Autumn (2024) 13(50): 45-55
DOI: 10.30473/eab.2025.71559.1956
Received: 11 Jun 2024 Accepted: 25 Feb 2025

Experimental Animal Biology Open Access

ORIGINAL ARTICLE

The effect of interval and continuous training on leptin receptor expression in brain tissue and calorie intake in aged diabetic rats

Asiye Seyyed[1], Seyedeh Ommolbanin Ghasemian[2(0000000248053553)]

[1]Department of Sport physiology, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran.
[2]Department of Veterinary, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran.

Correspondence
Seyedeh Ommolbanin Ghasemian
Email: Ghasemian1249@yahoo.com

ABSTRACT

Diabetes is one of the most common chronic diseases with a high prevalence that increases with age. It is predicted that by 2030, more than 360 million people in the world will have diabetes. The present study aimed to investigate the effect of intermittent and continuous training on leptin receptor expression in brain tissue and food intake in aged rats. This basic and experimental research was conducted on 32 female Sprague-Dawley rats. The rats were randomly divided into four groups: healthy control, diabetic control, intermittent training, and continuous training, with each group consisting of 8 samples. The training protocols involved were tailored to test the specific impact of different exercise regimens. The intermittent training group underwent a regime of high-intensity interval training, while the continuous training group engaged in steady-state, moderate-intensity exercise. The control groups did not participate in any structured physical activity. Following the training period, leptin levels and food intake were meticulously measured. Leptin gene expression in the brain tissue was assessed using Real-Time PCR, a highly sensitive and specific method for quantifying gene expression. Food intake was monitored and recorded at the beginning and end of the study period. The results demonstrated a statistically significant increase in leptin gene expression in the brain tissue of the rats subjected to intermittent training (P=0.001). This suggests that intermittent training may more effectively stimulate molecular pathways associated with leptin receptor expression compared to continuous training. Furthermore, a significant difference in food intake was observed between the groups after the eight-week training period (P=0.001). Tukey's post hoc analysis revealed a significant difference between the high-intensity interval training and continuous training groups in terms of leptin expression (P=0.03), indicating that the type and intensity of training can differentially influence leptin receptor dynamics. Additionally, food intake in the diabetic control group was significantly higher compared to the training groups (P=0.001), suggesting that physical activity can mitigate hyperphagia in diabetic conditions. However, both interval and continuous training exerted a similar effect on overall food intake (P=0.58), implying that while the type of exercise influences leptin expression, the regulation of food consumption might be governed by other compensatory mechanisms. In conclusion, the findings underscore the significant impact of intermittent training on leptin gene expression in brain tissue of aged rats, highlighting its potential advantages over continuous training in modulating molecular markers linked to energy homeostasis. Nonetheless, both training modalities exhibited comparable effects on food intake, emphasizing the complexity of exercise-induced metabolic regulation.

KEYWORDS

Diabetes, Continuous Trainin, Intense Interval Training, Leptin.

How to cite
Seyyed, A., & Ghasemian, S. O. (2024). The effect of interval and continuous training on leptin receptor expression in brain tissue and calorie intake in aged diabetic rats. *Experimental Animal Biology*, *13*(50), 45-55.

© 2023, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

سال سیزدهم، شماره دوم، پیاپی پنجاهم، پاییز ۱۴۰۳ (۴۵-۵۵)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۷

DOI: 10.30473/eab.2025.71559.1956

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

اثر تمرین تناوبی و تداومی بر بیان گیرنده لپتین در بافت مغز و میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند

آسیه سید[۱]، سیده ام‌البنین قاسمیان[۲](۰۰۰۰۰۰۰۲۴۸۰۵۳۵۵۳)

[۱]گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.

[۲]گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.

نویسنده مسئول:

سیده ام‌البنین قاسمیان

رایانامه: Ghasemian1249@yahoo.com

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرینات تناوبی و تداومی بر بیان گیرنده لپتین در بافت مغز و میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند انجام شد. این پژوهش بنیادی و تجربی روی ۳۲ موش ماده نژاد اسپراگ داولی انجام شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند؛ کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابتی تمرین تناوبی و دیابتی تمرین تداومی (هر گروه هشت نمونه). پس از اعمال پروتکل‌های تمرینی در گروه‌های مربوطه، سطح لپتین و کالری مصرفی ارزیابی شدند. بیان ژن لپتین با استفاده از روش Real- Time PCR و کالری مصرفی در هفته اول و آخر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تمرین تناوبی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن لپتین در بافت مغز موش‌های صحرایی دیابتی سالمند داشت (P=۰/۰۰۱). علاوه بر این، پس از هشت هفته تمرین، تفاوت معنی‌داری در میزان کالری مصرفی بین گروه‌ها مشاهده شد (P=۰/۰۰۱). آزمون توکی نیز نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین تناوبی شدید و تداومی از نظر بیان لپتین وجود دارد (P=۰/۰۳). همچنین، کالری مصرفی در گروه کنترل دیابتی نسبت به دو گروه تمرین افزایش یافت (P=۰/۰۰۱). تأثیر تمرینات تناوبی و تداومی بر کالری مصرفی یکسان بود (P=۰/۵۸). تمرینات تناوبی به‌طور مؤثرتری از تمرینات تداومی بر بیان ژن لپتین در بافت مغز موش‌های صحرایی دیابتی سالمند تأثیر می‌گذارند. با این‌حال، هر دو نوع تمرین بر میزان کالری مصرفی تأثیر یکسانی داشتند.

واژه‌های کلیدی

تمرین تناوبی شدید، تمرین تداومی، دیابت، لپتین، کالری مصرفی.

استناد به این مقاله:

سید، آسیه و قاسمیان، سیده ام‌البنین (۱۴۰۳). اثر تمرین تناوبی و تداومی بر بیان گیرنده لپتین در بافت مغز و میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند. *فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی*، ۱۳(۵۰)، ۴۵-۵۵.

مقدمه

بیماری دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن با شیوع بالاست که با افزایش سن افزایش می‌یابد. پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۳۰ بالغ بر ۳۶۰ میلیون نفر در دنیا به دیابت مبتلا شوند (Cho *et al*., 2018). سالیانه بیش از ۲۵۰ هزار نفر از مردم در اثر مشکلات ناشی از بیماری دیابت جان خود را از دست می‌دهند و دو برابر این تعداد نیز در معرض خطر بروز حملات قلبی و سکته قرار دارند (Shaw *et al*., 2010). شایع‌ترین ویژگی در بیماری دیابت نوع ۲، دیس لیپیدیمی و افزایش بافت چربی به‌ویژه در ناحیه شکمی است. تجمع چربی در بافت احشایی شکمی با ایجاد مقاومت به انسولین مرتبط است. مقاومت به انسولین و چاقی با دیابت نوع ۲ ارتباط تنگاتنگی دارند و جزء عوامل خطرزایی هستند که باعث پیشرفت این بیماری می‌شوند (Min & Stephens, 2015).

تغییر نوع سبک زندگی، کاهش میزان فعالیت بدنی و مصرف مواد غذایی پر کالری در چند دهه اخیر عوامل اصلی رشد روزافزون دیابت می‌باشد. اگرچه مکانیزم‌های اصلی بروز دیابت نوع دو هنوز به‌طور کامل شناخته نشده، اما نقش چاقی در بروز این بیماری ثابت شده است (Alkhatib *et al*., 2017). بافت چربی که افزایش آن به چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن مقاومت به انسولین منجر می‌شود، علاوه بر ذخیره لیپیدها موجب ترشح چندین سایتوکاین پروتئینی که میانجی آثار بیولوژیکی مختلفی هستند، می‌شود. این پروتئین‌ها جزو خانواده آدیپوسایتوکاین‌ها بوده و شامل آدیپونکتین، فاکتور نکروز تومور آلفا، رزیستین، اینترلوکین ۶ و لپتین می‌باشند (Singh *et al*., 2017).

چاقی با افزایش سطوح لپتین خون همراه است. میزان هورمون لپتین می‌تواند متأثر از وضعیت تغذیه، نوروانـدوکرین و عملکرد سیستم ایمنی بدن باشد (Vasilenko *et al*., 2017). لپتین از طریق کاهش دریافت غذا و تحریک مصرف انرژی بر سیستم عصبی مرکزی به‌ویژه هیپوتالاموس تأثیر می‌گذارد و سبب افزایش اکسیداسیون چربی و کاهش ذخایر تری‌گلیسرید در عضله اسکلتی می‌شود (Abbenhardt *et al*., 2013). به‌علاوه هورمون‌هایی مانند هورمون‌های جنسی، کاتکو لامین‌ها و هورمون‌های تیروئیدی در تنظیم لپتین نقش دارند. این هورمون‌ها با تنظیم ژن مسئول چاقی بر تولید لپتین مؤثر هستند (Shojaei, 2024, Triantafyllou *et al*., 2016). در برخی از مطالعات عدم تأثیر لپتین روی ترشح انسولین وابسته به گلوکز را گزارش نموده‌اند. اما سایر یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که مقاومت لپتینی یکی از عوامل مؤثر در افزایش انسولین و در نهایت عدم تحمل گلوکز در افراد چاق یا بیماری‌های وابسته به آن است (Meek & Morton, 2016). برخی یافته‌ها حاکی از تأثیر تجویز لپتین بر کاهش مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی بوده است (Zhu *et al*., 2020). در انسان مقاومت به انسولین با سطوح بالای لپتین رابطه دارد و مطالعات زیادی هم سطوح لپتین مشابه را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان داده‌اند (Katsiki *et al*., 2018).

نقش فعالیت بدنی در بهبود مقاومت به انسولین در مبتلایان به چاقی و دیابت نوع دوم به خوبی شناخته شده است. به‌طوری‌که با افزایش فعالیت بدنی، سندرم متابولیک مرتبط با مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی نوع دوم بهبود می‌یابد (Colberg *et al*., 2016). انرژی دریافتی بر بیان ژنی لپتین اثر می‌گذارد، بنابراین، ممکن است تغییر در مقدار مصرف انرژی با فعالیت بدنی، بر مقدار لپتین نیز تأثیرگذار باشد. استرس فیزیولوژیکی تمرین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده بالقوه ترشح لپتین توسط بافت چربی شناخته شده است (Dundar *et al*., 2021). با این‌حال، اثر فعالیت ورزشی بر غلظت لپتین خون همچنان بحث‌برانگیز است. برخی مطالعه‌ها گزارش نموده‌اند که ورزش با توجه به‌مدت و کالری مصرفی، به کاهش سطوح لپتین خون منجر می‌شود. بنابراین، ممکن است تمرین بتواند با تغییر در مقادیر لپتین، عملکرد آن را در بدن و از جمله بافت‌هایی مانند چربی و عضله اسکلتی تحت تأثیر قرار دهد (Becic *et al*., 2018). با توجه به تناقض یافته‌ها در خصوص پاسخ لپتین و میزان مصرف کالری در جریان فعالیت ورزشی، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر تمرین تناوبی و تداومی بر بیان گیرنده لپتین در بافت مغز و میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند انجام شد.

پیشینه پژوهش

پژوهش‌های زیادی در مورد تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان ژن‌ها و مصرف کالری در موجودات دیابتی و سالمند انجام شده است. در ادامه به برخی از مطالعات مهم در این زمینه اشاره شده است. مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌توانند بیان گیرنده‌های لپتین را در بافت‌های مختلف بدن، از جمله بافت مغز، تحت تأثیر قرار دهند. لپتین هورمونی است که نقش مهمی در تنظیم انرژی بدن و کاهش اشتها دارد (Dundar *et al*., 2021).

در یک مطالعه بر روی موش‌های دیابتی، نشان داده شد که تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) می‌تواند باعث افزایش بیان گیرنده‌های لپتین در بافت مغز شود، که این امر می‌تواند بهبودهای متابولیکی و کاهش اشتها را در پی داشته باشد (Singh *et al*., 2017).

تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرینات تداومی با شدت متوسط هر دو می‌توانند تأثیرات مثبتی بر سلامت متابولیکی و کنترل گلوکز در موجودات دیابتی داشته باشند. در یک پژوهش، مقایسه‌ای بین تمرینات تناوبی و تداومی انجام شد و نتایج نشان داد که هر دو نوع تمرین می‌توانند باعث بهبود حساسیت به انسولین و کنترل بهتر سطح گلوکز خون شوند، اما تمرینات تناوبی با شدت بالا تأثیر بیش‌تری در افزایش بیان گیرنده‌های لپتین داشته است (Katsiki *et al*., 2018).

یکی از مهم‌ترین جنبه‌های تمرینات ورزشی، تأثیر آن‌ها بر مصرف کالری است. مشاهده شده است که در موش‌های دیابتی تمرینات ورزشی می‌توانند باعث کاهش مصرف کالری شوند که این امر می‌تواند به کنترل بهتر وزن و بهبود وضعیت متابولیکی منجر شود (Marroqui *et al*., 2012). در یک مطالعه، نشان داده شد که موش‌های دیابتی که تحت تمرینات تناوبی با شدت بالا قرار گرفته بودند، نسبت به گروه کنترل دیابتی مصرف کالری کم‌تری داشتند و این امر می‌تواند به دلیل افزایش اثرات تنظیمی لپتین باشد (Dundar *et al*., 2021).

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک پژوهش بنیادی و تجربی بود که روی موش‌های ماده نژاد اسپراگ داولی، تهیه شده از مرکز پرورش حیوانات واقع در خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، جهت ارزیابی تأثیر تمرین بر بیان گیرنده لپتین صورت گرفت.

شرایط نگهداری موش‌ها

ابتدا، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی ماده مسن از نژاد اسپراگو–داولی با سن تقریبی ۱۳–۱۵ ماهه و وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی مرودشت تهیه و به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی حیوانی این واحد دانشگاهی منتقل شدند. در تمام دوره پژوهش، موش‌های صحرایی در شرایط استاندارد در قفس‌های پلی‌کربنات (به ابعاد ۴۷×۲۷×۲۰ سانتی‌متر) شفاف با قابلیت اتوکلاو، دمای مطلوب (۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد)، رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد، چرخه روشنایی–تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. جهت ایجاد سازگاری، موش‌ها یک هفته در شرایط مذکور نگه داشته شدند.

مواد مورداستفاده

در این مطالعه از ۳۲ سر موش صحرایی ماده سالمند از نژاد اسپراگو–داولی تهیه‌شده از خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت استفاده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند؛ کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابتی تمرین تناوبی و دیابتی تمرین تداومی. برای القای دیابت، موش‌های گروه‌های مربوطه تحت تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین ساخت شرکت سیگما (حل‌شده در بافر سیترات) قرار گرفتند. سطح گلوکز خون پس از چهار روز با استفاده از دستگاه گلوکومتر سنجش شد و موش‌های با گلوکز خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. در طول مرحله آشناسازی و تمرینات، موش‌ها در شرایط استاندارد و کنترل‌شده در قفس‌های پلی‌کربنات با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. برای ایجاد بیهوشی، از محلول کتامین (۹۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلو وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلو وزن بدن) استفاده شد. برای استخراج RNA از کیت استخراج (دنا زیست، ایران) و برای ساخت cDNA از روش‌های استاندارد و کیت‌های مربوطه استفاده شد. اندازه‌گیری سطوح بیان ژن لپتین با استفاده از روش Real-time PCR انجام شد (Dinari Ghozhdi *et al*., 2021).

طراحی مطالعه

پس از اخذ مجوز و تصویب طرح توسط کمیته آموزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی سالمند از خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابتی تمرین تناوبی و دیابتی تمرین تداومی با تعداد مساوی هشت نمونه در هر گروه، تقسیم شدند.

پس از یک شب ناشتایی، به جز موش‌های گروه کنترل سالم، ۲۴ سر موش تحت تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین ساخت شرکت سیگما (حل‌شده در بافر سیترات) قرار گرفتند. چهار روز پس از تزریق، از دم حیوانات به‌روش پانچ‌کردن جهت سنجش قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتر

خون‌گیری به‌عمل آمد. موش‌های دارای گلوکز خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.

در طول مرحله آشناسازی، به‌منظور خوگیری به شرایط آزمایشگاه حیوانات، پنج روز در هفته به‌مدت ۱۰-۱۵ دقیقه و با سرعت ۵-۱۰ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند و با چگونگی دویدن روی نوارگردان آشنا شدند. سپس، پروتکل‌های تمرین تناوبی و تداومی در گروه‌های تمرین اعمال شد.

برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و ۱۱:۳۰ به اتمام رسید. کالری مصرفی موش‌ها در هفته اول و آخر موردارزیابی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان کالری مصرفی در رت‌ها بعد از تمرین‌های استقامتی، با استفاده از متابولیسم تنفسی، میزان اکسیژن مصرفی و دی‌اکسیدکربن تولیدی رت‌ها اندازه‌گیری می‌شود. این داده‌ها به‌طور غیرمستقیم میزان کالری مصرفی رت‌ها را نشان می‌دهد. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۰-۱۲ ساعت ناشتایی، تمامی حیوانات با تزریق داخل صفاقی محلول کتامین (۹۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلو وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلو وزن بدن) بیهوش و تشریح شدند. پس از شکافتن جمجمه، بافت مغز به دقت جدا و پس از شست‌وشو با آب مقطر و توزین، بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطوح آدیپونکتین نگهداری شد. میزان سطوح بیان ژن لپتین با استفاده از روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد. برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن موردنظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ استفاده شد.

پروتکل‌های تمرینی

پروتکل تمرین تناوبی شدید

موش‌های صحرایی در گروه تمرین تناوبی جهت سازگاری، به‌مدت یک هفته با سرعت پنج تا ۱۰ متر بر دقیقه و به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه دویدند. سپس گروه‌های تمرینی به‌مدت چهار هفته، هر هفته چهار جلسه دویدند. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی بر روی نوار گردان ۴۴ دقیقه بود که شامل ۶ دقیقه گرم‌کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه)، پنج دوره تمرین ۴ دقیقه‌ای با تناوب شدید (۷۰ تا ۹۵ درصد سرعت بیشینه)، چهار دوره تمرین ۳ دقیقه‌ای با شدت کم (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت بیشینه) و ۶ دقیقه سردکردن بود. همچنین شیب نوار گردان در طول پژوهش صفر درجه بود و تغییری نداشت (Yazdani *et al*., 2020).

پروتکل تمرین تداومی

برای انجام تمرینات تداومی، موش‌های صحرایی به‌مدت چهار هفته، چهار جلسه در هفته و هر جلسه ۶۰ دقیقه تمرینات تداومی را با شدت ۵۵ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن انجام دادند. موش‌های صحرایی ابتدا ۵ دقیقه با سرعت ۶ متر بر دقیقه گرم کردند. در ادامه، در تمرینات اصلی، سرعت دویدن در هفته اول ۹ متر بر دقیقه، در هفته دوم ۱۰ متر بر دقیقه، در هفته سوم ۱۳ متر بر دقیقه و در هفته چهارم ۱۵ متر بر دقیقه به‌مدت ۶۰ دقیقه بود (Khakdan *et al*., 2020).

تفاوت تمرینات تداومی و تناوبی

تمرینات تداومی و تناوبی هر یک دارای اثرات متفاوتی بر سلامت و فیزیولوژی موش‌های دیابتی هستند. تمرینات تداومی شامل فعالیت‌هایی با شدت ثابت و مدت زمان طولانی‌تری هستند که به افزایش استقامت قلبی-عروقی و ظرفیت هوازی منجر می‌شوند. این نوع تمرینات به کاهش چربی بدن و بهبود متابولیسم گلوکز کمک می‌کنند. در مقابل، تمرینات تناوبی شامل دوره‌های با شدت بالا و کوتاه‌مدت هستند که با دوره‌های استراحت یا شدت پایین تناوب می‌کنند. این نوع تمرینات به بهبود حساسیت به انسولین و کاهش مقاومت به انسولین منجر می‌شوند. همچنین به دلیل شدت بالاتر، ممکن است کالری بیش‌تری سوزانده و بهبود سریع‌تری در عملکرد قلبی-عروقی و ظرفیت هوازی ایجاد کنند (Yazdani *et al*., 2020). هر دو نوع تمرین می‌توانند اثرات مثبتی برای موش‌های دیابتی داشته باشند، اما انتخاب نوع تمرین بستگی به اهداف پژوهش و شرایط خاص موش‌ها دارد (Khakdan *et al*., 2020).

استخراج RNA

استخراج RNA مطابق با دستورالعمل کیت استخراج (دنا زیست، ایران) با استفاده از ۵۰ میلی‌گرم از بافت مغز انجام گرفت (Dinari Ghozhdi *et al*., 2021). بافت‌ها با استفاده از یک میلی‌مول محلول تریزول لیز شده و با دستگاه همگن‌کننده بافت، کاملاً هموژن شدند. در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به‌کمک ۰/۲۵ میلی‌مول کلروفرم صورت گرفت. RNA استخراج‌شده با ۱ میلی‌مول اتانول سرد ۷۰ درصد شست‌وشو و خشک شد، سپس به آن آب استریل (۱/۵ میکرولیتر برای هر گرم از بافت مغز) اضافه شد. برای سنجش کمی RNA استخراج‌شده از دستگاه بیوفوتومتر استفاده شد.

ساخت cDNA

برای هر نمونه، سه مرحله ساخت cDNA مطابق با دستورالعمل کیت استخراج (دنا زیست، ایران) انجام گرفت (Dinari Ghozhdi *et al.*, 2021). بدین ترتیب که در ابتدا هشت میکروگرم از RNA استخراج‌شده با ۰/۸ میکرولیتر از آنزیم DNaseنوع یک و ۲ میکرولیتر از بافر ۱۰x آن و آب DEPC مخلوط شد و حجم نمونه به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. محصول ایجاد شده بدون ورتکس‌کردن و به آرامی مخلوط شد و سپس با برنامه زیر در دستگاه ترموسایکلر انکوبه شد؛ پنج دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد) مرحله ساخت cDNA به‌وسیله آنزیم (RT و پنج دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد) برای غیرفعال‌کردن آنزیم RT).

پس از اتمام مراحل ترموسایکلر، ۲۸۰ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد و برای استفاده در QPCR در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. همچنین، برای هر نمونه cDNA نیز، یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر b2m به‌عنوان کنترل داخلی و برای آزمون حضور cDNA تهیه شد. کنترل داخلی نمونه‌ها به آرامی و بدون ورتکس مخلوط شده و در دستگاه Real-time PCR با برنامه زیر PCR شد؛ ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشته‌شدن اولیه)، ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشته‌شدن)، ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (اتصال پرایمرها) و ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (گسترش). واکنش از مرحله دوم به بعد، برای ۴۰ سیکل تکرار شد. Ctهای مربوط به واکنش‌ها توسط نرم‌افزار دستگاه Real-time PCR استخراج و در نهایت میانگین Ct سه مرتبه ثبت شد. لیست پرایمرهای استفاده شده در جدول (۱) نمایش داده شده است.

تجزیه و تحلیل آماری

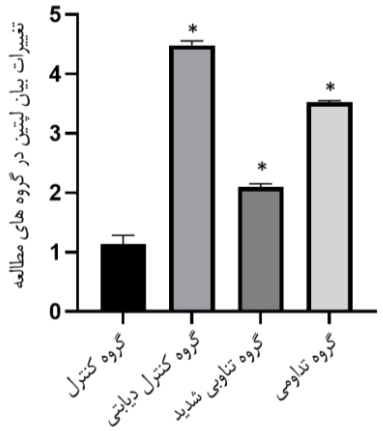
برای توصیف و طبقه‌بندی داده‌ها از آمار توصیفی استفاده شد. سپس، با استفاده از آزمون کولموگروف – اسمیرنوف، نرمال‌بودن توزیع داده‌ها بررسی شد. جهت بررسی تفاوت بین گروه‌ها و تأثیرگذاری تمرینات، از آزمون ANOVA با اندازه‌های مکرر استفاده شد و در صورت معنی‌داری، از آزمون تعقیبی توکی و t وابسته برای تعیین اختلاف بین گروه‌ها به‌صورت جفتی استفاده شد. کلیه عملیات تجزیه و تحلیل آماری در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ و توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام گردید.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر از نتایج یک تز دانشجویی جهت اخذ مدرک فیزیولوژی فعالیت بدنی و تندرستی با کد اخلاق IR.IAU.BEHBAHAN.REC.1402.007 استخراج شد. کلیه مراحل این مطالعه بر پایه اصول اخلاقی هلسینکی در پژوهش با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

یافته‌های پژوهش

میانگین میزان بیان لپتین در هفته اول و آخر در گروه‌های موردبررسی در نمودار (۱) نمایش داده شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه متغیر لپتین در هفته اول و آخر در گروه‌های تحقیق در جدول (۲) نمایش داده شده است. یافته‌ها نشان داد که تمرین تناوبی بر میزان بیان ژن لپتین در بافت مغز در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند تأثیر معنی‌داری دارد (F=۲۱/۲۵؛ P=۰/۰۰۱).

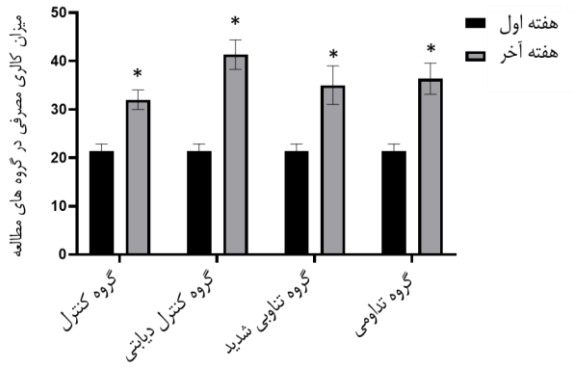


نمودار ۱. میانگین میزان لپتین. افزایش معنی‌دار بیان ژن لپتین در بافت مغز در موش‌های صحرایی دیابتی در مقابل گروه کنترل (*، P=۰/۰۰۱) و کاهش بیان ژن لپتین در بافت مغز در گروه تناوبی شدید و تداومی در مقابل گروه دیابتی (*، P=۰/۰۰۱).

میانگین میزان کالری مصرفی در هفته اول و آخر در گروه‌های موردبررسی در نمودار (۲) نمایش داده شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه متغیر کالری مصرفی در هفته اول و آخر در گروه‌های تحقیق در جدول (۲) نمایش داده شده است. تمرین تناوبی و تمرین تداومی بر میزان کالری مصرفی در هفته اول در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند تأثیر معنی‌داری نداشتند. با این‌حال، پس از هشت هفته تمرین تناوبی و تمرین تداومی، بین گروه‌های تحقیق از نظر متغیر کالری مصرفی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (F=۳۲/۷۴ ؛ P=۰/۰۰۱).

جدول ۱. لیست پرایمرهای استفاده‌شده

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
B2m (Shadegan *et al*., 2020)	Forward: 5'- CGTGCTTGCCATTCAGAAA -3' Reverse: 5'-ATATACATCGGTCTCGGTGG -3'	244
Leptin (Peng *et al*., 2018)	Forward: 5'- TGACATTTCACACACGCAGT -3' Reverse: 5'- CATGAGCTATCTGCAGCACG -3'	170



نمودار ۲. کالری مصرفی در هفته اول و آخر. کاهش معنی‌دار کالری مصرفی بعد از هشت هفته تمرین تناوبی در مقابل گروه کنترل دیابتی (*، P=۰/۰۰۱).

جدول۲. مقایسه متغیر لپتین و کالری مصرفی در هفته اول و اخر در گروه‌های پژوهش

متغیر	آماره منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات ± انحراف معیار	F	سطح معنی داری (P)
لپتین	بین گروه‌ها	۵۶/۷۶	۳	۱۸/۹۲ ± ۶/۵۲	۲۱/۲۵	۰/۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۲۴/۹۳	۲۸	۰/۸۹ ± ۰/۲۳	--	--
کالری مصرفی در هفته اول	بین گروه‌ها	۱۰/۵۷	۳	۳/۵۲ ± ۰/۴۲	۰/۵۹	۰/۶۳
	داخل گروه‌ها	۱۶۸/۵۰	۲۸	۶/۰۲ ± ۱/۲۳	--	--
کالری مصرفی در هفته آخر	بین گروه‌ها	۶۲۸/۸۹	۳	۲۰۹/۶۳ ± ۱۰/۷۸	۳۲/۷۴	۰/۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۱۷۹/۲۸	۲۸	۶/۴۰ ± ۱/۹۷	--	--

* آنالیز واریانس یک راهه

با توجه به معنی‌داری نتایج، جهت مشخص‌کردن تفاوت‌های متغیرهای لپتین و کالری مصرفی بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد، همان‌طورکه در جدول (۳) نمایش داده شده است.

نتایج آزمون تعقیبی توکی برای متغیر لپتین نشان داد که بین گروه سالم و کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). بنابراین، القا دیابت باعث افزایش بیان ژن لپتین در گروه دیابتی شد. در مقایسه بین گروه کنترل دیابتی و گروه تمرین تناوبی شدید نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P=۰/۰۰۱). با این‌حال، در مقایسه بین گروه کنترل دیابتی و گروه تمرین تداومی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۲۲). بین گروه کنترل سالم و گروه تمرین تداومی تفاوت معنی‌داری در بیان ژن لپتین مشاهده شد که حاکی از بی‌تأثیری تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن لپتین دارد (P=۰/۰۰۱). تفاوت معنی‌داری در بیان ژن لپتین بین گروه کنترل سالم و گروه تمرین تناوبی شدید مشاهده نشد (P=۰/۰۹)، که این حاکی از تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن لپتین می‌باشد. همچنین، تفاوت معنی‌داری میان گروه تمرین تناوبی شدید و تمرین تداومی از نظر میزان بیان لپتین مشاهده شد که این حاکی از تأثیر بیش‌تر تمرین تناوبی شدید نسبت به تمرین تداومی بر بیان ژن لپتین داشت (P=۰/۰۳).

نتایج آزمون تعقیبی توکی برای متغیر کالری مصرفی نشان می‌دهد بین گروه کنترل سالم و گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری وجود داشت که نشان‌دهنده افزایش کالری مصرفی در گروه کنترل دیابتی بود (P=۰/۰۰۱). در مقایسه بین گروه کنترل دیابتی و گروه تمرین تناوبی شدید و گروه تمرین تداومی نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد که حاکی از افزایش کالری مصرفی در گروه کنترل دیابتی بود (P=۰/۰۰۱). با این‌حال، بین گروه کنترل سالم و گروه تمرین تناوبی شدید (P=۰/۹۱) و گروه تمرین تداومی (P=۰/۲۳). از نظر افزایش کالری مصرفی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت که حاکی از تأثیر تمرین تناوبی شدید و تداومی بر متغیر کالری مصرفی می‌باشد. در نهایت، بین گروه تمرین تناوبی شدید و گروه تمرین تداومی تفاوت معنی‌داری از نظر میزان کالری مصرفی مشاهده نشد که حاکی از تأثیر یکسان تمرین تناوبی شدید و تمرین تداومی بر میزان کالری مصرفی می‌باشد (P=۰/۵۸).

جدول۳. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای متغیر لپتین و کالری مصرفی

متغیرها	گروه	نسبت به سایر گروه‌ها	MD	سطح معنی‌داری
بیان لپتین	کنترل سالم	کنترل دیابتی	−۳/۴۹	۰۰۱*
		تمرین تناوبی شدید	−۱/۱۵	۰/۰۹
		تمرین تداومی	−۲/۵۵	۰/۰۰۱*
	کنترل دیابتی	تمرین تناوبی شدید	۲/۳۴	۰/۰۰۱*
		تمرین تداومی	۰/۹۴	۰/۲۲
	تمرین تناوبی شدید	تمرین تداومی	−۱/۴۰	۰/۰۳*
کالری مصرفی در هفته اخر	کنترل سالم	کنترل دیابتی	−۱۱/۱۴	۰/۰۰۱*
		تمرین تناوبی شدید	−۰/۸۶	۰/۹۱
		تمرین تداومی	−۲/۴۸	۰/۲۳
	کنترل دیابتی	تمرین تناوبی شدید	۱۰/۲۸	۰/۰۰۱*
		تمرین تداومی	۸/۶۷	۰/۰۰۱*
	تمرین تناوبی شدید	تمرین تداومی	−۱/۶۳	۰/۵۸

بحث

به‌طور خلاصه، یافته‌های این مطالعه نشان داد که تمرین تناوبی بر بیان ژن لپتین در بافت مغز موش‌های صحرایی دیابتی سالمند مؤثر است. با این‌حال، تأثیر تمرین تداومی بر بیان ژن لپتین اثری نداشت. تمرین تناوبی تأثیر بیش‌تری از تمرین تداومی بر میزان بیان ژن لپتین در بافت مغز موش‌های صحرایی داشت. دیگر یافته‌ها نشان داد که تمرین تناوبی شدید و تمرین تداومی بر میزان کالری مصرفی موش‌های صحرایی دیابتی سالمند مؤثر بودند و بین تمرین تناوبی و تداومی از نظر میزان کالری مصرفی تفاوتی مشاهده نشد.

ظرفیت ذخیره‌سازی بافت چربی زیر جلدی در چاقی محدود است و اضافه‌بار کالری بیش‌تر منجر به تجمع چربی در بافت‌های نابجا می‌شود. فرایند چاقی پیشرفت مقاومت به انسولین را تقویت می‌کند (Longo *et al*., 2019). همچنین، لپتین در پاتوژنز چاقی و مقاومت به انسولین نقش دارد (Molina *et al*., 2003). نتایج مطالعات نشان داده که غلظت لپتین با وزن بدن و شاخص توده بدنی (BMI) در دیابت نوع ۲ ارتباط مثبت دارد (Zulfania *et al*., 2020). مقاومت به انسولین اغلب با چاقی و هایپرلپتینمی همراه است و منجر به افزایش سطح لپتین می‌شود (Thorand *et al*., 2010). بین لپتین و انسولین همبستگی بالایی وجود دارد. این همبستگی باعث ایجاد اختلالات بسیاری در افراد مبتلا به دیابت می‌شود. سطح لپتین پلاسما به‌طور مستقیم با ذخایر چربی بدن مرتبط است و به تغییرات در تبادل انرژی بدن پاسخ می‌دهد (Dinari Ghozhdi *et al*., 2021).

مشابه یافته‌های مطالعه حاضر، یافته‌های مطالعه Dinari *et al*. (2021) نشان داد که القای دیابت باعث افزایش سطح لپتین و TNF-α و کاهش انسولین می‌شود. آن‌ها نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی و تمرین مقاومتی باعث کاهش سطوح ژن لپتین می‌گردد. همچنین، چهار هفته توقف تمرین باعث از بین رفتن این سازگاری‌ها گردید. مطالعه مذکور ارتباط بالایی بین وزن بدن موش‌های دیابتی نوع ۲ و لپتین مشاهده کرد.

بنابراین، به نظر می‌رسد که تمرین کوتاه‌مدت برای بازگرداندن مقادیر متغیرهای متابولیک به سطوح قبل از تمرین کافی است. این یافته در مطالعه حاضر نیز موردتأیید قرار گرفت. مطالعات متعددی اثرات تمرین ورزشی بر غلظت لپتین سرم را بررسی کرده‌اند (Hopkins *et al*., 2014; Abbenhardt *et al*., 2013)، اما تا کنون مطالعات کمی اثرات تمرین تداومی و تناوبی شدید را بر سطوح لپتین ارزیابی کرده‌اند. یافته‌های مطالعه Abbenhardt *et al*. (2013) نشان داد که ورزش هوازی (شامل ۴۵ دقیقه، ۶۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته، به‌مدت ۱۲ ماه) در مقایسه با ورزش با شدت بالا، غلظت وزن بدن و لپتین را کاهش داد. با این‌حال، یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از تأثیر بیش‌تر تمرین تناوبی شدید نسبت به تمرین تداومی بود. یک عامل این تناقض ممکن است تفاوت در انجام تمرین تداومی و تناوبی باشد. در مطالعه حاضر، سرعت تمرین تناوبی ۷۰ تا ۹۵ درصد سرعت بیشینه بود. یافته‌های یک مطالعه دیگر نشان داد که سطح لپتین به‌طور قابل توجهی به دنبال یک تمرین مقاومتی ۶ ماهه کاهش یافت.

همچنین، یافته‌های مطالعه دیگر نشان داد که دویدن روی تردمیل موش‌ها (به‌مدت ۳۰ دقیقه در هر جلسه و پنج بار در هفته به‌مدت شش هفته) باعث افزایش سطح لپتین در موش‌های ماده می‌گردد اما منجر به تغییری در موش‌های نر نشد (Marroqui *et al*., 2012). دلیل مغایرت با یافته‌های این مطالعه می‌تواند

وزن اولیه کم‌تر، داشتن چربی بدن کم‌تر، و همچنین شدت و مدت کم‌تر ورزش نسبت به مطالعه فوق‌الذکر و سایر متغیرهای مداخله‌گر باشد.

یکی از مکانیسم‌های احتمالی برای توجیه کاهش سطح لپتین سرم طی اجرای تمرینات تناوبی شدید، کاهش چربی بدن و ذخایر آن به‌دنبال این دسته از تمرینات باشد، به‌طوری‌که تمرینات تناوبی شدید منجر به تحریک سنتز پروتئین عضلانی می‌شود و در نتیجه ترشح لپتین کاهش می‌یابد. انتخاب هر یک از روش‌های تمرین می‌تواند راه خوبی برای کاهش لپتین باشد. بسیاری از مطالعات تأیید کرده‌اند که قطع تمرین باعث افزایش چاقی، مقاومت به انسولین و ترشح آدیپوکین‌ها و کاهش عملکرد ورزشی در غیر ورزشکاران و ورزشکاران می‌شود (Kraemer *et al*., 2001).

عدم تأثیر تمرین تداومی بر بیان ژن لپتین در بافت مغز در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند با پژوهش Kraemer *et al*. (2001) در یک راستا بود. مطالعه مذکور نشان داد که ورزش‌هایی که باعث عدم تعادل انرژی کافی می‌شوند (کیلوکالری دریافتی در مقابل مصرف کیلو کالری)، میانگین و دامنه ۲۴ ساعته ریتم روزانه لپتین را در زنان سرکوب می‌کند. سرکوب غلظت لپتین ممکن است با تغذیه متعادل شود و می‌تواند کاهش غلظت لپتین پس از دوره‌های ورزشی شدید مانند دو ماراتن را توضیح دهد.

غلظت لپتین ۴۸ ساعت پس از تمرین هوازی طولانی‌مدت کاهش می‌یابد و ورزش مقاومتی طولانی مدت با کاهش تأخیری لپتین ۹ ساعت پس از تمرین همراه است. پروتکل‌های تمرین ورزشی که منجر به کاهش توده چربی می‌شود، غلظت لپتین را کاهش می‌دهد. یافته‌های متفاوتی در مورد مطالعات تمرینی طولانی‌مدت (بیش از ۱۲ هفته) وجود دارد. برخی یافته‌ها هیچ اثری از تمرین بر غلظت لپتین به‌جز اثرات ناشی از کاهش چربی پیدا نکردند و مطالعات دیگر کاهش غلظت لپتین را پس از محاسبه کاهش چربی یافتند (Afzalpour *et al*., 2015).

سه عامل مقاومت به انسولین، وزن بدن و تعادل منفی انرژی در تنظیم مقدار لپتین با همدیگر ارتباط متقابل دارند. همچنین، ارتباطی نزدیک بین لپتین پلاسما با شاخص توده بدن و غلظت انسولین وجود دارد. فعالیت لپتین نقش مهمی در کنترل مصرف غذا، مصرف انرژی، متابولیسم و وزن بدن دارد. توده سلولی β می‌تواند توسط لپتین از طریق تغییر در تکثیر، آپوپتوز یا اندازه سلول تحت تأثیر قرار گیرد. همه این عملکردهای مختلف در سلول β توسط لپتین در نتیجه تنوع زیاد مسیرهای سیگنالی که این هورمون قادر به فعال کردن آن‌ها در پانکراس غدد درون‌ریز است، تحریک می‌شود. از این رو، لپتین به دلیل سطوح مختلف مدولاسیون جمعیت سلول‌های β پانکراس می‌تواند در هموستاز گلوکز شرکت کند (Uysal *et al*., 2017). مشخص شده است که با مهار فسفاتیدیل اینوزیتول-۳ کیناز که آنزیمی مهم در سیگنال‌دهی با انسولین است، توانایی لپتین در توزیع مجدد اسید چرب به مسیر اکسایش تا حد زیادی از بین می‌رود. به نظر می‌رسد مجموعه این عوامل توجیه‌کننده کاهش سطوح لپتین و متغیرهای موردبررسی حاضر بر اثر تمرین پرشدت باشد.

مطالعه Hosseini *et al*. (2022) اثرات چشم‌گیر ترکیب رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی را بر متغیر لپتین تأیید کرد. اجرای شش هفته تمرین و مصرف عصاره دارچین باعث تعدیل اثرات نامطلوب رژیم غذایی پرچرب شده و تغییرات مطلوبی را در بیان ژن لپتین، وزن بدن و بافت کبد ایجاد کرد.

همچنین، دیگر نتایج نشان دادند که تمرین تناوبی و تمرین تداومی بر میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند تأثیر معنی‌داری دارد. اما بین تمرین تناوبی و تداومی بر میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، به این معنی که صرف نظر از نوع تمرین، فعالیت فیزیکی بر میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند اثرگذار است. تأثیر تمرینات هوازی تناوبی همراه با تمرینات قدرتی استقامتی و محدودیت کالری بر پروفایل گلیسمی و چربی در مطالعات بسیاری مورد تأیید قرار گرفته است (Aparicio *et al*., 2016, Cavalcante *et al*., 2021). پرکاربردترین روش‌ها برای مبارزه با چاقی و سندرم متابولیک، محدودیت کالری و ورزش است.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه از نتایج این پژوهش استنباط شد که تمرین تناوبی بر بیان ژن لپتین بافت مغز در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند تأثیر معنی داری دارد اما تمرین تداومی بر بیان ژن لپتین تأثیرگذار نبود. تمرین تناوبی بر بیان ژن لپتین بافت مغز مؤثرتر از تمرین تداومی بود. همچنین، تمرین تناوبی و تداومی بر میزان کالری مصرفی در موش‌های صحرایی دیابتی سالمند اثرگذار است. بنابراین استفاده از این تمرین‌ها، می‌تواند به‌عنوان عاملی برای ترویج ورزش جهت ارتقای وضعیت سلامتی در میان افراد دیابتی نوع دو پیشنهاد گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

References

Abbenhardt, C., McTiernan, A., Alfano, C. M., Wener, M. H., Campbell, K. L., Duggan, C., Foster-Schubert, K. E., Kong, A., Toriola, A. T., & Potter, J. D. (2013). Effects of individual and combined dietary weight loss and exercise interventions in postmenopausal women on adiponectin and leptin levels. *Journal of internal medicine*, 274(2), 163-175.

Afzalpour, M. E., Chadorneshin, H. T., Foadoddini, M., & Eivari, H. A. (2015). Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiology & Behavior*, 147, 78-83. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.04.012

Alkhatib, A., Tsang, C., Tiss, A., Bahorun, T., Arefanian, H., Barake, R., Khadir, A., & Tuomilehto, J. (2017). Functional foods and lifestyle approaches for diabetes prevention and management. *Nutrients*, 9(12), 1310.

Aparicio, V., Coll-Risco, I., Camiletti-Moirón, D., Nebot, E., Martínez, R., López-Jurado, M., & Aranda, P. (2016). Interval aerobic training combined with strength-endurance exercise improves metabolic markers beyond caloric restriction in Zucker rats. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 26(8), 713-721.

Becic, T., Studenik, C., & Hoffmann, G. (2018). Exercise increases adiponectin and reduces leptin levels in prediabetic and diabetic individuals: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Medical sciences*, 6(4), 97.

Cavalcante, L. P., da Rosa Lima, T., de Almeida, P. C., Tolazzi, G. J., Ávila, E. T. P., Navalta, J. W., Junior, R. C. V., & Voltarelli, F. A. (2021). Intermittent fasting compromises the performance of eutrophic rats submitted to resistance training. *Nutrition*, 86, 111187.

Cho, N. H., Shaw, J., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J., Ohlrogge, A., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 138, 271-281.

Colberg, S.R., Sigal, R.J., Yardley, J. E., Riddell, M.C., Dunstan, D.W., Dempsey, P.C., Horton, E.S., Castorino, K., & Tate, D.F. (2016). Physical activity/exercise and diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes care*, 39(11), 2065.

Dinari Ghozhdi, H., Heidarianpour, A., Keshvari, M., & Tavassoli, H. (2021). Exercise training and de-training effects on serum leptin and TNF-α in high fat induced diabetic rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13(1), 57.

Dundar, A., Kocahan, S., & Sahin, L. (2021). Associations of apelin, leptin, irisin, ghrelin, insulin, glucose levels, and lipid parameters with physical activity during eight weeks of regular exercise training. *Archives of physiology and biochemistry*, 127(4), 291-295.

Fatouros, I., Tournis, S., Leontsini, D., Jamurtas, A., Sxina, M., Thomakos, P., Manousaki, M., Douroudos, I., Taxildaris, K., & Mitrakou, A. (2005). Leptin and adiponectin responses in overweight inactive elderly following resistance training and detraining are intensity related. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(11), 5970-5977.

Hopkins, M., Gibbons, C., Caudwell, P., Webb, D.-L., Hellström, P. M., Näslund, E., Blundell, J. E., & Finlayson, G. (2014). Fasting leptin is a metabolic determinant of food reward in overweight and obese individuals during chronic aerobic exercise training. *International journal of endocrinology*, 2014.

Hosseini, R., Bagherpoor, T., & Nemati, N. (2022). The Effect of Six Weeks Aerobic Training and Cinnamon Extract on Leptin Genes Expression in Liver Tissue of Obese Male Feeded by High Fat Diet. *Journal of Animal Biology*, 14(4), 91-105.

Katsiki, N., Mikhailidis, D.P., & Banach, M. (2018). Leptin, cardiovascular diseases and type 2 diabetes mellitus. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(7), 1176-1188.

Khakdan, S., Delfan, M., Heydarpour Meymeh, M., Kazerouni, F., Ghaedi, H., Shanaki, M., Kalaki-Jouybari, F., Gorgani-Firuzjaee, S., & Rahimipour, A. (2020). High-intensity interval training (HIIT) effectively enhances heart function via miR-195 dependent cardiomyopathy reduction in high-fat high-fructose diet-induced diabetic rats. *Archives of physiology and biochemistry*, 126(3), 250-257.

Kraemer, R., Acevedo, E., Synovitz, L., Hebert, E., Gimpel, T., & Castracane, V. (2001). Leptin and steroid hormone responses to exercise in adolescent female runners over a 7-week season. *European journal of applied physiology*, 86, 85-91.

Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G.A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. *International journal of molecular sciences*, 20(9), 2358.

Marroqui, L., Gonzalez, A., Neco, P., Caballero-Garrido, E., Vieira, E., Ripoll, C., Nadal, A., & Quesada, I. (2012). Role of leptin in the pancreatic β-cell: effects and signaling pathways. Journal of molecular endocrinology, 49(1), R9-R17.

Meek, T. H., & Morton, G. J. (2016). The role of leptin in diabetes: metabolic effects. *Diabetologia*, 59(5), 928-932.

Min, T., & Stephens, J. W. (2015). Targeting abdominal obesity in diabetes. Diabetes Management, 5(4), 301.

Molina, A., Vendrell, J., Gutiérrez, C., Simón, I., Masdevall, C., Soler, J., & Gómez, J. M. (2003). Insulin resistance, leptin and TNF-α system in morbidly obese women after gastric bypass. *Obesity Surgery*, 13(4), 615-621.

Peng, B.-y., Wang, Q., Luo, Y.-h., He, J.-f., Tan, T., & Zhu, H. (2018). A novel and quick PCR-based method to genotype mice with a leptin receptor mutation (db/db mice). *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(1), 117-123.

Shadegan, P. A., Khajehlandi, A., & Mohammadi, A. (2020). Effect of Aerobic Training and Crocin Consumption on Bax Gene Expression in the Hippocampal Tissue of Ovariectomized Rats. *Gene, Cell and Tissue*, 7(3).

Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 87(1), 4-14.

Shojaei, M. (2024). A Systematic Review of the Relationship Between Sex Hormones and Leptin and Insulin Resistance in Men. *Eurasian Journal of Chemical, Medicinal and Petroleum Research*, 3(2), 443-453.

Singh, R. G., Pendharkar, S. A., Gillies, N. A., Miranda-Soberanis, V., Plank, L. D., & Petrov, M. S. (2017). Associations between circulating levels of adipocytokines and abdominal adiposity in patients after acute pancreatitis. *Clinical and experimental medicine*, 17, 477-487.

Thorand, B., Zierer, A., Baumert, J., Meisinger, C., Herder, C., & König, W. (2010). Associations between leptin and the leptin/adiponectin ratio and incident Type 2 diabetes in middle-aged men and women: results from the MONICA/KORA Augsburg Study 1984–2002. *Diabetic medicine*, 27(9), 1004-1011.

Triantafyllou, G. A., Paschou, S. A., & Mantzoros, C. S. (2016). Leptin and hormones: energy homeostasis. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 45(3), 633-645.

Uysal, N., Agilkaya, S., Sisman, A. R., Camsari, U. M., Gencoglu, C., Dayi, A., Aksu, I., Baykara, B., Cingoz, S., & Kiray, M. (2017). Exercise increases leptin levels correlated with IGF-1 in hippocampus and prefrontal cortex of adolescent male and female rats. *Journal of chemical neuroanatomy*, 81, 27-33.

Vasilenko, M. A., Kirienkova, E. V., Skuratovskaia, D. A., Zatolokin, P. A., Mironyuk, N. I., & Litvinova, L. S. (2017, July). The role of production of adipsin and leptin in the development of insulin resistance in patients with abdominal obesity. In *Doklady Biochemistry and Biophysics* (Vol. 475, pp. 271-276). Pleiades Publishing.

Yazdani, F., Shahidi, F., & Karimi, P. (2020). The effect of 8 weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on cardiac angiogenesis factor in diabetic male rats. *Journal of physiology and biochemistry*, 76, 291-299.

Zhu, J. Z., Zhao, C., Sui, Y. L., Liu, Y. Y., & Qiao, Y. B. (2020). Effects of leptin on lipid metabolism and inflammatory factors in diabetic rats. Zhongguo Ying Yong Sheng li xue za zhi= Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi=. *Chinese Journal of Applied Physiology*, 36(3), 197-201.

Zulfania, A. K., Tahir Ghaffar, A. K., & SURO, M. (2020). Correlation between serum leptin level and Body mass index (BMI) in patients with type 2 diabetes Mellitus. JPMA, 10.