

تغییرات بیان ژن بتا آمیلوئید ($A\beta$) در بافت هیپوکامپ و مقاومت به انسولین در رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو متعاقب تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف همزمان عسل آویشن

شادی جلالیان^۱، حسین عابد نطنزی^{۱*}، ماندانا غلامی^۱، فرشاد غزالیان^۱

چکیده

مقدمه: استرس اکسیداتیو و مقاومت به انسولین در دیابت نوع دو یکی از عوامل پیشرفت و تسریع اختلالات شناختی و آلزایمر بوده و سنجش تغییرات بیان ژن بتا آمیلوئید و مقاومت به انسولین به عنوان یکی از اختلالات بارز در دیابت نوع دو، متعاقب تمرین تناوبی شدید و مصرف همزمان عسل آویشن هدف پژوهش می‌باشد.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر با ۳۶ سر موش نر جوان از نژاد ویستار که در ۴ گروه کنترل (C)، تمرین تناوبی (T)، عسل آویشن (H) و تمرین تناوبی-عسل آویشن (TH) تقسیم شدند، انجام گرفت. موش‌ها در گروه T و TH با افزایش تدریجی تعداد تناوب و شدت، دو ماه تحت تمرین قرار گرفته و در گروه H و TH، ۳ g/kg عسل آویشن دریافت کردند. سنجش وزن، گلوکز ناشتا و انسولین ناشتا از طریق کیت و شاخص مقاومت به انسولین از طریق فرمول انجام و تغییرات بیان ژن توسط RT-PCR ارزیابی گردید. یافته‌ها تحت آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی قرار گرفتند.

یافته‌ها: افزایش غیرمعنادار وزن، افزایش معنادار انسولین و کاهش معنادار بیان ژن در تمامی گروه‌های مداخله نسبت به C، کاهش معنادار گلوکز ناشتا در گروه T و TH نسبت به C، کاهش معنادار مقاومت به انسولین در گروه T نسبت به سایر گروه‌ها، افزایش غیرمعنادار در گروه H و TH نسبت به C مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: تمرین‌های HIIT و عسل آویشن اثر فزاینده‌ای جهت کاهش گلوکز و بیان ژن بتا آمیلوئید به‌عنوان یک راهکار پیشگیری کننده از بروز ویژگی‌های پاتولوژیک مرتبط با آلزایمر و اختلال حافظه در افراد دیابتی دارد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی شدید، عسل، آنتی‌اکسیدان، دیابت، مقاومت به انسولین، آلزایمر، هیپوکامپ

۱- گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

***نشانی:** تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، تلفن: ۰۲۱۴۴۸۶۵۱۷۹، کد پستی: ۱۴۷۷۸۹۳۸۵۵، پست الکترونیک: abednazari@gmail.com

مقدمه

دیابت نوع دو (DM2) و آلازیم (AD)، هر دو به‌عنوان بیماری‌های متابولیک پیشرونده با ویژگی‌های پاتولوژیک مشابه، مانند اختلال در هموستاز گلوکز، مقاومت به انسولین (IR)، التهاب عصبی، استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندریایی و آمیلوئیدوز شناخته می‌شوند [۱]. بارزترین تظاهرات مختل‌کننده عصبی طی AD، به‌علت اختلال در انتقال عصبی کولینرژیک یا جهش ژنتیکی، توسط بیان بیش از حد پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید (APP) و پرسنیلین ۱ و ۲ (PSEN1,2) ایجاد شده [۲] و در نهایت منجر به تجمع الیگومرهای آمیلوئید بتا (A β) و درهم‌تیدگی‌های نوروفیبریلاری (NFTs) که عمدتاً از پروتئین تاو (ptau) هایپرفسفریله تشکیل شده است، در کورتکس و نئوکورتکس و به‌ویژه مناطق مربوط به حافظه در سیستم لیمبیک داخلی مانند هیپوکامپ می‌شود [۳]. اگرچه سطوح طبیعی APP برای تنظیم برخی عملکردهای سلولی ضروری است، اما افزایش بیان این ژن منجر به افزایش تجمع آمیلوئید در مغز و احتمال ابتلا به AD می‌شود [۴]. همپوشانی نقش انسولین در پاتوژنز هر دو بیماری، این مسیر را روشن‌تر می‌کند چرا که انسولین به تخریب رسوبات A β و خروج آن از مغز کمک می‌کند و هایپرانسولینمی حاد یا تزریق داخل بطنی و وریدی با تسهیل عبور گلوکز از سد خونی - مغزی و شناخته شدن توسط گیرنده‌های انسولین در هیپوکامپ، به‌عنوان یک راهبرد در بهبود حافظه فضایی و کلامی موش‌ها و بیماران مبتلا به AD استفاده شده است [۱].

به‌نظر می‌رسد یافتن راه‌حل‌های درمانی و مهم‌تر از آن پیشگیری‌کننده برای بروز مخاطراتی چون چاقی، بی‌حرکی، دیابت و نوسانات کنترل‌نشده قند خون، که شیوع اختلالات شناختی، انواع زوال عقل عروقی و AD را افزایش می‌دهند [۵]؛ کاربردی باشد. کاهش وزن، گلوکز خون ناشتا (FBS) و همچنین افزایش حساسیت به انسولین توسط مداخلات تمرینی و تغذیه‌ای، سال‌هاست که به‌عنوان راهکارهای طبیعی در کنار مداخلات دارویی در افراد دیابتی و مبتلا AD مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است [۶].

مطالعات پیشین نشان می‌دهد انجام هفتگی فعالیت‌های هوازی با شدت متوسط یا تمرین‌های تناوبی با شدت بالا (HIIT) در افراد مبتلا به بیماری‌های مزمن مانند دیابت شامل کنترل FBS و قند خون سه ماهه (HbA1c)، تعدیل حساسیت به انسولین و وزن و کاهش عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی مانند کاهش فشار خون و کلسترول بالا است. [۷]. HIIT شکلی از تمرین‌های هوازی است که شامل

دوره‌های متناوب و کوتاه با حداکثر تلاش و دوره‌های استراحت با شدت کمتر است که می‌تواند پاسخگوی نیاز تمرینی در افراد پُرمشغله باشد. اگرچه اتفاق نظر واحدی بر سر یک نوع پروتکل با تعداد و شدت نسبی تناوب‌ها و مدت مشخص در یک جلسه وجود ندارد؛ اما این نوع تمرین علاوه بر افراد جوان یا دارای آمادگی جسمانی، برای افراد مبتلا به DM2 نیز ایمن شناخته شده است [۸]. از طرفی به‌نظر می‌رسد هیپوکامپ به‌عنوان مسئول حافظه، بیش از سایر نقاط، تحت تأثیر تمرین‌های ورزشی قرار می‌گیرد [۹]. طبق مطالعات انجام شده، تمرین‌های طولانی مدت HIIT نسبت به تمرین‌های هوایی مداوم یا پیاده‌روی در افراد دیابتی، فواید بیشتری در جهت افزایش حساسیت به انسولین، کاهش FBS و انسولین ناشتا (FI) به همراه داشت [۱۰]. اثربخشی تمرین‌های HIIT بر کاهش سطوح FBS و IR [۱۱]، بهبود سیگنال‌دهی انسولین در عضله [۱۲]، افزایش وزن [۱۳] و کاهش سطوح A β ، ptau تجمع یافته در هیپوکامپ رت‌های دیابتی [۱۴] یا آلازیمری همراه با بهبود رفتار اکتشافی و عملکرد شناختی [۱۵] گزارش شده است.

اخیراً استفاده از طب سنتی و گیاهان دارویی در کنار فعالیت و تحرک بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. عسل به‌عنوان یک مداخله‌ی سنتی ضد دیابت و تعدیل‌کننده استرس اکسیداتیو جهت محافظت عصبی بارها مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۶-۱۸]. عسل طبیعی، علاوه بر محتوای کربوهیدراتی بالا (مونوساکاریدها به‌ویژه فروکتوز، دی‌ساکاریدها به‌ویژه مالتوز و فروکتو الیگوساکاریدها)، شامل مقادیر قابل توجهی آب، ویتامین‌ها و مواد معدنی، پروتئین‌ها، پپتیدها، اسیدهای آمینه، آنزیم‌هایی چون آمیلاز، کاتالاز، اینورتاز، اکسیداز، فلاونوئیدها، توکوفرول‌ها، اسیدهای فنولیک، کاروتنوئیدها و... [۱۹] است. مصرف عسل در افراد سالم و دیابتی در اکثر موارد کاهش سطوح گلوکز، انسولین و IR را به همراه دارد. اگرچه پژوهش‌های انجام شده در رابطه با کاهش یا افزایش وزن پس از مداخله با عسل، متناقض است [۲۰، ۱۷، ۱۶]. کاهش گلوکز و افزایش وزن به‌صورت وابسته به دوز پس از مداخله با عسل در رت‌های دیابتی دیده شد [۲۱-۲۴]. از سویی دیگر آویشن شیرازی که دارای خواص مشابه با *Thymus vulgaris* است [۲۵]، شامل فنول‌ها و فلاونوئیدهایی است که این گیاه را به یک آنتی‌اکسیدان قوی تبدیل می‌کند [۲۶]. به‌طور ویژه‌تر اثرات آویشن بر بهبود هایپرگلیسمی [۲۷] و تظاهرات پاتولوژیک مرتبط با AD بررسی شده است [۲۸]. اثر ترکیبی عسل و آویشن به‌عنوان یک عسل تک‌گل، در کنترل سطوح

گلاسمی در دیابت [۲۹] و همچنین تقویت حافظه در موش‌های آلزایمری [۳۰] نشان داده شده است. لذا با توجه به وجود شکاف علمی در مطالعات صورت گرفته در خصوص بررسی اثر هم‌زمان تمرین تناوبی با شدت بالا و عسلِ آویشن و ابهام موجود در رابطه با ایمن بودن مداخلات مذکور در افراد دیابتی، پژوهش حاضر در نظر دارد تغییرات بیان ژن بتا آمیلوئید و شاخص مقاومت به انسولین را در رت‌های مبتلا به دیابت نوع دوم متعاقب انجام تمرین تناوبی شدید و مصرف عسلِ آویشن مطالعه و گزارش نماید.

روش‌ها

روش پژوهش حاضر، بنیادی و تجربی بوده و با ۳۶ سر موش نر جوان از نژاد ویستار به‌عنوان نمونه آماری انجام شد. میانگین وزنی آنها 110 ± 10 گرم بود که از مؤسسه رویان خریداری و براساس راهنمای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و رعایت بیانیه هلسینگی [۳۱] و پس از دریافت کُد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1401.155 به حیوان‌خانه آزمایشگاه رازی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال داده و در محفظه‌های پُلی‌کربناتی شفاف و با قابلیت اتوکلاو، در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی حدود ۳۰ تا ۶۰٪، کنترل الکترونیکی نور سالن هر ۱۲ ساعت یکبار دو هفته جهت سازگاری با محیط با دسترسی نامحدود به آب و غذا نگهداری شدند. موش‌ها پس از رسیدن به میانگین وزنی 197.70 ± 19.46 به‌منظور ایجاد چاقی تحت رژیم پرچرب (HFD) قرار گرفتند که به‌صورت ۱۲ هفته با رژیم ۴۵٪ چربی و ۸ هفته با رژیم ۶۰٪ چربی انجام گردید. پس از رسیدن موش‌ها به وزن 402.75 ± 51.69 ، جهت القای دیابت از ۲۵ میلی‌گرم استرپتوزوسین (STZ)، توسط تزریق درون صفاقی استفاده گردید [۳۲]. پس از گذشت یک هفته از تزریق، با خونگیری از دم، FBS از طریق گلوکومتر، FI از طریق کیت انسولین مخصوص رت شرکت پارس آزمون ایران به روش الایزا اندازه‌گیری و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) از فرمول ۱ استفاده گردید [۳۳].

فرمول ۱ شاخص مقاومت به انسولین:

= شاخص مقاومت به انسولین

$405 / \text{قند خون ناشتا (میلی گرم/دسی لیتر)} \times \text{انسولین ناشتا (میکرو واحد/میلی لیتر)}$
 سپس موش‌های دیابتی با میانگین وزنی مشابه در گروه‌های کنترل (۸ C, n=) تمرین تناوبی (۱۰ n=T)، عسلِ آویشن (۸ n=H)، تمرین

تناوبی و عسلِ آویشن (۸ n=TH) قرار گرفتند. گروه‌های تمرین ۸ هفته تحت تمرین HIIT، ۵ جلسه در هفته و با افزایش تدریجی سرعت هر دو هفته یکبار از ۳۲ تا ۳۸ متر/دقیقه در تناوب یا ایستروال‌های پُرشدت (۸۰ تا ۹۵٪ حداکثر سرعت) و ۱۶ تا ۲۲ متر/دقیقه در ایستروال‌های استراحت (۵۰ تا ۵۶٪ حداکثر سرعت) به‌مدت ۱۶ تا ۳۴ دقیقه در هر جلسه طبق پروتکل ذکر شده در جدول ۱ قرار گرفتند.

به‌منظور آشنایی موش‌ها با تردمیل مخصوص جوندگان، یک هفته قبل از شروع پروتکل، سه جلسه در هفته به‌مدت ۱۰، ۱۲ و ۱۵ دقیقه و با سرعت ۵ متر/دقیقه و شیب صفر، روی تردمیل راه رفتند و در طول اجرای پروتکل، گروه کنترل نیز به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند [۳۴]. با توجه به عدم دسترسی به ابزارهایی مانند تحلیل‌گر گازهای تنفسی که به‌طور مستقیم VO_{2max} را محاسبه می‌کند و از آنجا که ارتباط بالایی بین سرعت تردمیل و VO_{2max} در رت‌ها وجود دارد ($P=0.05$ ، $r=0.94/98$) شدت تمرین هوازی براساس تست حداکثر سرعت دویدن (MERT) تخمین زده شد. برای این تست، هر دو هفته یکبار موش‌ها طی یک جلسه تمرین، ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر/دقیقه گرم کرده، سپس ۲ دقیقه با سرعت ۱۵ متر/دقیقه شروع به دویدن کردند. هر ۳ دقیقه، ۳ متر/دقیقه به سرعت افزوده شد و زمانی که موش‌ها دیگر قادر به دویدن نبودند، روی شوکر باقی ماندند و سرعتی که موش‌ها در آن زمان به واماندگی رسیدند، سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته شد [۳۵].

هم‌زمان با مداخله تمرینی (۵ روز در هفته)، به گروه‌های تغذیه شده با عسلِ آویشن، از طریق گاواژ ۳ گرم/کیلوگرم عصاره عسلِ آویشن شیرازی رقیق شده با آب مقطر داده شد [۲۹]. برای تهیه این عصاره، سه کیلوگرم گیاه آویشن از مزارع شیراز تهیه و همراه با محلول آب مقطر و الکل (نسبت ۳۰ به ۷۰) به‌مدت ۴۸ ساعت در دستگاه شیکر قرار گرفت. جهت فیلتر کردن مخلوط مذکور آنرا دو بار از صافی رد کرده و پس از تبخیر در دمای 358°C به یک خمیر غلیظ تبدیل گردید. پس از حل کردن این عصاره در آب، ماده موردنظر در کندوی زنبورها، به جهت استحصال عسلِ آویشن خالص در اختیار زنبورهای عسل قرار گرفت [۳۶].

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا

هفته	شدت گرم کردن ۵ متر/دقیقه (m/min)	تعداد تناوب	زمان تناوب	سرعت تناوب	زمان تناوب	شدت تناوب	شدت سرد کردن ۵ متر/دقیقه (m/min)	زمان کل جلسه تمرین
۱ و ۲	۱۰ m/min	۲ تناوب	۲ min	۳۲ m/min ٪۸۰ MERT	۱ min	استراحت	۱۰ m/min	۱۶ min
۳ و ۴	۱۰ m/min	۴ تناوب	۲ min	۳۴ m/min ٪۸۵ MERT	۱ min	استراحت	۱۰ m/min	۲۲ min
۵ و ۶	۱۰ m/min	۶ تناوب	۲ min	۳۶ m/min ٪۹۰ MERT	۱ min	استراحت	۱۰ m/min	۲۸ min
۷ و ۸	۱۰ m/min	۸ تناوب	۲ min	۳۸ m/min ٪۹۵ MERT	۱ min	استراحت	۱۰ m/min	۳۴ min

اندازه‌گیری بیان ژن‌ها نیز از روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) با دستگاه Thermocycler شرکت Corbett مدل Rotor gene 6000 استفاده گردید. برای بررسی کمی و نسبی بیان ژن (داده‌های PCR) از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. طراحی پرایمر (جدول ۲) توسط ورژن ۳ نرم‌افزار Primer express انجام گردید. در این پژوهش ژن آنزیم هیپوگزانتین فسفریبوزیل ترانسفراز (HPRT1) به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شد و در پایان محصول نهایی توسط الکتروفورز ژل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

موش‌های صحرایی (شامل ۸ سر باقی مانده در گروه‌های T و TH و ۶ سر باقی مانده در گروه‌های H و C) دو روز پس از پایان مداخلات و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، به روش آسان کشتی با استفاده از اتر بی‌هوش و قربانی شدند. خون‌گیری از بافت قلب، جهت اندازه‌گیری FBS، FI و HOMA-IR از طریق کیت انسولین و فرمول، انجام گردید. بافت هیپوکامپ جهت مطالعه‌ی بیان ژن‌ها برداشته و پس از خروج از بدن موش، در داخل تانک ازت قرار گرفته و پس از جداسازی از نیتروژن مایع و در دمای 80°C - در فریزر نگهداری شد. جهت

جدول ۲- اطلاعات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش مربوط به ژن بتا آمیلوئید

Primer type	Sequence	Primer length bp	Product length bp	Melting Temperature (T _m)	GC Content (%)	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GCGGACACAGACTATGCTGA (5'→3')	20	165	59.83	55	5	2
Reverse primer	CTCTGTGGCCTCTTCGTAGG (3'→5')	20	165	59.54	60	4	2

آزمون تعقیبی (Post Hoc) بونفرونی (Bonferroni) برای تعیین محل تفاوت و مقایسه بین گروه‌ها استفاده گردید. تحلیل آماری از طریق نرم‌افزار SPSS-22 انجام و سطح معناداری در تمام اندازه‌گیری‌ها $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

افزایش میانگین وزنی موش‌ها بعد از HFD که اطلاعات آن در جدول ۳ توصیف شده است، در کنار افزایش FBS بعد از

در بخش آمار توصیفی از میانگین و انحراف استاندارد، برای تشخیص توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک (Shapiro-Wilk test) و جهت سنجش همگنی واریانس متغیرها از آزمون لون (Levene's test) استفاده شد. در بخش آمار استنباطی، برای مقایسه میانگین تغییرات بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA)، جهت بررسی اثر هر یک از مداخلات و تعیین اندازه اثر از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی (Two-way ANOVA) و سپس از

کم مداخلات (جدول ۴)، تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود ندارد ($F=1.05, P=0.385$).

تزریق STZ مشاهده شد که نمونه‌های چاق دیابتی پژوهش را فراهم آورد. مقایسه یافته‌های آماری نشان داد که علی‌رغم افزایش وزن موش‌ها نسبت به گروه C (جدول ۳)، با اندازه اثر

جدول ۳- توصیف آماری شاخص‌های وزن، گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین و نسبت بیان ژن بتا آمیلوئید

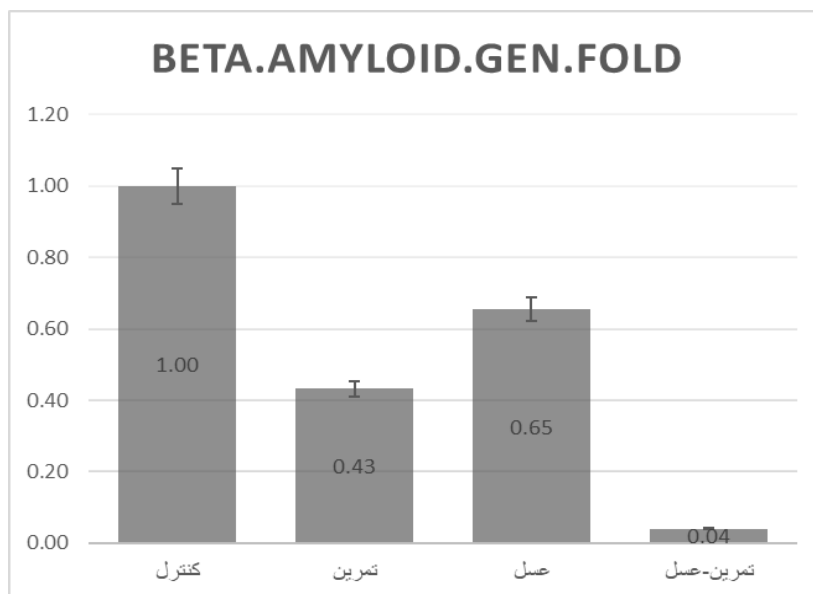
گروه	وزن (gr) پایان مداخله	FBS (mg/dl) پایان مداخله	FI (μ UI/ml) پایان مداخله	HOMA-IR پایان مداخله	بیان ژن $A\beta$ (Fold change) پایان مداخله
T	۳۷۳/۱۲±۵۴/۲۸	۲۲۱/۲۵±۹۰/۴۶	۶/۲۲±۱/۳۵	۲/۰۴±۰/۳۵	۰/۴۳±۰/۰۴
H	۳۳۷/۶۶±۲۳/۴۳	۳۰۵/۸۳±۹۲/۶۸	۱۰/۱۰±۰/۹۱	۳/۸۱±۰/۷۱	۰/۶۵±۰/۱۳
TH	۳۳۴/۵±۷۷/۶۸	۱۶۶/۸۷±۱۷/۷	۱۱/۴۳±۱/۴	۳/۴۱±۰/۵۰	۰/۰۳±۰/۰۱
C	۳۱۷±۷۱/۳	۴۱۵/۵±۲۸/۶۷	۳/۹±۰/۵۳	۳/۱۸±۰/۰۳۳	۱

جهت بررسی اثر مداخلات انجام گردید و معناداری در گروه‌های T و H با اندازه اثر بالا (جدول ۴) مشاهده شد. آزمون تعقیبی نیز کاهش معنادار HOMA-IR را در گروه T نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد و افزایش سطوح شاخص مذکور در گروه‌هایی که مداخله با عسل آویشن داشتند، نسبت به C معنادار نبود؛ با این حال افزایش معنادار آن ($P=0.001$) در گروه H نسبت به گروه TH مشاهده شد. تغییرات بیان ژن $A\beta$ در بافت هیپوکامپ، میان گروه‌ها طی آزمون تحلیل واریانس یکطرفه معنادار بود ($F=267.51, P=0.0001$). آزمون تحلیل واریانس دو راهه نیز اثر معنادار مداخله را در گروه T و H ($PT=1$) را با اندازه اثر بالا (جدول ۴) نشان داد. بر طبق آزمون بونفرونی کاهش معنادار ($P=0.0001$) بیان ژن $A\beta$ در تمام گروه‌های مداخله نسبت به C، گروه مداخله تعاملی نسبت به گروه T و H و گروه T نسبت به گروه H دیده شد (نمودار ۱).

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه، تفاوت معنادار در سطوح FBS را میان گروه‌ها گزارش کرد ($F=10.95, P=0.001$)؛ به‌طوری که آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی کاهش معنادار FBS را در گروه T نسبت به گروه C ($P=0.0001$) با بیشترین اندازه اثر (جدول ۴) نشان داد. همچنین آزمون تحلیل واریانس دو عاملی اثر معنادار مداخله با عسل را گزارش کرد و مطابق با نتایج آزمون بونفرونی، سطوح گلوکز در گروه H به‌صورت معناداری بیشتر از گروه TH بود ($P=0.036$). اگرچه نتایج آزمون تحلیل واریانس دوراهه، اثر تعاملی مداخله را معنادار نشان نداد اما آزمون بونفرونی کاهش معنادار سطوح FBS را در گروه TH نسبت به گروه C ($P=0.0001$) گزارش کرد. از آنجاکه تفاوت معناداری بین سطوح FI بین گروه‌ها وجود داشت ($F=75.88, P=0.001$) و آزمون تحلیل واریانس دو راهه اثر معنادار مداخله در گروه‌های T و H را با اندازه اثر بالا (جدول ۴) نشان داد، نتایج آزمون بونفرونی جهت مقایسه بین گروهی به این صورت گزارش شد: سطوح FI در گروه T ($P=0.003$)، H ($P=0.0001$) و TH ($P=0.0001$) افزایش معناداری نسبت به گروه C داشتند. همچنین افزایش معنادار سطوح FI در گروه‌هایی که مداخله با عسل آویشن داشتند ($P=0.0001$) نسبت به گروه T مشاهده گردید. در پایان مداخله، تغییرات HOMA-IR میان گروه‌ها معنادار بود ($F=5.81, P=0.001$). آزمون تحلیل واریانس دو عاملی

جدول ۴- نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی جهت تعیین اثر مداخله بر متغیرهای شاخص‌های وزن، گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین و نسبت بیان ژن بتا آمیلوئید

Effect size	P value	F	گروه	متغیر
۰/۰۵۰	۰/۲۷۱	۱/۲۶۷		وزن
۰/۰۰۶	۰/۷۰۶	۰/۱۴۶	T	
۰/۰۶۲	۰/۲۲۰	۱/۵۸۹	H TH	
۰/۶۴۱	۰/۰۰۰۱	۴۲/۸۷		گلوکز
۰/۳۰۲	۰/۰۰۴	۱۰/۳۹	T	
۰/۰۴۷	۰/۲۸۸	۱/۱۸	H TH	
۰/۴۱۶	۰/۰۰۱	۱۷/۰۶		انسولین
۰/۸۷۳	۰/۰۰۱	۱۶۵/۷	T	
۰/۰۴۹	۰/۲۷۵	۱/۲۵	H TH	
۰/۴۱۲	۰/۰۰۰۱	۱۶/۸۴		مقاومت به انسولین
۰/۵۴۳	۰/۰۰۰۱	۲۸/۴۸	T	
۰/۱۳۸	۰/۰۶۲	۳/۸۴	H TH	
۰/۹۶۰	۰/۰۰۰۱	۵۷۰/۵۳۵		ژن A β
۰/۹۰۳	۰/۰۰۰۱	۲۲۲/۳۶۰	T	
۰/۰۳۶	۰/۳۵۶	۰/۸۸۷	H TH	



نمودار ۱- تغییرات بیان ژن بتا آمیلوئید

مانند افزایش غیر معنادار وزن در گروه‌های مداخله، کاهش معنادار FBS در گروه‌های دارای مداخله تمرینی نسبت به C و در گروه H نسبت به TH، افزایش معنادار FI در گروه‌های

بحث

یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر ۸ هفته مداخله با تمرین HIIT و عسل آویشن بر رت‌های نر دیابتی، تغییراتی

علت افزایش حساسیت کبد به انسولین، در برخی مطالعات گزارش شده است [۴۲].

اثر ضد دیابت عسل آویشن به‌عنوان یک عسل تک گل حاوی مقادیر قابل توجهی پلی‌فنول و فلاونوئید را به ترکیبات فنولیک مانند اپیکاتچین گالات، پیروگالول، اسید گالیک، اسید فرولیک و اسید کافئیک که به‌ترتیب بیشترین مقدار موجود در عسل را تشکیل می‌دهند و همچنین فروکتوز بالا، نسبت می‌دهند [۴۳]. محتوای ویتامین ث، سلنیوم، زینک [۴۴]، مس [۴۵]، در کنار سایر ترکیبات بیواکتیو موجود در عسل، علاوه بر کنترل گلیسمیک، موجب کاهش استرس اکسیداتیو نیز می‌شود [۲۱]، ۱۷، ۱۶]. در پژوهش حاضر مداخله با عسل (با اندازه اثر بالا) موجب کاهش غیرمعتادار سطوح FBS نسبت به گروه C گردید که نتایج مشابه با در رت‌های دیابتی القا شده با STZ در تحقیق Erejuwa و همکاران به‌ویژه پس از دریافت دوز بالای (۲/۴ g/kg) دیده شد [۲۱]. سازکار کاهش FBS توسط عسل طبیعی و داشتن شاخص گلیسمی پایین‌تر نسبت به ساکارز یا شکر، می‌تواند به‌علت نسبت بالای فروکتوز به گلوکز باشد [۱۶]. فروکتوز می‌تواند با طولانی‌تر کردن زمان تخلیه معده، کاهش دریافت غذا، سرعت جذب و تخلیه معده، تحریک گلوکوکیناز و افزایش برداشت گلوکز موجب ارتقا عملکرد کبد و ذخایر گلیکوژن شود [۴۶، ۱۶]. اگرچه نقش محتوای آنتی‌اکسیدانی عسل بر کاهش FBS و عوارض ناشی از دیابت به‌علت بهبود آسیب سلول‌های بتای پانکراس در رت‌های دیابتی پُر رنگ‌تر به‌نظر می‌رسد [۴۷، ۲۳] و ۳ هفته مداخله با عسل توسط Adesoji و همکاران توانست هاپرگلیسمی در رت‌های دیابتی و همچنین رت‌هایی که رژیم با فروکتوز بالا داشتند را کاهش دهد، اما در موش‌های سالم با رژیم استاندارد علی‌رغم افزایش وزن، نتوانست FBS را کاهش دهد [۲۲]. همچنین در مطالعه Bahrami و همکاران و Erejuwa و همکاران عسل موجب افزایش سطوح FBS در بیماران دیابتی گردید که می‌تواند به‌علت دریافت دوز بالای عسل بدون نظارت درمانی یا بالاتر بودن نسبت گلوکز به فروکتوز در نوع عسلی که مداخله با آن صورت گرفته است باشد [۲۰، ۱۷]. در ضمن دریافت آویشن در موش‌های دیابتی القا شده با دارو [۲۷] یا ماده مؤثره آویشن (تیمول) در موش‌های دیابتی شده بعد از HFD، موجب کاهش معتادار

مداخله نسبت به C و گروه‌های دارای مداخله عسل آویشن نسبت به گروه T، کاهش معتادار HOMA-IR در گروه T نسبت به سایر گروه‌ها، افزایش غیرمعتادار در گروه‌های H و TH نسبت به C و افزایش معتادار در گروه H نسبت به گروه TH، کاهش معتادار بیان ژن $\alpha\beta$ در تمام گروه‌های مداخله نسبت به C، گروه TH نسبت به گروه‌های T و H و همچنین گروه T نسبت به گروه H، همراه داشته است.

علی‌رغم کاهش وزن موش‌های چاق دیابتی در تمامی گروه‌ها در پایان مداخله، بالاتر بودن وزن در گروه‌های مداخله نسبت به کنترل می‌تواند به‌علت افزایش اشتها [۲۴] در موش‌های گروه‌های مداخله با عسل و همچنین حفظ بیشتر توده عضلانی در گروه‌های مداخله با تمرین [۳۷] باشد؛ اگرچه میزان برداشت غذایی در این پژوهش اندازه‌گیری نشده است اما Erejuwa و همکاران نتایج مشابهی در رابطه با افزایش وزن در نتیجه افزایش دریافت غذا به‌صورت وابسته به دوز مداخله با عسل [۲۱] و Zarei و همکاران در نتیجه تمرین‌های HIIT گزارش کردند [۳۸]. در پژوهش حاضر، مداخله تمرینی با اندازه اثر بالا نتایج مشابه با مطالعه Amri و همکاران در جهت کاهش سطوح FBS و HOMA-IR و افزایش سطوح FI در رت‌های دیابتی را نشان داد. جالب توجه است که کاهش گلوکز بیشتر طی تمرین‌های HIIT در مقابل تمرین‌های استقامتی، افزایش وزن در رت‌های دیابتی نسبت به کنترل دیابتی، را گزارش داده است. کاهش سطوح انسولین در رت‌های دیابتی نسبت به کنترل سالم، پس از مداخله تمرینی با HIIT افزایش یافت اما تفاوتی بین سطوح کاهش یافته HOMA-IR بین گروه‌های مداخله دیده نشد [۱۱]. اگرچه سازگاری‌های میتوکندریایی مسئول بخشی از اثرات مفید ورزش در افراد دیابتی است [۳۹] اما با توجه به مشاهده نقص سیگنالینگ انسولین در عضله افراد مبتلا به DM2 به‌عنوان مسئول ایجاد IR [۴۰]، مداخله با تمرین‌های HIIT از طریق افزایش فسفوریلاسیون Akt تحریک شده با انسولین، می‌تواند اثربخش باشد [۱۲]. حتی تمرین‌های حاد HIIT در افراد دیابتی با افزایش انتقال GLUT4 بالاتر، کاهش گلیکوژن پس از تمرین و گشادای عروق موجب کاهش HOMA-IR گردید [۴۱]. اگرچه کنترل گلیسمیک بعد از تمرین‌های مزمن HIIT به

پاتولوژیک مشترک میان دیابت و AD، با مصرف ۴۰ دوز ۳ گرم/کیلوگرم عسل آویشن طی ۴ ماه در رت‌های دیابتی، کاهش بیان ژن A β در هیپوکامپ را به همراه داشت که می‌تواند توسط یافته‌های پژوهش Aameri و همکاران تأیید شود. زیرا مداخله با یک دوز ۲ g/kg عسل آویشن در پژوهش ایشان، توانست موجب تقویت حافظه فضایی، بهبود نورودژنراسیون و افزایش سلول‌های طبیعی در هیپوکامپ و کورتکس در رت‌های آلزایمری شده، در نتیجه اعمال اثر آنتی‌اکسیدانی و محافظت سلولی قوی توسط عسل شود [۳۰]. همچنین فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک می‌توانند موجب کاهش بیان ژن APP، پلاک‌های A β ، مهار AchE، افزایش Ach و کولین استیل ترانسفراز، از طریق تعدیل آسیب اکسیداتیو، التهاب، نکروز و آپوپتوز و پلاستیسیته سیناپسی، تخریب عصبی و اختلالات حافظه و شناختی گردد [۵۷، ۵۸]. اثرات آنتی‌آمیلوئیدی عسل نیز توسط برخی مطالعات انجام شده بر روی فنول‌های تشکیل دهنده آن، مانند کوئرستین [۵۹]، لوتولین [۶۰]، نارینجین [۶۱]، میریستین [۶۲]، اسید گالیک [۶۳]، اسید کافئیک [۶۴] و اسید فرولیک [۶۵]، اسید الازیک [۶۶] و اسید کوماریک [۶۷] نشان داده شده است که کاهش بیان ژن APP و A β توسط مداخله با عسل را توضیح می‌دهد. به‌طور ویژه اثرات مثبت نارینجین، کوئرستین، اسید کافئیک، اسید کلروژنیک، اسید الازیک، اسید فرولیک و اسید کوماریک در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری القا شده توسط ۳ mg/kg STZ [۶۸، ۶۹] و سایر داروها، یا تغذیه شده با HFD در موش‌های پیر ده ماهه پس از ده ماه مداخله [۷۰] مشاهده شده است. در مطالعه Chang و همکاران دریافت ۳۰ میلی گرم/کیلوگرم برای ۳۰ هفته اسید کافئیک (یکی از فنول‌های که با درصد قابل توجهی در عسل وجود دارد) در موش‌هایی که هم‌زمان به مدت ۳۰ هفته با رژیم حاوی ۶۰٪ چربی، دچار هایپرانسولینمی شده بودند، توانست موجب کاهش بیان APP و سطوح A β و بهبود حافظه فضایی نسبت به کنترل گردد [۶۴]. علاوه بر این مداخله طولانی مدت با عسل در کنار رژیم حاوی چربی بالا، موجب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با IRS، فسفریلاسیون Akt و فسفریلاسیون گلیکوژن سنتاز کیناز (GSK3- β) و بهبود عوارض ایجاد شده توسط سندرم متابولیک مانند اختلال در سیگنال دهی انسولین در مغز موش‌های چاق نسبت به کنترل

FBS گردید. علاوه بر این مداخله با تیمول، FI، IR، دریافت غذا و وزن را در موش‌های دیابتی کاهش داد؛ اگرچه در موش‌های سالم تغییر معناداری در سطوح FBS و FI ایجاد نکرد [۴۸]. از طرفی مصرف یک ماه عسل آویشن در موش‌های دیابتی موجب کاهش وزن غیرمعنادار و کاهش FBS شد و توانست از تغییرات متابولیک و عوارض ناشی از دیابت محافظت کند [۲۹].

دیابت غیر وابسته به انسولین (NIDDM) ناشی از یک رژیم غذایی حاوی چربی بالا، می‌تواند در موش‌های آلزایمری موجب افزایش آمیلوئیدوزن و اختلال حافظه گردد [۴۹، ۵۰]. طی پژوهشی گزارش شده، پنج ماه رژیم غذایی با درصد چربی بالا، منجر به ایجاد IR، مشابه با شرایط موجود در DM2 شده و در نهایت سبب افزایش وزن، افزایش حداقل دو برابری در سطوح انسولین سرم، محتوای پپتیدهای آمیلوئیدی در هیپوکامپ، بار و حجم پلاک‌های آمیلوئیدی در قشر مغز (بیش از افزایش تعداد پلاک‌ها) در موش آلزایمری ۹ ماهه می‌شود [۴۹].

ورزش و به میزان کمتری عسل، DM2 را از طریق افزایش JS، کاهش FBS، تعدیل GLUT4 و محافظت از سلول‌های کبدی-پانکراس بهبود می‌بخشد [۵۱]. به‌نظر می‌رسد تمرین‌های HIIT سطوح افزایش یافته A β و ptau در هیپوکامپ رت‌های دیابتی القا شده با HFD و STZ را معکوس می‌کند [۱۴] که می‌تواند با اثر مداخله تمرینی (با اندازه اثر بالا) در جهت کاهش بیان ژن A β در هیپوکامپ نسبت به گروه C در این پژوهش، همسو باشد. علاوه بر بهبود متابولیسم گلوکز در مغز [۵۲] و جذب کتون‌ها [۵۳]، تمرین‌های HIIT می‌تواند با افزایش حجم و جریان خون در هیپوکامپ [۹]، بهبود پلاستیسیته و اتوفازی میتوکندریایی [۹]، کاهش آسیب اکسیداتیو [۵۴]، تحریک عوامل نروتروفیک مشتق از مغز با تنظیم PGC1-a و افزایش میوکاین آیریزین [۵۵] می‌تواند اثرات مثبت خود را اعمال کند. ۱۲ هفته مداخله با تمرین‌های HIIT برخلاف سایر نقاط مغز، در بخش جداری و تمپورال (محل قرارگیری هیپوکامپ) در افراد جوان و مسن بهبود یافت [۵۲، ۵۶].

در پژوهش حاضر تعامل دو مداخله‌ی تمرین HIIT و عسل آویشن نسبت به هر یک از مداخلات به‌صورت جداگانه، جهت کاهش بیان ژن، معنادار بوده است. بنابراین بهبود شرایط

گردید [۷۱].

مصرف زیاد ساکارز یا به صورت رقیق شده توسط آب (۱۰٪ غلظت)، افزایش وزن، عدم تحمل گلوکز، هایپرانسولینمی و IR را در موش القا می‌کند و موجب افزایش رسوب $A\beta$ در مغز و کمبود حافظه در آنها می‌شود؛ اما غسل با وجود سطوح بالای فروکتوز و گلوکز به شکل مونوساکارید و همچنین ساکارز، خواص آنتی‌اکسیدانی نیز به همراه دارد [۷۲]. از طرفی دیگر مداخله با عصاره آویشن در موش‌های بیمار (دیابت و هایپرلیپیدمی القا شده توسط دارو) افزایش ضایعات موجود در مغز و کبد را به صورت وابسته به دوز معکوس کرد [۷۳] و فعالیت‌های بازدارنده AchE در موش‌های دیابتی را به همراه داشت [۲۸] که می‌تواند در تأیید فواید بالقوه غسل آویشن بر افزایش سطوح کاهش یافته Ach در دیابت و AD، کاربردی باشد.

در نهایت، کاهش مشاهده شده در بیان ژن $A\beta$ در تمام گروه‌های مداخله، با اندازه اثر بالا در گروه‌های T و H و همچنین کاهش بیان ژن در گروه تعاملی نسبت به گروه H و T می‌تواند نشان دهنده اثر آنتی‌آمیلوئیدوزنیک تمرین‌های HIIT و غسل آویشن جهت پیشگیری از بروز AD به‌ویژه در افراد دیابتی باشد. از طرفی دیگر اگرچه افزایش غلظت انسولین بالاتر، جذب گلوکز در مغز را تحریک نمی‌کند اما در شرایط چاقی و مقاومت به انسولین این امر ممکن است، مؤثر باشد [۷۴]. افزایش سطوح انسولین طی مداخله تمرینی می‌تواند به علت همبستگی مثبت با افزایش آیریزین پس از تمرین HIIT [۱۱] بوده یا افزایش سطوح انسولین و HOMA-IR در گروه H نسبت به سایر گروه‌ها (صرف‌نظر از معنادار بودن) ممکن است به علت دوز بالای غسل یا بالاتر بودن نسبت گلوکز/فروکتوز [۲۰، ۱۷] یا دوران کوتاه مداخله [۷۱]، مقاومت به انسولین محیطی را بهبود نداده باشد. با این حال اثرات آنتی‌اکسیداتیو غسل یا حفظ هموستاز گلوکز طی تمرین ممکن است مسئول کاهش مقاومت به انسولین مرکزی در مغز [۷۱، ۵۴-۵۲]، در رت‌های پژوهش حاضر به‌عنوان یکی از دلایل احتمالی کاهش بیان ژن $A\beta$ در هیپوکامپ باشد.

بنابراین به نظر می‌رسد مداخله با تمرین‌های HIIT و غسل آویشن اثر فزاینده‌ای جهت تعدیل وزن، کاهش گلوکز خون

ناشتا، افزایش انسولین ناشتا و بیان ژن بتا آمیلوئید به‌عنوان یک عامل پیشگیری از بروز تظاهرات پاتولوژیک مرتبط با آلزایمر و اختلال حافظه در افراد دیابتی داشته باشد. با وجود اینکه مداخله با تمرین جهت تعدیل سطوح انسولین و کاهش مقاومت به انسولین در این پژوهش مؤثرتر بوده است [۴۸، ۲۹]، مداخله با غسل علی‌رغم افزایش معنادار سطوح انسولین ناشتا، موجب افزایش معنادار مقاومت به انسولین نسبت به گروه کنترل نشد و احتمالاً با اعمال خواص آنتی‌اکسیدانی خود اثرات محافظتی عصبی در هیپوکامپ را موجب شده است [۵۸]. با توجه به اینکه اثر حاد غسل در افراد دیابتی موجب افزایش کمتر قند خون و همچنین افزایش سطوح انسولین می‌شود، مصرف آن نسبت به قندهای مصنوعی ایمن‌تر است؛ اگرچه کاهش سطوح گلوکز خون و انسولین در افراد سالم، پس از مصرف غسل خفیف است [۷۵]، اما به موجب خواص ارزشمند آن می‌تواند برای همگان توصیه گردد. با این حال مصرف غسل در بیماران دیابتی به‌ویژه چاق ممکن است نیاز به تنظیم دوز و کاهش کالری دریافتی داشته باشد. همچنین لازم است که جهت حفظ ایمنی افراد دیابتی، نظارت منظم روی سطوح گلاسمی و شدت تمرین [۷۶] توسط متخصص، برای بهره‌مندی از فواید متابولیک تمرین‌های HIIT که ترکیبی از بهبود متابولیسم گلوکز، دفاع آنتی‌اکسیدانی و مسیرهای ترمیم سلولی است [۵۲]، انجام گردد.

سیاسگزاری

این مقاله براساس رساله دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی استخراج شده است. لذا از تمامی کارشناسان و متخصصین آزمایشگاهی و افرادی که ما را در انجام پژوهش حاضر یاری و حمایت کرده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

- Lee HJ, Seo HI, Cha HY, Yang YJ, Kwon SH, Yang SJ. Diabetes and Alzheimer's disease: mechanisms and nutritional aspects. *Clinical nutrition research*. 2018; 7:229-40.
- Hunter S, Brayne C. Relationships between the amyloid precursor protein and its various proteolytic fragments and neuronal systems. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2012; 4:10.
- Ruiz HH, Chi T, Shin AC, Lindtner C, Hsieh W, Ehrlich M, et al. Increased susceptibility to metabolic dysregulation in a mouse model of Alzheimer's disease is associated with impaired hypothalamic insulin signaling and elevated BCAA levels. *Alzheimer's & dementia*. 2016; 12:851-61.
- Gralle M, Ferreira ST. Structure and functions of the human amyloid precursor protein: the whole is more than the sum of its parts. *Progress in neurobiology*. 2007; 82:11-32.
- Dao L, Choi S, Freeby M. Type 2 diabetes mellitus and cognitive function: understanding the connections. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*. 2023; 30:7-13.
- Lin Y, Sun Y, Zhang Z, Wang Z, Wu T, Wu F, et al. A cross-sectional study of optimal exercise combinations for type 2 diabetes. *Journal of Public Health*. 2023.
- Piercy KL, Troiano RP, Ballard RM, Carlson SA, Fulton JE, Galuska DA, et al. The Physical Activity Guidelines for Americans. *Journal of the American Medical Association*. 2018; 320:19.
- Ramos AK, Calafat AP, Martínez PJ, Fages CA. Effects of high-intensity interval training on patients with type 2 diabetes mellitus: A narrative review. *Scientific Journal of Sport and Performance*. 2023; 2:36-43.
- dos Santos JR, Bortolanza M, Ferrari GD, Lanfredi GP, do Nascimento GC, Azzolini AECS, et al. One-Week High-Intensity Interval Training Increases Hippocampal Plasticity and Mitochondrial Content without Changes in Redox State. *Antioxidants*. 2020; 9:445.
- Jiménez-Maldonado A, García-Suárez PC, Rentería I, Moncada-Jiménez J, Plaisance EP. Impact of high-intensity interval training and sprint interval training on peripheral markers of glycemic control in metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2020;1866:165820
- Amri J, Parastesh M, Sadegh M, Latifi S, Alaei M. High-intensity interval training improved fasting blood glucose and lipid profiles in type 2 diabetic rats more than endurance training; possible involvement of irisin and betatrophin. *Physiology international*. 2019; 106:213-24.
- 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. *Scientific Reports*. 2017; 7:204.
- Zarei F, Jafari A. High-Intensity Interval Training Through Mtor And Srebp1 Proteins Leads To The Regulation Of Adipose Tissue In Rats Obese With Type 2 Diabetes. *Journal of Knowledge and Health in Basic Medical Sciences*. 2020; 15:1.
- Orumiyehi A, Khoramipour K, Rezaei MH, Madadzadeh E, Meymandi MS, Mohammadi F, et al. High-Intensity Interval Training-Induced Hippocampal Molecular Changes Associated with Improvement in Anxiety-like Behavior but Not Cognitive Function in Rats with Type 2 Diabetes. *Brain Sciences*. 2022; 12:1280.
- Liu Q, Fu X, Han R, Liu X, Zhao X, Wei J. Neuroprotective Effect of HIIT against GFAP Hypertrophy through Mitochondrial Dynamics in APP/PS1 Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022; 2022:1764589.
- Bobiş O, Dezmirean DS, Moise AR. Honey and diabetes: the importance of natural simple sugars in diet for preventing and treating different type of diabetes. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018;2018.
- Bahrami M, Ataie-Jafari A, Hosseini S, Foruzanfar MH, Rahmani M, Pajouhi M. Effects of natural honey consumption in diabetic patients: an 8-week randomized clinical trial. *International journal of food sciences and nutrition*. 2009; 60:618-26.
- Shaikh A, Ahmad F, Teoh SL, Kumar J, Yahaya MF. Honey and Alzheimer's Disease—Current Understanding and Future Prospects. *Antioxidants*. 2023; 12:427.
- Zaheen Z, Yatoo AM, Ali S, Ali MN, Majid S, Rasool S, et al. Honey: types, composition and antimicrobial mechanisms. *Therapeutic Applications of Honey and its Phytochemicals*. 2020; 193-214.
- Erejuwa O. The use of honey in diabetes mellitus: is it beneficial or detrimental? *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012; 10:444-5.
- Erejuwa O, Omotayo, Gurtu S, Sulaiman SA, Wahab MSA, Sirajudeen K, Salleh MSM. Hypoglycemic and antioxidant effects of honey supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2013; 80:1.
- Adesoji F, Oluwakemi A. Differential effect of honey on selected variables in alloxan-induced and fructose-induced diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research*. 2008; 11.
- Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS, Sirajudeen KNS, Salzihan MS. Effects of

- Malaysian Tualang honey supplementation on glycemia, free radical scavenging enzymes and markers of oxidative stress in kidneys of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Cardiology*. 2009;137:S45.
24. Chepulis L, Starkey N. The Long-Term Effects of Feeding Honey Compared with Sucrose and a Sugar-Free Diet on Weight Gain, Lipid Profiles, and DEXA Measurements in Rats. *Journal of Food Science*. 2008; 73:H1-H7.
 25. Sajed H, Sahebkar A, Iranshahi M. *Zataria multiflora* Boiss.(Shirazi thyme)—an ancient condiment with modern pharmaceutical uses. *Journal of ethnopharmacology*. 2013;145:3:686-98.
 26. Roby MHH, Sarhan MA, Selim KA-H, Khalel KI. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*. 2013; 43:827-31.
 27. Ekoh SN, Akubugwo EI, Ude VC, Edwin N. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effect of spices (*Thymus vulgaris*, *Murraya koenigii*, *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense*) in alloxan-induced diabetic rats. *International Journal of Biosciences*. 2014; 4:179-87.
 28. Vladimir-Knežević S, Blažeković B, Kindl M, Vladić J, Lower-Nedza AD, Brantner AH. Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the Lamiaceae family. *Molecules*. 2014; 19:767-82.
 29. Lafraxo H, Bakour M, Laaroussi H, El Ghouizi A, Ousaaid D, Aboulghazi A, et al. The synergistic beneficial effect of thyme honey and olive oil against diabetes and its complications induced by alloxan in wistar rats. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2021; 2021.
 30. Aameri R, Ghorbani H, Reza Bazrafshan H, Zahra Gharib F, Korani B. Iranian thyme honey plays behavioral, cellular and molecular important roles as an amazing preventive and therapeutic agent in the brain of Alzheimer's rat model. *Neuroscience Letters*. 2022; 783:136702.
 31. WMA statement on animal use in biomedical research: World Medical Association Declaration of Helsinki; [cited 2023 April]. Available from: <https://www.wma.net/policies-post/wma-statement-on-animal-use-in-biomedical-research/#:~:text=The%20WMA%20Declaration%20of%20Helsinki,used%20for%20research%20be%20respected.>
 32. Zou F, Mao X-q, Wang N, Liu J, Ou-Yang J-p. *Astragalus polysaccharides* alleviates glucose toxicity and restores glucose homeostasis in diabetic states via activation of AMPK. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2009; 30:1607-15.
 33. Yoon H, Jeon DJ, Park CE, You HS, Moon AE. Relationship between homeostasis model assessment of insulin resistance and beta cell function and serum 25-hydroxyvitamin D in non-diabetic Korean adults. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2016; 59:139-44.
 34. Akbarzadeh A, Fattahi bafghi A. The effect of high intensity interval training combined with curcumin supplementation on Plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2018; 25:961-9.
 35. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2007; 14:753-60.
 36. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MSA, Sirajudeen KN, Salleh MSM, Gurtu S. Differential responses to blood pressure and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic wistar-kyoto rats and spontaneously hypertensive rats: effects of antioxidant (Honey) treatment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011; 12:1888-907.
 37. Callahan MJ, Parr EB, Hawley JA, Camera DM. Can High-Intensity Interval Training Promote Skeletal Muscle Anabolism? *Sports Medicine*. 2021; 51:405-21.
 38. Zarei F, Sherafati Moghadam M, Shabani M, Jokar M. the effects of 4 weeks high intensity interval training on mammalian rapamycin target protein (mTOR) and sterol transcription factor regulatory protein-1 (srebp1) proteins content in diabetics obese rats adipose tissue. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2020; 19:26-35.
 39. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *Journal of applied physiology*. 2011; 111:1554-60.
 40. Karlsson HK, Zierath JR, Kane S, Krook A, Lienhard GE, Wallberg-Henriksson H. Insulin-stimulated phosphorylation of the Akt substrate AS160 is impaired in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects. *Diabetes*. 2005; 54:1692-7.
 41. Mackenzie R, Maxwell N, Castle P, Elliott B, Brickley G, Watt P. Intermittent Exercise with and without Hypoxia Improves Insulin Sensitivity in Individuals with Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012; 97:E546-E55.
 42. Winding KM, Munch GW, Iepsen UW, Van Hall G, Pedersen BK, Mortensen SP. The effect on glycaemic control of low-volume high-intensity

- interval training versus endurance training in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2018; 20:1131-9.
43. Imtara H, Al-Waili N, Aboulghazi A, Abdellaoui A, Al-Waili T, Lyoussi B. Chemical composition and antioxidant content of *Thymus vulgaris* honey and *Origanum vulgare* essential oil; their effect on carbon tetrachloride-induced toxicity. *Veterinary World*. 2021; 14:292.
 44. Song MK, Hwang IK, Rosenthal MJ, Harris DM, Yamaguchi DT, Yip I, et al. Antidiabetic actions of arachidonic acid and zinc in genetically diabetic Goto-Kakizaki rats. *Metabolism*. 2003; 52:7-12.
 45. Sitasawad S, Deshpande M, Katdare M, Tirth S, Parab P. Beneficial effect of supplementation with copper sulfate on STZ-diabetic mice (IDDM). *Diabetes research and clinical practice*. 2001; 52:77-84.
 46. Deibert P, König D, Kloock B, Groenefeld M, Berg A. Glycaemic and insulinaemic properties of some German honey varieties. *European journal of clinical nutrition*. 2010; 64:762-4.
 47. Erejuwa O, Sulaiman S, Wahab M, Sirajudeen K, Salleh MM, Gurtu S, editors. Antioxidant protection of Malaysian tualang honey in pancreas of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Annales d'endocrinologie*; 2010: 71:4.
 48. Saravanan S, Pari L. Role of thymol on hyperglycemia and hyperlipidemia in high fat diet-induced type 2 diabetic C57BL/6J mice. *European journal of pharmacology*. 2015; 761:279-87.
 49. Ho L, Qin W, Pompl PN, Xiang Z, Wang J, Zhao Z, et al. Diet-induced insulin resistance promotes amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2004; 18:902-4.
 50. Mehla J, Chauhan BC, Chauhan NB. Experimental induction of type 2 diabetes in aging-accelerated mice triggered Alzheimer-like pathology and memory deficits. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014; 39:145-62.
 51. Chijiokwu EA, Nwangwa EK, Oyovwi MO, Ben-Azu B, Naiho AO, Moke EG, et al. Possible homeostatic, glucose uptake mechanisms and hepato-pancreatic histological effects of intermittent fasting, exercise, starvation, and honey in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Nutrire*. 2023; 48:16.
 52. Robinson MM, Lowe VJ, Nair KS. Increased Brain Glucose Uptake After 12 Weeks of Aerobic High-Intensity Interval Training in Young and Older Adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2017; 103:221-7.
 53. Castellano C-A, Paquet N, Dionne IJ, Imbeault H, Langlois F, Croteau E, et al. A 3-Month Aerobic Training Program Improves Brain Energy Metabolism in Mild Alzheimer's Disease: Preliminary Results from a Neuroimaging Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017; 56:1459-68.
 54. Gusdon AM, Callio J, Distefano G, O'Doherty RM, Goodpaster BH, Coen PM, et al. Exercise increases mitochondrial complex I activity and DRP1 expression in the brains of aged mice. *Experimental Gerontology*. 2017; 90:1-13.
 55. Jedrychowski Mark P, Wrann Christiane D, Paulo Joao A, Gerber Kaitlyn K, Szpyt J, Robinson Matthew M, et al. Detection and Quantitation of Circulating Human Irisin by Tandem Mass Spectrometry. *Cell Metabolism*. 2015; 22:734-40.
 56. Fisher JP, Hartwich D, Seifert T, Olesen ND, McNulty CL, Nielsen HB, et al. Cerebral perfusion, oxygenation and metabolism during exercise in young and elderly individuals. *The Journal of Physiology*. 2013; 591:1859-70.
 57. Matsui T, Ingelsson M, Fukumoto H, Ramasamy K, Kowa H, Frosch MP, et al. Expression of APP pathway mRNAs and proteins in Alzheimer's disease. *Brain Research*. 2007; 1161:116-23.
 58. Mijanur Rahman M, Gan SH, Khalil MI. Neurological Effects of Honey: Current and Future Prospects. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014; 2014:958721.
 59. Sabogal-Guáqueta AM, Muñoz-Manco JI, Ramirez-Pineda JR, Lamprea-Rodriguez M, Osorio E, Cardona-Gómez GP. The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimer's disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology*. 2015; 93:134-45.
 60. Tsai F-S, Cheng H-Y, Hsieh M-T, Wu C-R, Lin Y-C, Peng W-H. The Ameliorating Effects of Luteolin on Beta-Amyloid-Induced Impairment of Water Maze Performance and Passive Avoidance in Rats. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2010; 38:279-91.
 61. Meng X, Fu M, Wang S, Chen W, Wang J, Zhang N. Naringin ameliorates memory deficits and exerts neuroprotective effects in a mouse model of Alzheimer's disease by regulating multiple metabolic pathways. *Molecular Medicine Reports*. 2021; 23:332.
 62. Lei Y, Chen J, Zhang W, Fu W, Wu G, Wei H, et al. In vivo investigation on the potential of galangin, kaempferol and myricetin for protection of d-galactose-induced cognitive impairment. *Food Chemistry*. 2012; 135:2702-7.
 63. Mansouri MT, Farbood Y, Sameri MJ, Sarkaki A, Naghizadeh B, Rafeirad M. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food Chemistry*. 2013; 138:1028-33.

64. Chang W, Huang D, Lo YM, Tee Q, Kuo P, Wu JS, et al. Protective Effect of Caffeic Acid against Alzheimer's Disease Pathogenesis via Modulating Cerebral Insulin Signaling, β -Amyloid Accumulation, and Synaptic Plasticity in Hyperinsulinemic Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019; 67:7684-93.
65. Wang N-Y, Li J-N, Liu W-L, Huang Q, Li W-X, Tan Y-H, et al. Ferulic Acid Ameliorates Alzheimer's Disease-like Pathology and Repairs Cognitive Decline by Preventing Capillary Hypofunction in APP/PS1 Mice. *Neurotherapeutics*. 2021; 18:1064-80.
66. Zhong L, Liu H, Zhang W, Liu X, Jiang B, Fei H, et al. Ellagic acid ameliorates learning and memory impairment in APP/PS1 transgenic mice via inhibition of β -amyloid production and tau hyperphosphorylation. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2018; 16:4951-8.
67. Rashno M, Gholipour P, Salehi I, Komaki A, Rashidi K, Esmacil Khoshnam S, et al. p-Coumaric acid mitigates passive avoidance memory and hippocampal synaptic plasticity impairments in aluminum chloride-induced Alzheimer's disease rat model. *Journal of Functional Foods*. 2022; 94:105117.
68. Babaei P, Eyvani K, Kouhestani S. Sex-independent cognition improvement in response to kaempferol in the model of sporadic Alzheimer's disease. *Neurochemical Research*. 2021; 46:1480-6.
69. Gao L, Li X, Meng S, Ma T, Wan L, Xu S. Chlorogenic Acid Alleviates A β 25-35-Induced Autophagy and Cognitive Impairment via the mTOR/TFEB Signaling Pathway. *Drug Design, Development and Therapy*. 2020; 14:1705-16.
70. Zhou T, Liu L, Wang Q, Gao Y. Naringenin alleviates cognition deficits in high-fat diet-fed SAMP8 mice. *Journal of Food Biochemistry*. 2020; 44:e13375.
71. Terzo S, Calvi P, Nuzzo D, Picone P, Galizzi G, Caruana L, et al. Preventive Impact of Long-Term Ingestion of Chestnut Honey on Glucose Disorders and Neurodegeneration in Obese Mice. *Nutrients*. 2022; 14:756.
72. Cao D, Lu H, Lewis TL, Li L. Intake of Sucrose-sweetened Water Induces Insulin Resistance and Exacerbates Memory Deficits and Amyloidosis in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. *Journal of Biological Chemistry*. 2007; 282:36275-82.
73. Koochi-Hosseiniabadi O, Moini M, Safarpour A, Derakhshanfar A, Sepehrimanesh M. Effects of dietary Thymus vulgaris extract alone or with atorvastatin on the liver, kidney, heart, and brain histopathological features in diabetic and hyperlipidemic male rats. *Comparative Clinical Pathology*. 2015; 24:1311-5.
74. Hirvonen J, Virtanen KA, Nummenmaa L, Hannukainen JC, Honka M-J, Bucci M, et al. Effects of Insulin on Brain Glucose Metabolism in Impaired Glucose Tolerance. *Diabetes*. 2011; 60:443-7.
75. NS A-W. Natural Honey Lowers Plasma Glucose, C-Reactive Protein, Homocysteine, and Blood Lipids in Healthy, Diabetic, and Hyperlipidemic Subjects: Comparison with Dextrose and Sucrose. *Journal of Medicinal Food*. 2004; 7:100-7.
76. Taylor JL, Holland DJ, Spathis JG, Beetham KS, Wisløff U, Keating SE, et al. Guidelines for the delivery and monitoring of high intensity interval training in clinical populations. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 2019; 62:140-6.

Changes in Beta Amyloid (A β) Gene Expression in Hippocampus Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats Following High Intensity Interval Training (HIIT) Concurrent of Thyme's Honey Consumption

Shadi Jalalian¹, Hossein Abednatanzi^{1*}, Mandana Gholami¹, Farshad Ghazalian¹

1. Department of Professional Physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: Oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetes are one of the factors in the development of cognitive disorders and Alzheimer's. So measuring the changes in beta amyloid gene expression and insulin resistance as one of the prominent disorders in type 2 diabetes, following HIIT and thyme's honey consumption is the aim of the research.

Methods: The present study was conducted with 36 young male Wistar rats, which were divided into 4 groups: control (C), interval training (T), thyme's honey (H) and interval training-thyme's honey (TH) was performed. The rats in the T and TH groups were trained for two months with intervals and intensity gradually increasing, and in the H and TH groups, they received 3 g/kg of thyme's honey. Weight, fasting glucose and insulin were measured through the kit and insulin resistance index was done through the formula and gene expression were evaluated by RT-PCR. The findings were subjected to one-way and two-way ANOVA and Bonferroni's test.

Results: Non-significant (NS) increase in weight, significant increase in insulin and significant decrease in gene expression in all intervention groups compared to C, significant decrease in fasting glucose in T and TH groups compared to C, significant decrease in insulin resistance in T group compared to other groups, NS increase was observed in group H and TH compared to C.

Conclusion: HIIT and thyme's honey had synergistic effect to reduce glucose and beta-amyloid gene expression as a preventive strategy for the occurrence of pathological features related to Alzheimer's and memory impairment in diabetics.

Keywords: High-Intensity Interval Training, Honey, Antioxidant, Diabetes, Insulin Resistance, Alzheimer's Disease, Hippocampus

* Department of Professional Physical Education and Sport Science, Humanities and social science Faculty, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Daneshgah Blvd, Simon Bulivar Blvd, Tehran, Iran, Tel: +982144865179, Postal Code: 1477893855, Email: abednazari@gmail.com

