول ۱) در نهایت، اختلاف معنی داری در سطوح شاخص QUICKI بین گروه‌های آزمایشی مشاهده شد ( $F(3,28) = 81.566$ ,  $P < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.897$ )، که نشان دهنده تأثیر قابل توجه مداخلات است. تحلیل‌های پس‌آزمون نشان داد که مقدار QUICKI در گروه CO+DB در مقایسه با گروه CO به طور معنی داری کاهش یافته است ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = 4.965$ ) و در گروه EX نیز نسبت به CO کاهش معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.001$ , Cohen's  $d = -2.730$ ). علاوه بر این، گروه DB+EX سطوح HOMA-IR به طور معنی داری پایین‌تری نسبت به گروه CO+DB نشان داد ( $P < 0.01$ , Cohen's  $d = -3.776$ ) (جدول ۱).

**جدول ۲.** وزن بدن و قند خون ناشتا (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) قبل از شروع مداخله (ماه ۰)، پس از القای دیابت (دو ماه رژیم غذایی پرچرب و تزریق STZ) (ماه ۲)، و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (ماه ۴) در تمام گروه‌ها (n=8).  
CO: گروه کنترل، CO+DB: گروه دیابت نوع ۲ (تزریق شده با STZ)، EX: گروه فقط تمرین، و DB+EX: گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین.

**Table 2.** Body weight and fasting blood glucose (mean  $\pm$  standard deviation) before the intervention (Month 0), after diabetes induction (two months of high-fat diet and STZ injection) (Month 2), and 48 hours after the last training session (Month 4) in all groups (n = 8).

CO: Control group; CO+DB: Type 2 diabetes group (STZ-injected); EX: Exercise-only group; DB+EX: Type 2 diabetes with exercise group.

| پس از تمرین<br>(ماه ۴)<br>After training<br>(month 4) | پس از القای دیابت (ماه ۲)<br>After DB induction<br>(month 2) | قبل از شروع مداخله (ماه ۰)<br>Before Starting The<br>intervention (month 0) | گروه<br>Group | پارامتر<br>Parameter                    |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------|
| 199 $\pm$ 13                                          | 183 $\pm$ 12                                                 | 156 $\pm$ 4                                                                 | CO            | وزن بدن (گرم)<br>Body Weight<br>(gr)    |
| 257 $\pm$ 9**                                         | 249 $\pm$ 8***                                               | 154 $\pm$ 6                                                                 | CO+DB         |                                         |
| 167 $\pm$ 8                                           | 181 $\pm$ 12                                                 | 155 $\pm$ 5                                                                 | EX            |                                         |
| 223 $\pm$ 11#                                         | 261 $\pm$ 18####                                             | 157 $\pm$ 5                                                                 | DB+EX         |                                         |
| 224 $\pm$ 6                                           | 221 $\pm$ 7                                                  | 225 $\pm$ 4                                                                 | CO            | قند خون ناشتا<br>(mg/dl)<br>FBG (mg/dl) |
| 359 $\pm$ 17***                                       | 382 $\pm$ 13***                                              | 223 $\pm$ 9                                                                 | CO+DB         |                                         |
| 208 $\pm$ 11                                          | 219 $\pm$ 5                                                  | 224 $\pm$ 7                                                                 | EX            |                                         |
| 303 $\pm$ 9####                                       | 394 $\pm$ 14***                                              | 227 $\pm$ 5                                                                 | DB+EX         |                                         |
| 56 $\pm$ 4                                            | 54 $\pm$ 2                                                   | 48 $\pm$ 3                                                                  | CO            | HOMA-IR                                 |
| 88 $\pm$ 5***                                         | 81 $\pm$ 6***                                                | 42 $\pm$ 5                                                                  | CO+DB         |                                         |
| 39 $\pm$ 29                                           | 56 $\pm$ 5                                                   | 45 $\pm$ 4                                                                  | EX            |                                         |
| 67 $\pm$ 89##                                         | 91 $\pm$ 5***                                                | 46 $\pm$ 6                                                                  | DB+EX         |                                         |

\*\*\*P<0.001 در مقایسه با گروه کنترل (CO)

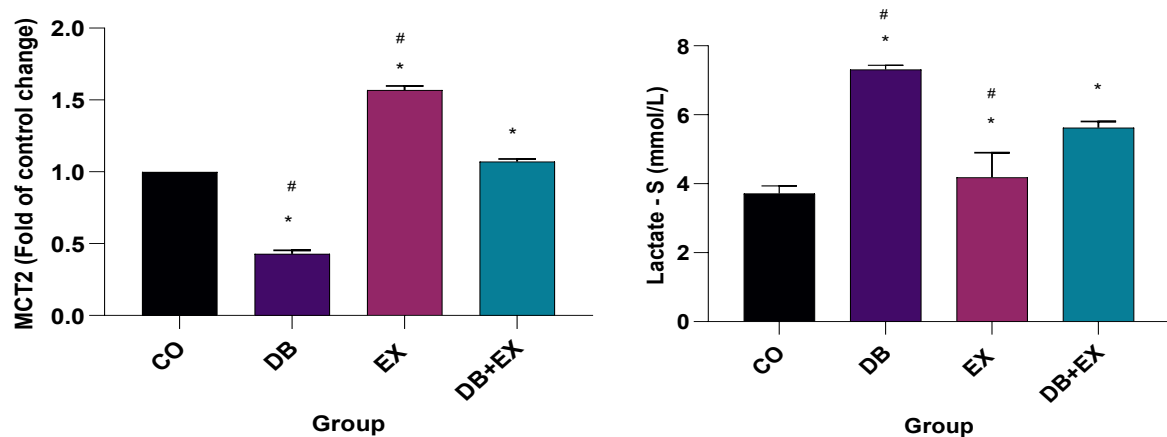
## P<0.01, # P<0.05, #### P<0.001 در مقایسه با گروه دیابتی نوع ۲ (DB)

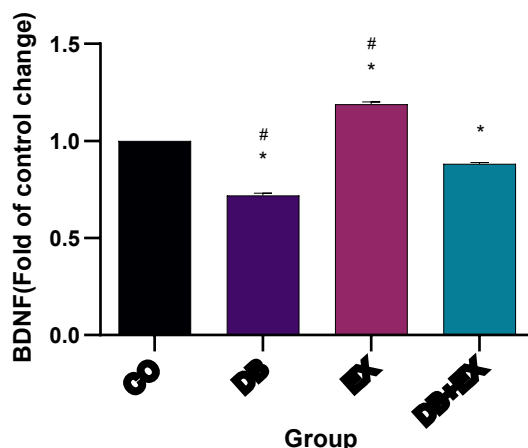
## غییرات مولکولی

## سطوح لاکتات سرمی، میزان پروتئین MCT2 و BDNF در هیپوکامپ

نتایج تحلیل آماری نشان داد که بین گروه‌های آزمایشی از نظر سطوح لاکتات سرمی (Lactate-S) اختلاف معنی‌داری وجود دارد (F (3,28) = 138.088,  $P < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.937$ ). مقایسه‌های پس‌آزمون نشان دادند که گروه دیابتی (CO+DB) نسبت به گروه کنترل (CO) میزان پروتئین لاکتات سرمی به‌طور معنی‌داری بالاتر داشت ( $P < 0.001$ ,  $t = -18.456$ ) و همچنین گروه دیابتی تمرین‌کرده (DB+EX) نیز نسبت به گروه دیابتی تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.001$ ,  $t = 8.651$ ) بین گروه‌های CO و EX تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).

به‌طور مشابه، بررسی میزان پروتئین MCT2 نشان داد که بین گروه‌های آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ( $H (3) = 29.551$ ,  $P < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.948$ ) مقایسه‌های پس‌آزمون با اصلاح بونفرونی نشان داد که میزان پروتئین MCT2 در گروه CO+DB نسبت به گروه CO به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $P < 0.001$ ,  $z = 1.719$ )، علاوه بر این، بیان MCT2 در گروه DB+EX نسبت به گروه DB به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.001$ ,  $t = -3.438$ ) (شکل ۱). به‌طور مشابه، در میزان پروتئین BDNF نیز بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $H (3) = 29.546$ ,  $P < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.948$ ). تحلیل پس‌آزمون با اصلاح بونفرونی نشان داد که میزان پروتئین BDNF در گروه CO+DB نسبت به گروه CO به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $P < 0.001$ ,  $z = 3.438$ ). علاوه بر این، گروه EX نسبت به گروه CO افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین BDNF نشان داد ( $P < 0.001$ ,  $z = -1.719$ ). همچنین، میزان پروتئین BDNF در گروه DB+EX نسبت به گروه CO+DB به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.001$ ,  $z = -1.719$ ) (شکل ۱).

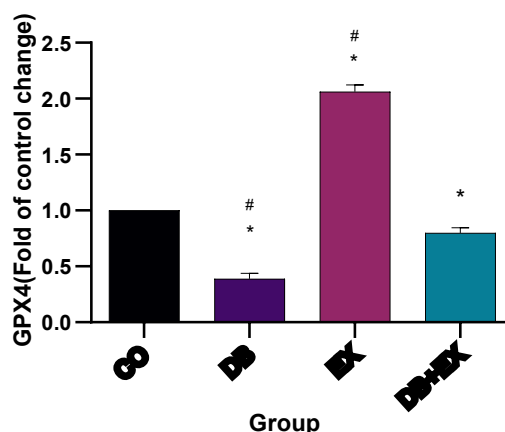




شکل ۱. سطوح لاکتات در سرم، و مقادیر MCT2 و BDNF در هیپوکمپ (تعداد در هر گروه = ۸).  
 CO: گروه کنترل، CO+DB: گروه دیابت نوع ۲، EX: گروه تمرین، و DB+EX: گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین.  
 \*تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌ها. ( $P < 0.001$ )  
 #تفاوت معنی‌دار با گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین. ( $P < 0.001$ )

### سطوح GPX4 در هیپوکمپ

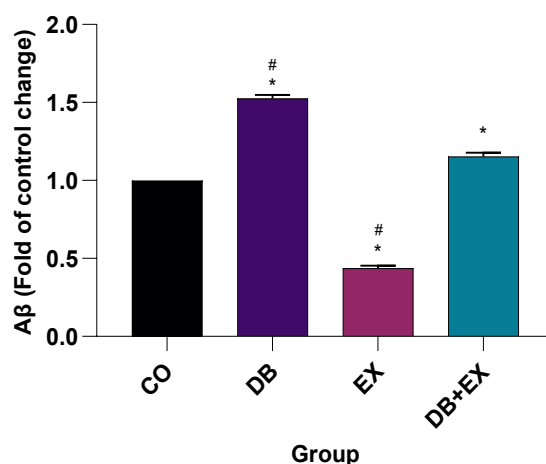
میزان پروتئین GPX4 در میان گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $\eta^2 = 0.929$ ) که بیانگر تأثیر قابل توجه مداخلات آزمایشی است. تحلیل پس‌آزمون با اصلاح بونفرونی نشان داد که میزان پروتئین GPX4 در گروه دیابتی (CO+DB) نسبت به گروه کنترل (CO) به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $z = 3.331$ ). علاوه بر این، گروه تمرین (EX) در مقایسه با گروه کنترل افزایش قابل توجهی در میزان پروتئین GPX4 نشان داد ( $z = -1.834$ ,  $P < 0.001$ ). همچنین، در گروه دیابتی تمرین‌کرده (DB+EX) نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین GPX4 مشاهده شد ( $z = -1.807$ ,  $p < 0.001$ ) (شکل ۳).



شکل ۳. سطوح GPX4 در هیپوکمپ (تعداد در هر گروه = ۸).  
 CO: گروه کنترل، CO+DB: گروه دیابت نوع ۲، EX: گروه تمرین، و DB+EX: گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین.  
 \*تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌ها. ( $P < 0.001$ )  
 #تفاوت معنی‌دار با گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین. ( $P < 0.001$ )

سطوح A $\beta$  در هیپوکامپ

نتایج تحلیل واریانس (ANOVA) نشان داد که بین گروه‌های آزمایشی از نظر میزان پروتئین A $\beta$  تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ( $H(3) = 29.546$ ,  $P < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.948$ )، که بیانگر تأثیر قابل توجه مداخلات بر میزان این پروتئین است. تحلیل‌های پس‌آزمون با اصلاح بونفرونی نشان داد که میزان پروتئین A $\beta$  در گروه تمرین (EX) نسبت به گروه کنترل (CO) به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $z = 1.719$ ,  $P < 0.001$ ). در مقابل، میزان پروتئین A $\beta$  در گروه دیابتی (CO+DB) نسبت به گروه CO به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود ( $z = -3.438$ ,  $P < 0.001$ ). علاوه بر این، در گروه دیابتی تمرین‌کرده (DB+EX) کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین A $\beta$  نسبت به گروه CO+DB مشاهده شد ( $z = -3.438$ ,  $p < 0.001$ ) (شکل ۵).



شکل ۴. سطوح A $\beta$  در هیپوکامپ (تعداد در هر گروه = ۸).

CO: گروه کنترل، CO+DB: گروه دیابت نوع ۲، EX: گروه تمرین، و DB+EX: گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین.

\*تفاوت معنی‌دار با سایر گروه‌ها. ( $P < 0.001$ )

#تفاوت معنی‌دار با گروه دیابت نوع ۲ همراه با تمرین. ( $P < 0.001$ )

## بحث:

دیابت نوع ۲ با افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری، نقش قابل توجهی در ایجاد آسیب‌های عصبی و کاهش عملکرد شناختی دارد. استرس اکسیداتیو مزمن موجب کاهش کارایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع پروتئین‌های نوروتوکسیک مانند آمیلوئید بتا (A $\beta$ ) می‌شود که به اختلال در انتقال سیناپسی و نورونز منجر می‌گردد (۲۳). بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، تمرینات تناوبی شدید (HIIT) اثرات محافظتی قابل توجهی بر هیپوکامپ رت‌های دیابتی اعمال کرد. این اثرات با افزایش لاکتات ناشی از تمرین شدید همراه بود که منجر به افزایش میزان پروتئین ناقل مونوکربوکسیلات نوع ۲ (MCT2)، ارتقای فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز ۴ (GPX4) و افزایش معنی‌دار میزان پروتئین فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) گردید. هم‌زمان، کاهش تجمع آمیلوئید بتا و بهبود شاخص‌های عملکرد نورونی مشاهده شد که نشان‌دهنده بهبود

وضعیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد میتوکندری در هیپوکمپ است (۲۴).

یافته‌های مطالعه حاضر با شواهد فزاینده‌ای هم‌راستا است که نقش لاکتات را فراتر از یک محصول جانبی متابولیسم معرفی می‌کنند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که لاکتات یک مولکول سیگنال‌دهنده کلیدی است که در تنظیم عملکرد میتوکندری، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و بقای نورونی نقش دارد (۲۵). ورود لاکتات به نورون‌ها از طریق ناقل مونوکربوکسیلات نوع ۲ (MCT2) انجام می‌شود، که انتقال مؤثر آن به سلول را تضمین کرده و زمینه‌ساز فعال‌سازی مسیرهای مولکولی محافظتی می‌گردد (۲۶). در مطالعه ای دیگر نشان داده‌اند که افزایش فعالیت MCT2 در اثر تمرین شدید موجب ارتقای بیان ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی آنتی‌اکسیدان‌ها و بهبود عملکرد میتوکندری می‌شود (۲۷).

در مطالعه حاضر، افزایش میزان پروتئین MCT2 همراه با افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز ۴ (GPX4) مشاهده شد. GPX4 یکی از آنزیم‌های کلیدی در حفظ تعادل اکسیداتیو است که با خنثی‌سازی پراکسیدهای چربی و رادیکال‌های آزاد، از آسیب میتوکندری جلوگیری می‌کند. تقویت GPX4 در نتیجه‌ی تمرین HIIT بیانگر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود سلامت میتوکندری است. این یافته‌ها با نتایج پژوهش‌های Xiaorong Yu و همکاران هم‌راستا است که نشان دادند فعالیت بالاتر GPX4 با بهبود عملکرد سلول‌های عصبی و کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در مدل‌های دیابتی مرتبط است (۸). از سوی دیگر، نتایج ما نشان داد که افزایش GPX4 همزمان با افزایش قابل توجه بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) بوده است (۲۸). BDNF یک فاکتور حیاتی در رشد و بقا نورون‌ها، حفظ عملکرد سیناپسی و ارتقای نورون‌ها در هیپوکمپ است. مطالعه Rocha-Gomes A و همکاران نیز تأیید کرده‌اند که تمرینات HIIT با افزایش سطوح BDNF موجب بهبود عملکرد شناختی و تقویت ارتباطات نورونی در مدل‌های حیوانی رت‌های نر ویستار می‌شود (۱۴).

به نظر می‌رسد که لاکتات حاصل از تمرین، از طریق افزایش میزان پروتئین MCT2 و سپس GPX4، مسیرهای تنظیمی مرتبط با BDNF را فعال می‌سازد. افزایش BDNF، علاوه بر تقویت نورون‌ها و افزایش نوروپلاستیسیته، از طریق مسیر آنتی‌اکسیدانی p62-Keap1-Nrf2 نیز موجب بهبود وضعیت دفاع سلولی در برابر استرس اکسیداتیو می‌شود. این مسیر با افزایش بیان پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی، حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده و بازسازی عملکرد سلولی را تسهیل می‌کند. در نتیجه، افزایش همزمان GPX4 و BDNF موجب کاهش تجمع آمیلوئید بتا و بهبود کارکرد نورونی گردید. مطالعات اخیر نیز این یافته‌ها را تأیید کرده‌اند؛ به گونه‌ای که HIIT با افزایش لاکتات و تحریک مسیر MCT2، باعث تقویت عملکرد میتوکندری و افزایش BDNF در هیپوکمپ می‌شود و به این ترتیب، آسیب‌های ناشی از دیابت را در سطح سلولی و مولکولی به‌طور چشمگیری کاهش می‌دهد. بنابراین، مسیر سیگنالینگ لاکتات MCT2-GPX4-BDNF را می‌توان به عنوان یک مسیر کلیدی در اثرات محافظتی HIIT بر مغز دیابتی و بیماری‌های شناختی معرفی نمود. علاوه بر این، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش میزان پروتئین GPX4 همزمان با افزایش معنی‌دار در میزان پروتئین BDNF رخ داده است. BDNF به عنوان یکی از عوامل کلیدی در رشد و بقای نورون‌ها، حفظ عملکرد سیناپسی و تحریک نورون‌ها در هیپوکمپ شناخته می‌شود. یافته‌های Rocha-Gomes A و همکاران نیز این نتایج را تأیید کرده‌اند؛ آنان گزارش کردند که تمرینات HIIT از طریق افزایش سطح BDNF موجب بهبود عملکرد شناختی و تقویت ارتباطات نورونی در مدل‌های حیوانی می‌شود (۱۴).

با وجود هم‌راستایی کلی نتایج، تفاوت‌های گزارش شده در برخی مطالعات می‌تواند ناشی از عواملی نظیر نوع مدل دیابت، شدت و مدت تمرینات HIIT، زمان نمونه‌برداری بافتی، سن حیوانات آزمایشگاهی و تفاوت در شاخص‌های مولکولی اندازه‌گیری شده باشد. علاوه بر این، میزان تولید لاکتات و ظرفیت انتقال آن از طریق MCT2 ممکن است بسته به پروتکل تمرینی متفاوت بوده و بر شدت پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی و نورونیک اثر بگذارد.

به نظر می‌رسد که افزایش لاکتات ناشی از تمرین از طریق افزایش میزان پروتئین ناقل MCT2 و به دنبال آن GPX4، موجب فعال‌سازی مسیرهای وابسته به BDNF می‌گردد. افزایش BDNF نه تنها نورون‌ها و نوروپلاستیسته را تقویت می‌کند، بلکه از طریق عامل آنتی‌اکسیدانی GPX4 سبب افزایش میزان پروتئین‌های دفاعی و حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده می‌شود. در نتیجه، افزایش همزمان GPX4 و BDNF احتمالاً در کاهش تجمع  $A\beta$  و بهبود عملکرد نورونی در رت‌های دیابتی نقش داشته است. بر اساس شواهد موجود، می‌توان نتیجه گرفت که تمرینات HIIT از طریق فعال‌سازی محور لاکتات-MCT2-GPX4-BDNF موجب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی، ارتقای عملکرد میتوکندری و کاهش آسیب‌های عصبی ناشی از دیابت می‌شود. بنابراین، این مسیر می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی بالقوه در مدیریت عوارض عصبی دیابت نوع ۲ و سایر اختلالات شناختی مرتبط مورد توجه قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری:

به طور خلاصه، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات تناوبی شدید با افزایش لاکتات و تحریک ناقل MCT2، موجب افزایش بیان GPX4 و BDNF در هیپوکمپ موش‌های دیابتی می‌شود. این تغییرات منجر به بهبود عملکرد آنتی‌اکسیدانی، ارتقای سلامت میتوکندری، و کاهش تجمع آمیلوئید بتا گردید. بر اساس یافته‌های ما و شواهد موجود، مسیر سیگنالینگ لاکتات-MCT2-GPX4-BDNF می‌تواند به عنوان یک مسیر مولکولی کلیدی در حفاظت از نورون‌ها و بهبود عملکرد شناختی در دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شود.

### تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

## منابع:

1. Abdul Basith Khan M, Hashim MJ, King JK, Govender RD, Mustafa H, Al Kaabi J. Epidemiology of type 2 diabetes—global burden of disease and forecasted trends. *Journal of epidemiology and global health*. 2020;10(1):107-11.
2. Li M, Li Y, Zhao K, Tan X, Chen Y, Qin C, et al. Changes in the structure, perfusion, and function of the hippocampus in type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Neuroscience*. 2023;16:1070911.
3. Carvalho C, Santos MS, Oliveira CR, Moreira PI. Alzheimer's disease and type 2 diabetes-related alterations in brain mitochondria, autophagy and synaptic markers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2015;1852(8):1665-75.
4. Bharadwaj P, Wijesekara N, Liyanapathirana M, Newsholme P, Ittner L, Fraser P, et al. The link between type 2 diabetes and neurodegeneration: roles for amyloid- $\beta$ , amylin, and tau proteins. *Journal of Alzheimer's disease*. 2017;59(2):421-32.
5. Shi Y-S, Chen J-C, Lin L, Cheng Y-Z, Zhao Y, Zhang Y, et al. Dendrobine rescues cognitive dysfunction in diabetic encephalopathy by inhibiting ferroptosis via activating Nrf2/GPX4 axis. *Phytomedicine*. 2023;119:154993.
6. Jacob N, So I, Sharma B, Marzolini S, Tartaglia MC, Green R. Effects of high-intensity interval training on blood lactate levels and cognition in healthy adults: protocol for systematic review and network meta-analyses. *Systematic reviews*. 2022;11(1):31.
7. Wu Y, Hu H, Liu W, Zhao Y, Xie F, Sun Z, et al. Hippocampal lactate-infusion enhances spatial memory correlated with monocarboxylate transporter 2 and lactylation. *Brain Sciences*. 2024;14(4):327.
8. Yu X, Zhang R, Wei C, Gao Y, Yu Y, Wang L, et al. MCT2 overexpression promotes recovery of cognitive function by increasing mitochondrial biogenesis in a rat model of stroke. *Animal cells and systems*. 2021;25(2):93-101.
9. Butterfield DA, Boyd-Kimball D. Mitochondrial oxidative and nitrosative stress and Alzheimer disease. *Antioxidants*. 2020;9(9):818.
10. Viviani C. The neuronal monocarboxylate transporter MCT2: its regulation by BDNF and its role in learning and memory: Université de Lausanne, Faculté de biologie et médecine; 2011.
11. Hu J, Cai M, Shang Q, Li Z, Feng Y, Liu B, et al. Elevated lactate by high-intensity interval training regulates the hippocampal BDNF expression and the mitochondrial quality control system. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:629914.
12. Chang H, Leem Y-H, Park J, Park J-E, Yang SJ, Kim H-S. High-Intensity Interval Training Improves Memory Deficits in Obese Mice by Enhancing Osteocalcin-Driven Astrocytic BDNF Expression and Stimulating Hippocampal Neurogenesis. *Neurochemical Research*. 2025;50(4):1-16.
13. Mielniczek M, Aune TK. The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) on Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels (BNDF): A Systematic Review. *Brain Sciences*. 2024;15(1):34.
14. Rocha-Gomes A, e Castro TPA, Almeida PR, Leme PSBP, da Silva AA, Riul TR, et al. High-intensity interval training improves long-term memory and increases hippocampal antioxidant activity and BDNF levels in ovariectomized Wistar rats. *Behavioural Brain Research*. 2023;453:114605.
15. Zhang Y, Liao B, Hu S, Pan S-Y, Wang G-P, Wang Y-L, et al. High intensity interval training induces dysregulation of mitochondrial respiratory complex and mitophagy in the hippocampus of middle-aged mice. *Behavioural Brain Research*. 2021;412:113384.

16. Tincknell JB, Kugler BA, Spicuzza H, Berger N, Yan H, You T, et al. High-intensity interval training attenuates impairment in regulatory protein machinery of mitochondrial quality control in skeletal muscle of diet-induced obese mice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2023;49(2):236-49.
17. Lee MR, Kim JE, Choi JY, Park JJ, Kim HR, Song BR, et al. Anti-obesity effect in high-fat-diet-induced obese C57BL/6 mice: Study of a novel extract from mulberry (*Morus alba*) leaves fermented with *Cordyceps militaris*. *Experimental and therapeutic medicine*. 2019;17(3):2185-93.
18. Eliza J, Daisy P, Ignacimuthu S, Duraipandiyan V. Antidiabetic and antilipidemic effect of eremanthin from *Costus speciosus* (Koen.) Sm., in STZ-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*. 2009;182(1):67-72.
19. Rami M, Rahdar S, Azimpour M, Khoramipour K. The effect of high intensity interval training on FOXO3, PI3K and AKT proteins content in heart muscle of type two diabetic rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2023;11(27):8-21.
20. Bejeshk MA, Rajizadeh MA, Najafipour H, Dehghan P. High-intensity interval training ameliorate diabetes-induced disturbances in Alzheimer's-related factors in the hippocampus through adiponectin signaling. 2022.
21. Rajizadeh MA, Hosseini MH, Bahrami M, Hosseini NS, Rostamabadi F, Bagheri F, et al. RETRACTED: Comparison of preventive and therapeutic effects of continuous exercise on acute lung injury induced with methotrexate. *Experimental Physiology*. 2023;108(9):1215-27.
22. Khoramipour K, Katanchi A, Hajirasouli M, Behbudi L, Basereh A, Dehghan P, et al. Combined training in patient with aids: improved quality of life and preserved BDNF. *Sport Sciences for Health*. 2022;18(1):39-46.
23. Lin C-L, Huang C-N. The neuroprotective effects of the anti-diabetic drug linagliptin against A $\beta$ -induced neurotoxicity. *Neural Regeneration Research*. 2016;11(2):236-7.
24. Khosravi P, Shahidi F, Eskandari A, Khoramipour K. High-intensity interval training reduces Tau and beta-amyloid accumulation by improving lactate-dependent mitophagy in rats with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2024;27(11):1430.
25. Kann O. Lactate as a supplemental fuel for synaptic transmission and neuronal network oscillations: Potentials and limitations. *Journal of Neurochemistry*. 2024;168(5):608-31.
26. Robinet C, Pellerin L. Brain-derived neurotrophic factor enhances the hippocampal expression of key postsynaptic proteins in vivo including the monocarboxylate transporter MCT2. *Neuroscience*. 2011;192:155-63.
27. Vieira-Souza LM, Aida FJ, Nunes PRP, de Araújo Costa R, dos Santos JL, Getirana-Mota M, et al. Effects of high-intensity interval training on antioxidant capacities. *RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*. 2024;18(115):784-92.
28. Wang X, Xia P, Song J, Yang T, Yu C, Cheng K, et al. Cranial electrotherapy stimulation alleviates depression-like behavior of post-stroke depression rats by upregulating GPX4-mediated BDNF expression. *Behavioural brain research*. 2023;437:114117.