Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences

Original Article

The effect of Progressive Resistance Training and High Intensity Interval Training on TRAF6 gene expression of the heart muscle and serum TNF-α levels in male diabetic rats

Seyedeh Fatemeh Tonekaboni[1], Neda Khaledi[2]*, Hossein Askari[3]

[1]PhD Student in Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2]Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[3]Department of Plant Science and Biotechnology, Faculty of Biological Sciences and Natural Resources, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
*Corresponding author; E-mail: N.khaledi@khu.ac.ir

Received: 28 May 2019 Accepted: 23 Jul 2019 First Published online: 23 May 2021
Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(2):209-219

Abstract

Background: The most common causes of mortality in diabetic patients are cardiovascular disorders, one of the reasons being inflammatory factors. Given that physical activity can reduce inflammation, the present study was to investigate the effects of two types of Progressive Resistance Training (RT) and High Intensity Interval (HIIT) on the expression of TRAF6 gene and serum levels of TNF-α in male diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 72 male rats were divided into 6 groups of 12 diabetic rats (n=12), control (n=12), diabetic High Intensity Interval Training (n=12), High Intensity Interval Training(n=12), diabetic Progressive Resistance Training(n=12) and Progressive Resistance Training(n=12). Progressive Resistance Training was performed in a 6-weekly 3-session, climbing the vertical ladder, with 50%, 75%, 90% and 100% the body weight of the animals. After successful completion, 30 gr were added to the weights, to the extent that the rats cannot carry the ladder. High Intensity Interval Training were also performed at 6-weekly 3-session, with an intensity of 50 to 110% of the VO2max. 24 hours after the completion of the training, the functional test was taken and the animals were autopsy 48 hours after the test. Finally, the expression of TRAF6 gene was evaluated using Real Time PCR and serum TNF-α level by ELISA method.

Results: TRAF6 levels increased significantly after the two Training in the diabetic group, which was higher in the HIIT group and serum TNF-α levels decreased significantly after both types of training, which was more prominent in the HIIT group.

Conclusion: HIIT and RT can play an important role in reducing the inflammatory factor of TNF-α in diabetic patient that HIIT is more effective in this regard**.** Increasing the gene expression of the mediating agent TRAF6 can be induced in inflammatory pathways, which may require a reduction in exercise intensity or in anti-inflammatory routes indicating a positive effect of training on diabetes.

Key Words: High Intensity Interval Training, Progressive Resistance Training, Diabetes, TNF-α, TRAF6

How to cite this article: Tonekaboni S F, Khaledi N, Askari H. [The effect of Progressive Resistance Training and High Intensity Interval Training on TRAF6 gene expression of the heart muscle and serum TNF-α levels in male diabetic rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(2):209-219. Persian.

© 2021 The Author. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین مقاومتی فزاینده و تناوبی شدید بر بیان ژن TRAF6 عضله قلبی و مقادیر سرمی TNF-α در موش‌های دیابتی نر

سیده فاطمه تنکابنی[۱]، ندا خالدی[۲*]، حسین عسکری[۳]

[۱] دانشجوی دکترا فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۲] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۳] گروه علوم گیاهی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی و منابع طبیعی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[*] نویسنده مسؤول؛ ایمیل: N.khaledi@khu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۳/۷ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۱ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۳/۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛۴۳(۲):۲۰۹-۲۱۹

چکیده

زمینه: شایع‌ترین علل مرگ‌ومیر بیماران دیابتی، اختلالات قلبی عروقی است که یکی از دلایل آن عوامل التهابی می‌باشد. با توجه به اینکه فعالیت بدنی قادر به کاهش التهاب است، مطالعه حاضر تأثیر دو نوع تمرین مقاومتی فزاینده (RT) و تناوبی شدید (HIIT) را بر بیان ژن TRAF6 عضله قلبی و TNF-α سرمی موش‌های دیابتی نر بررسی کرده است.

روش کار: در این تحقیق تجربی، ۷۲ سر موش صحرایی نر به ۶ گروه ۱۲ تایی موش‌های دیابتی (n=۱۲)، کنترل (n=۱۲)، دیابتی تمرین تناوبی شدید (n=۱۲)، تمرین تناوبی شدید (n=۱۲)، دیابتی تمرین مقاومتی فزاینده (n=۱۲) و تمرین مقاومتی فزاینده (n=۱۲) تقسیم شدند. تمرین مقاومتی فزاینده در ۶ هفته ۳ جلسه‌ای بالا رفتن از نردبان عمودی، همراه با وزنه‌های ۵۰٪، ۷۵٪، ۹۰٪ و ۱۰۰٪ وزن بدن حیوان، انجام شد. سپس ۳۰ گرم به وزنه‌ها اضافه می‌شد، تا جایی که موش‌ها نتوانند نردبان را طی کنند. تمرین تناوبی شدید نیز در ۶ هفته‌ی ۳ جلسه‌ای، با شدت ۵۰ تا ۱۱۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی صورت گرفت. ۲۴ ساعت بعد از اتمام تمرین آزمون عملکردی گرفته‌شد و ۴۸ ساعت بعد از آزمون، حیوانات تشریح شدند. درنهایت، بیان ژن TRAF6 با استفاده از تکنیک Real Time PCR و مقدار سطوح TNF-α سرمی با روش ELISA مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان TRAF6 بعد از هر دو نوع تمرین در گروه دیابتی، افزایش معناداری داشت که این افزایش در گروه HIIT بیشتر بود و میزان سرمی TNF-α پس از هر دو نوع تمرین کاهش معناداری داشت و این کاهش در گروه HIIT بارزتر بود.

نتیجه‌گیری: HIIT و RT می‌توانند نقش مهمی در کاهش عامل التهابی TNF-α بیماران دیابتی داشته باشند که HIIT در این زمینه مؤثرتر است. افزایش بیان ژن عامل واسطه‌ای TRAF6 می‌تواند در مسیرهای التهابی ایجاد شده باشد، که احتمالاً نیاز به کاهش شدت تمرین دارد؛ یا در مسیرهای ضدالتهابی باشد که نشان‌دهنده‌ی اثر مثبت تمرین بر دیابت است.

کلیدواژه‌ها: تمرین تناوبی شدید، تمرین مقاومتی فزاینده، دیابت، TNF-α، TRAF6

نحوه استناد به این مقاله: تنکابنی س ف، خالدی ن، عسکری ح. تأثیر تمرین مقاومتی فزاینده و تناوبی شدید بر بیان ژن TRAF6 عضله قلبی و مقادیر سرمی TNF-α در موش‌های دیابتی نر. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛۴۳(۲):۲۰۹-۲۱۹

حق تالیف برای مولف محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد

مقدمه

فاکتور مرتبط با گیرنده‌ی TNF شماره۶ (TRAF6) پروتئینی است که به‌طور گسترده در قلب و مایوسیت‌ها بیان می‌شود و نقش مهمی در فرایندهای التهابی قلب و مسیر پیام‌رسانی عامل هسته‌ای تقویت‌کننده زنجیره سبک کاپا (NF-κB) دارد. TRAF6 ایزوفرمی ست که در مسیر پیام‌رسانی گیرنده شبه تول۴ (TLR) و NF-κB شرکت داشته و به این وسیله، نقش مهمی در طیفی از بیماری‌های قلبی عروقی ایفا می‌کند. ظاهراً بیشترین موقعیتی که TRAF6 در هموستاز قلب نقش دارد، آسیب‌های قلبی است (۱). همچنین، مشاهده‌شده که سطح mRNA TRAF6 به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در بیماران T2DM افزایش داشته است (۲). بیماران دیابتی اغلب براثر بیماری‌های قلبی از بین می‌روند. این فرایند که کاردیومایوپاتی دیابتی نامیده می‌شود، با تغییراتی در فیزیولوژی، ساختار و عملکرد مکانیکی قلب همراه است (۳). این حالت که مستقل از فشارخون و بیماری‌های عروق کرونری است، علائمی مثل استرس اکسایشی، فیبروز، آپوپتوز، نقص در اتوفاگی، تغییر در تنظیم کلسیم و التهاب دارد (۴). دیابت که از کافی نبودن انسولین یا ناکارآمدی آن ایجاد می‌شود (۵)، به دلیل افزایش گلوکز خون، استرس اکسایشی ایجاد می‌کند و با تغییرات رونویسی، منجر به تولید انبوه فاکتورهای رشد چندگانه و سایتوکاین‌ها می‌گردد (۶). به‌عنوان اولین پاسخ به آسیب میوکارد قلب، سیگنال‌های التهابی فعال می‌شوند. گام‌های بعدی شامل افزایش فعال‌سازی NF-κB و بیان سایتوکاین‌های مربوط به آن (یعنی فاکتور نکروز تومورα (TNF-α) و اینترلوکین‌ها و چموکاین‌ها) و مولکول‌های چسبنده می‌باشد (۷). NF-κB یک عامل رونویسی کلیدی است که بیان سایتوکاین‌های ضدالتهابی و التهابی، و ژن‌های پروبیوتیک را تنظیم می‌کند و در بقای سلول نقش دارد. NF-κB در همه‌ی سلول‌ها بیان می‌شود و تعداد زیادی ژن را تنظیم می‌کند که نه‌تنها به پاسخ ایمنی، بلکه به بقای سلول، تمایز و تکثیر سلولی نیز مربوط می‌شود. پیشرفت مزمن هیپرتروفی، فیبروز و اختلال عملکرد بطنی با افزایش موضعی در سایتوکاین‌ها و فعال شدن NF-κB ادامه می‌یابد (۸). TNF-α که یک مولکول کلیدی در مقاومت انسولین است، در پاتوژنز آترواسکلروز و حمله قلبی نقش دارد. افزایش سطوح TNF-α می‌تواند پیش‌بینی کننده‌ی اختلال عملکرد اندوتلیال و آترواسکلروز متعاقب آن باشد (۹). در ورزش، IL-6 از عضله‌ی منقبض‌شده به گردش خون ریخته می‌شود و اثرات ضدالتهابی خود را با مهار کردن TNF-α اعمال کرده و حساسیت انسولین را افزایش دهد (۹). همچنین ورزش، بیان TLRs را کاهش می‌دهد (۱۰). TLR4 فازهایی از فعال‌سازی NF-κB را به‌واسطه‌ی TRAF6 انجام می‌دهد (۱۱). شدت و ماهیت فعالیت ورزشی (تناوبی، استقامتی یا مقاومتی)، یکی از عوامل مؤثر در بهبود مقاومت به انسولین و میزان پایداری این تأثیرات است که باید در تجویز برنامه ورزشی مدنظر قرار گیرد (۱۲). به‌طور سنتی، توجه بر تمرین استقامتی متمرکزشده است، اما تمرین مقاومتی نیز بر چاقی و دیابت اثرگذار است (۱۳). تمرین مقاومتی که شامل دوره‌های کوتاه مدت فعالیت انقباضی (تکرار کم) در برابر مقاومت بالا است، می‌تواند جذب گلوکز مستقل از انسولین را افزایش دهد (۱۳, ۱۴). همچنین استفاده از تمرین تناوبی شدید که شامل تناوب‌های ورزشی شدید با وهله‌های استراحتی فعال با شدت پایین می‌باشد (۱۵) می‌تواند در دیابت، جرم بافت چربی را کاهش داده و عملکرد قلبی عروقی را بهبود بخشد. به‌نحوی‌که حتی قابل‌مقایسه با برنامه‌های طولانی‌مدت است. ضمن اینکه آموزش و انجام آن، به خاطر برنامه‌های کوتاه‌تر، برای سبک زندگی پرمشغله مناسب‌تر می‌باشد. درعین‌حال، هر دو تمرین مقاومتی و استقامتی، حساسیت به انسولین کل بدن و تحمل گلوکز را افزایش می‌دهند و از شروع T2D جلوگیری، یا آن را به تأخیر می‌اندازند (۱۳). اما برتری یکی بر دیگری، مشخص نیست و به بررسی‌های دقیق بیشتری نیاز دارد.

علی‌رغم همه‌ی این پیشرفت‌ها و شناخت‌ها در سطح مولکولی هنوز فهم کاملی از کاردیومایوپاتی دیابتی به دست نیامده است و درعین‌حال مطالعات اندکی در رابطه‌ی این تمرینات با بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و خصوصاً عوامل التهابی TRAF6 وجود دارد. ضمن آنکه با توجه به اهمیت TRAF6 در بیماری‌های قلبی عروقی، و TNF-α به‌عنوان یک شاخص التهابی، و اهمیت کاردیومایوپاتی دیابتی در افزایش عوامل آپوپتوتیک و حفاظتی، و نیز اثرات بسیار مثبت انواع تمرین ورزشی در کاهش این عوامل مخرب و بهبود دیابت، به نظر می‌رسد بررسی نقش دو مدل تمرینی مقاومتی فزاینده و تناوبی شدید در این بیماری، قابل‌توجه باشد. بنابراین، در این پژوهش به بررسی اثر دو مدل تمرینی بر TRAF6 در قلب و مقادیر TNF-α در خون موش‌های نر دیابتی خواهیم پرداخت.

روش کار

تحقیق حاضر تجربی توسعه‌ای، از نوع آزمایشگاهی و با طرح پیش آزمون–پس آزمون می‌باشد. تعداد ۷۲ سر موش صحرایی ۶ هفته‌ای با وزن ۱۰±۱۵۰ گرم از موسسه واکسن و سرم سازی رازی، به صورت تصادفی انتخاب و خریداری شدند. همه‌ی موش‌ها در شرایط کنترل‌شده‌ی محیطی با درجه هوای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۳±۵۸ درصد و سیکل شبانه‌روزی ۱۲:۱۲ (ساعت روشنایی و تاریکی) نگه‌داری شدند. موش‌ها بعد از دو هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه، به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۱۲ تایی: دیابتی (n=۱۲)، کنترل (n=۱۲)، دیابتی تمرین تناوبی شدید (n=۱۲)، دیابتی تمرین مقاومتی فزاینده (n=۱۲)،

تمرین تناوبی شدید (n=۱۲) و تمرین مقاومتی فزاینده (n=۱۲) تقسیم‌شده و به‌صورت چهارتایی در قفس‌های تیپ ۳ مخصوص جوندگان نگهداری شدند. برای رعایت نظافت قفس حیوانات از پوشال استریل که از موسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه‌شده بود، استفاده گردید. علت انتخاب تعداد ۱۲ موش برای هرگروه، احتمال از دست رفتن تعدادی از نمونه ها بر اثر دیابت و عوامل دیگر بود. با انتخاب این تعداد، حتی بعد از حذف شدن تعدادی از موش‌ها، حدنصاب مورد نیاز برای معنادار شدن آزمایش باقی می ماند. موش‌های گروه دیابتی جهت اعمال چاقی ۴ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب شامل ۲۲ درصد چربی، ۴۸ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین قرار گرفتند تا چاق شوند (۱۶). جهت دیابتی کردن نیز از تک‌دوز استرپتوزوتوسین به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و تزریق داخل صفاقی استفاده شد (۱۷). ۴۸ ساعت بعد از تزریق، جهت اطمینان از ایجاد دیابت در موش‌ها، قطره‌های خون از ورید دمی اخذ و میزان قند خون توسط دستگاه گلوکومتر تعیین شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۸). در پژوهش حاضر به‌صورت دو هفته یک‌بار برای اطمینان، مقدار قند خون کنترل می‌شد. برای کار با موش از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا استفاده شد و در تمامی مراحل کار، پژوهشگر همواره این موارد را مدنظر داشت. ضمناً این طرح در کمیته اخلاق پژوهشکده تربیت‌بدنی به شماره ۳۰۵ .۱۳۹۷ IR. SSRI. REC. ثبت گردیده است.

تمرین تناوبی شدید

برنامه تمرینی تناوبی شدید (جدول ۱–الف) با استفاده از نوار گردان اجرا شد. جهت آشنا سازی با روش تمرینی، موش‌ها با شدت ۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (روز اول ۳۰، روز دوم ۴۰ و روز سوم ۵۰ درصد) و تعداد ۶ تا ۸ تکرار یک دقیقه‌ای (روز اول ۶، روز دوم ۷ و روز سوم ۸ تکرار) به همراه دو دقیقه استراحت غیرفعال، برای ۳ روز تمرین کردند و بلافاصله پس از آن وارد برنامه‌ی تمرینی شدند. میزان برآورد دقیق حداکثر اکسیژن مصرفی با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده اخیر Høydal و همکاران (۲۰۰۷)، پروتکل غیرمستقیم ولی با دقت زیاد مورداستفاده قرار گرفت (۱۹). برای گرم کردن، قبل از شروع تمرین در هرروز موش‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان می‌دویدند. برنامه تمرین تناوبی شدید، در ۶ هفته ۳ جلسه‌ای، با ۱۰ تناوب ۱ دقیقه‌ای و ۲ دقیقه استراحت صورت گرفت. سرعت نوار گردان در طول دوره از ۱۸ به ۳۱ و شیب نوار گردان به‌صورت فزاینده از ۲ تا ۱۰ افزایش می‌یافت (۲۰).

آزمون عملکردی زمان رسیدن به واماندگی

این آزمون عملکردی، شامل دویدن بر روی نوارگردان با شیب صفر درجه و سرعت اولیه ۱۰ متر بر دقیقه بود که به ازای هر ۲ دقیقه دویدن ۲ متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده می‌شد تا جایی که موش‌ها به واماندگی رسیده و قادر به ادامه آزمون نبودند (۲۰).

تمرین مقاومتی فزاینده

در برنامه تمرین مقاومتی فزاینده (جدول ۱–ب)، موش‌ها برای آشناسازی با نردبان، ۳ جلسه بدون وزنه و با کیسه خالی ۸ گرمی تمرین داده شدند. برنامه تمرینی شامل ۶ هفته‌ی ۳ جلسه‌ای بود. هر جلسه وزنه‌هایی ترتیب ۵۰٪ ,۷۵٪ , ۹۰٪ و ۱۰۰٪ وزن بدن حیوان، به دم آن‌ها بسته‌شده و تمرین شامل بالا رفتن از نردبان عمودی به طول ۱۱۰ سانتی‌متر با فاصله‌ی پله‌های ۲ سانتی‌متر و زاویه‌ی ۸۵ درجه بود. پس از اتمام موفقیت‌آمیز، ۳۰ گرم به وزنه‌ها اضافه می‌شد تا جایی که موش‌ها نتوانند به‌طور کامل نردبان را طی کنند (۲۱).

آزمون عملکردی قدرت مچ دست موش

آزمون قدرت‌سنج مچ دست به‌عنوان آزمون عملکردی در موش‌ها برای تعیین میزان کسب قدرت مچ دست یا قدرت چنگ زدن ساعد استفاده شد. میانگین سه مرتبه تکرار استفاده گردید. از ابتدای دم موش‌ها برای بلند کردن آن‌ها استفاده و به آن‌ها اجازه داده شد تا با قسمت جلویی دست خود به ذوزنقه چنگ بزنند. در طول آزمون موش‌ها از سمت قدرت سنج به عقب کشیده می‌شدند و حرکت آن‌ها درحالی‌که بدن آن‌ها به‌طور موازی با زمین قرار دارد ثابت می‌شد. میانگین‌های قدرت دست برای هر موش از ۱۰ بار امتحان مشتق شد (۲۲).

جدول۱– الف : برنامه تمرین تناوبی شدید

هفته	سرعت(m/min)	مدت(دقیقه)	استراحت(دقیقه)	ست	جلسه(در هفته)	شیب	شدت(vo2max)
۱	۲۰ – ۱۸	۱	۲	۱۰	۳	۲	٪۵۰–۶۰
۲	۲۴ – ۲۲	۱	۲	۱۰	۳	۴	٪۶۵–۷۵
۳	۲۶ – ۲۴	۱	۲	۱۰	۳	۶	٪۷۵–۸۵
۴	۲۷ – ۲۶	۱	۲	۱۰	۳	۸	٪۸۵–۹۰
۵	۲۹ – ۲۷	۱	۲	۱۰	۳	۱۰	٪۹۰–۱۰۰
۶	۳۱ – ۲۹	۱	۲	۱۰	۳	۱۰	٪۱۰۰–۱۱۰

جدول۱- ب: برنامه تمرین مقاومتی فزاینده

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
آشناسازی با نردبان مقاومتی و محیط آزمایشگاه آزمون عملکردی Pre-Test آغاز پروتکل و آزمون RM1	➢ چهار صعود به ازای ۵۰-۷۵-۹۰-۱۰۰ ٪ به‌عنوان ظرفیت حمل بیشینه (در هر جلسه تمرین) ➢ اضافه نمودن ۳۰ گرم در صورت صعود موفقیت‌آمیز (٪ ۱۰۰+۱۸۰/۱۵۰/۱۲۰/۶۰/۳۰ گرم) ➢ بیشترین بار حمل شده در هر جلسه ملاک حمل بیشینه در آن جلسه تمرینی خواهد بود.					
آزمون عملکردی آزمون تحمل قند خون و تغییرات انسولین نمونه‌گیری						

نردبان با شیب ۸۵ درجه به طول ۱۱۰ سانتی‌متر ۴ تا ۹ صعود، ۱ دقیقه استراحت بالای نردبان و سه جلسه در هفته پروتکل تمرین مقاومتی فزاینده طراحی گردیده است.

نمونه‌گیری

متغیرهای وابسته‌ی پژوهش TRAF6 و TNF-α هستند. در پایان هفته‌ی ششم، خون‌گیری انجام شد و بیهوشی توسط تزریق ۱/۰ میلی‌گرم از مخلوط کتامین – زایلوزین به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدنشان (۱۰ میلی‌گرم کتامین + ۱/۵ میلی‌گرم زایلوزین) انجام گردید. سپس فوراً خون با یک سرنگ از داخل قلب گرفته و قلب بیرون آورده شد تا موش‌ها معدوم گردند. بطن راست و چپ، بعد از جداسازی، در ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن‌کشی و بلافاصله به درون مایع ازت وارد و سپس در فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس میزان TRAF6 بافت عضلانی قلب در آزمایشگاه دانشگاه شهید بهشتی مورد بررسی قرار گرفت و سرم خون برای بررسی TNF-α به آزمایشگاه پاتولوژی منتقل شد.

سنجش متغیرها

اندازه‌گیری TNF-α سرم

مقدار سطوح TNF-α سرمی با استفاده از روش ELISA و کیت تخصصی (ZellBio, GmbH, and Veltlinerweg, Germany) با حساسیت ۱۵ pg/ml و محدوده استاندارد ۶/۱٪ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری ژن TRAF6

اسید ریبونوکلئیک کل (RNA) با استفاده از کیت ترایزول (Trizol) استخراج گردید. نمونه‌های ذخیره‌شده در فریزر در هاون سرد ریخته شد و به کمک نیتروژن مایع کوبیده شد تا به حالت پودری درآیند. در مرحله بعدی به ویال‌های حاوی پودر نمونه‌های مورد بررسی، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول کیت ترایزول اضافه شد. سپس ویال‌ها ۳۰ ثانیه با استفاده از دستگاه ورتکس و ۳۰ ثانیه با دستگاه هموژنایزر با ۲۵۰۰ دور در دقیقه یکنواخت شدند. نمونه‌های استخراج شده جهت استفاده بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه قرار داده شدند. بمنظور بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراج‌شده، از دو روش UV اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد. قبل از ساخت cDNA، جهت حذف آلودگی احتمالی RNA با DNA ژنومی، RNA استخراج شده توسط آنزیم DNase1 تیمار گردید. برای تأیید عدم خردشدگی RNA پس از تیمار با DNase1، مقدار ۴۰۰ نانوگرم از RNA های تیمار داده‌شده با آنزیم، بر روی ژل آگارز ۲ درصد جداسازی، و جهت کمیت سنجی، با روش UV اسپکتروفتومتری طیف‌سنجی شدند. برای ساخت cDNA، نمونه‌ها بر اساس کم غلظت‌ترین اسید ریبونوکلئیک‌ها، رقیق‌سازی شدند، طوری که مقدار نهایی اسید ریبونوکلئیک در واکنش تقریباً ۵۵۰ نانوگرم بود. ساخت cDNA تک‌رشته‌ای با استفاده از کیت First Standard cDNA Synthesis و با مخلوط نمودن RNA (۸۸۰ نانوگرم) با ۱ میکرولیتر آغازگر Oligo Dt (مخلوط A) و حرارت دادن در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، افزودن ۴ میکرولیتر بافر واکنش (حاوی ۱۰ میلی مول مخلوط dNTP) و ۱ میکرولیتر DTT (۸ میلی مولار) انجام شد. مرحله‌ی بعد افزودن ۱ میکرولیتر آنزیم Diastar Rtase به مخلوط A و نهایتاً تنظیم حجم آب عاری از RTase تا حصول ۲۰ میکرولیتر حجم نهایی بود. مخلوط به‌دست‌آمده در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد و سپس مدت ۵ دقیقه به دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد جهت غیرفعال کردن آنزیم منتقل گردید. بعد از پایان واکنش، نمونه‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شدند. آغازگرهای انتخابی برای ژن‌های آغازگر رفت و برگشتی، به کمک نرم‌افزار Primer3 و بر اساس توالی کد کننده ژن‌ها (CDS) طراحی گردیدند. بر اساس طول آغازگر، شاخص‌های طراحی آن، تعداد ۲۰ تا ۲۵ نوکلئوتید، نقطه ذوب ۵۸ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد، درصد GC ۴۰ تا ۶۰ و طول قطعه قابل تکثیر بین ۶۰ تا ۱۵۰ نوکلئوتید در نظر گرفته شد. توالی آغازگرهای طراحی‌شده، جهت ساخت به شرکت سینا کلون ارجاع داده شدند. کمیت سنجی بیان ژن در آزمون QRT-PCR به‌صورت Relative انجام گرفت. پس از اندازه‌گیری میزان Ct برای ژن‌های مورد مطالعه، کارایی PCR با استفاده از نرم‌افزار LinRegPCR (Ruijter et al.۲۰۰۹) تعیین شد.

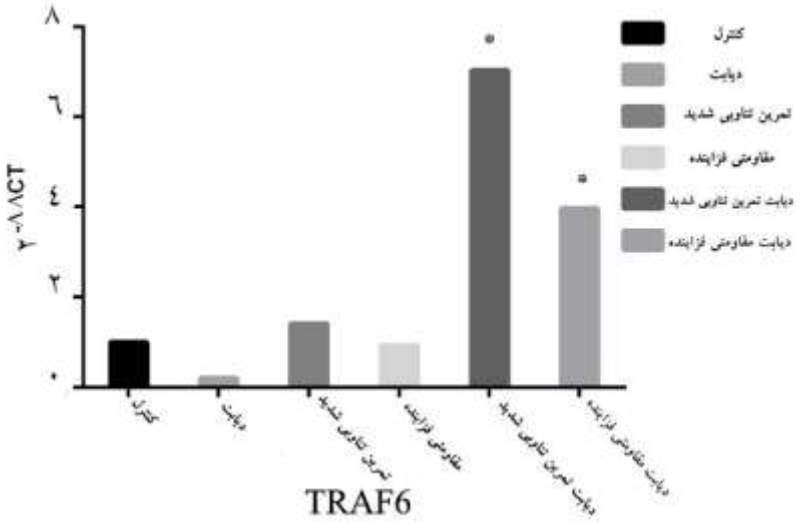
روش آماری

از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و تنظیم جدول‌ها، و برای تنظیم نمودارها و انجام محاسبات از برنامه‌های Excel۲۰۱۳ و MSTATC۱۹ و SPSS۲۱ و Graph pad prism۶ استفاده گردید. پس از به دست آمدن نسبت بیان ژن‌های مورد مطالعه، جهت بررسی صحت فرض‌های تجزیه و واریانس، آزمون نرمال بودن توزیع خطاهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار MSTATC، آزمون بارتلت انجام شد. از روش ΔΔCT- ۲ برای

محاسبه میزان افزایش یا کاهش بیان ژن هدف در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل استفاده گردید. از آزمون فیشر (Fisher-test) و M-ANOVA با سطح معنی‌داری p≤۰/۰۱ برای تعیین معنی‌داری فرض صفر استفاده شد. همچنین، از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید.

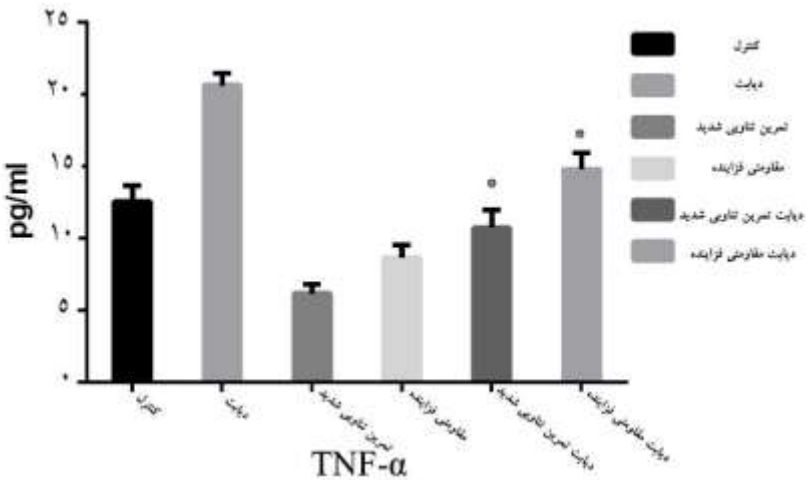
یافته‌ها

مشاهدات این پژوهش نشان می‌دهد بیان TRAF6 پس از هر دو نوع تمرین (نمودار ۱–الف)، خصوصاً تمرین تناوبی شدید، افزایش می‌یابد. این افزایش در گروه دیابتی بسیار بیشتر از گروه سالم است. در مورد مقادیر سرمی TNF-α (نمودار ۱–ب) گروه دیابتی بیشترین مقدار و گروه کنترل نیز میزان نسبتاً بالایی از آن را دارا بود. اما در تمام گروه‌های تمرینی این میزان به‌طور معناداری کاهش یافت. این کاهش در گروه غیر دیابتی محسوس‌تر از گروه دیابتی بود. قدرت مچ دست با تمرینات مقاومتی فزاینده (نمودار ۲)، در هر دو گروه دیابتی و غیر دیابتی افزایش معناداری پیداکرده است. زمان رسیدن به درماندگی (نمودار ۳) نیز با تمرین تناوبی شدید، در گروه غیر دیابتی افزایش معناداری پیدا کرد ولی در گروه دیابتی تفاوت خاصی مشاهده نشد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، قند خون قبل و بعد از ناشتایی در چهار گروه پژوهش، بین دو گروه دیابت و دیابت تناوبی شدید، دارای تفاوت معنی‌دار نبوده است (۰/۲۶۴).



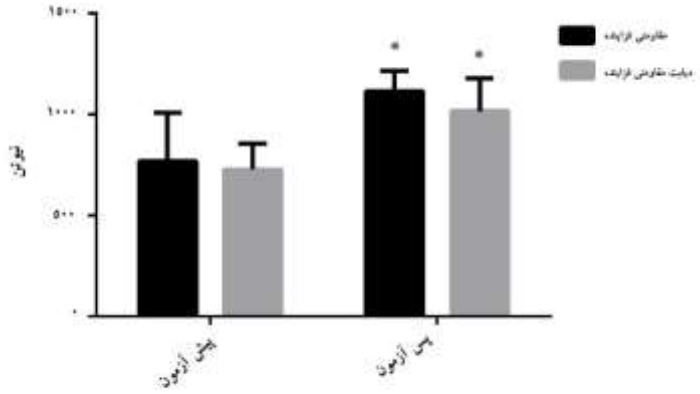
نمودار ۱–الف. نتایج حاصل از ΔΔCT- ۲ بیان ژن TRAF6 در گروه‌های پژوهش

*: سطح معنی‌داری بین گروه دیابت و دیابت تمرین تناوبی شدید (۰،۰۰۰۹۹۰) و گروه دیابت و دیابت مقاومتی فزاینده (۰،۰۰۱۱۹۰)مشاهده شد (p<۰.۰۱).

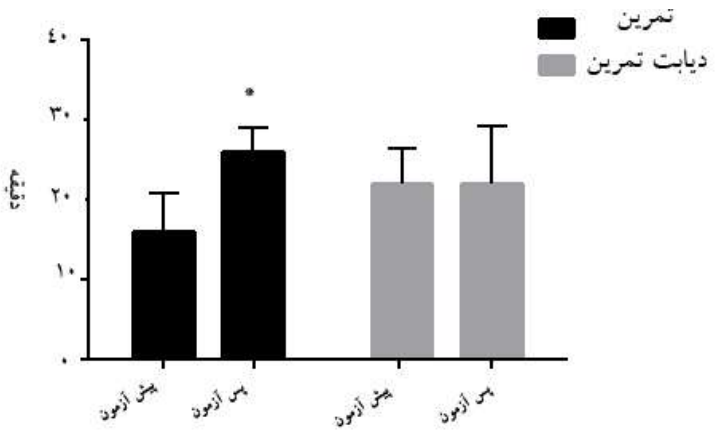


نمودار ۱–ب . نتایج TNF-α در گروه‌های پژوهش

*: سطح معنی‌داری بین دو گروه دیابت و دیابت تناوبی شدید (۰/۰۰۰) و دیابت و دیابت مقاومتی فزاینده (۰/۰۰۲) مشاهده می‌شود (p<۰.۰۵).



نمودار۲. نتایج آزمون عملکردی قدرت مچ دست در گروه‌های تمرین مقاومتی
*: سطح معنی‌داری بین پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه دیابت مقاومتی فزاینده (۰/۰۰۰) و مقاومتی فزاینده (۰/۰۰۱) مشاهده می‌شود (p<۰.۰۱).



نمودار۳. نتایج آزمون عملکردی زمان رسیدن به درماندگی در گروه‌های تمرینی تناوبی
*: بین دو گروه تناوبی شدید و دیابت تناوبی شدید (۰/۰۱۴) تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود.(p<۰.۰۵)

بحث

در مطالعه حاضر، قدرت مچ دست (نمودار ۲) با تمرینات مقاومتی فزاینده، در هر دو گروه دیابتی و غیر دیابتی افزایش معناداری پیداکرده است. این نتیجه با پیشینه‌های متعدد درباره اثرات ورزش بر افزایش قدرت، همخوانی دارد(۲۲). زمان رسیدن به درماندگی (نمودار ۳) نیز با تمرین تناوبی شدید، در گروه غیر دیابتی افزایش معناداری پیدا کرد ولی در گروه دیابتی تفاوت خاصی مشاهده نشد. در این مورد نیز تحقیقات زیادی، افزایش زمان رسیدن به درماندگی بعد از تمرینات تأیید می‌کنند (۲۰)، اما در مورد گروه دیابتی که بدون تغییر باقی‌مانده است، احتمال می‌رود التهاب و آسیب دیابت، بیش از آن بوده که این دوره ورزشی بتواند بر آن تأثیر محسوسی بگذارد.

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد تمرینات تناوبی و مقاومتی اثرات ضدالتهابی داشته و موجب سرکوب التهاب سیستمی ایجادشده توسط دیابت می‌گردد که کاهش TNF-α یکی از شاخص‌های آن می‌باشد. نوع و شدت بیماری و نیز ویژگی‌های برنامهٔ تمرینی ازجمله شدت و مدت فعالیت، نوع برنامه و طول دورهٔ تمرینی می‌توانند در تغییرات TNF-α مؤثر باشند. در پژوهش حاضر هر دو نوع تمرین HIIT و RT، میزان این عامل التهابی را به‌طور معناداری کاهش داده است (نمودار ۱-۲). این تأثیر در گروه تناوبی شدید مشهودتر است. در واقع، تمرین تناوبی شدید توانسته اثرات ضدالتهابی بیشتر از تمرین مقاومتی را با کاهش TNF-α اعمال کند. درعین‌حال کاهش این عامل در گروه‌های تمرین دیابتی، کمتر از گروه‌های سالم بوده است. این مسئله به دلیل

فشارهای متابولیک زیاد مثل افزایش قند خون و شاخص‌های التهابی و هموستاز یونی در دیابت، طبیعی به نظر می‌رسد. نتایج مطالعات در مورد کاهش TNF-α با ورزش اغلب مشابه است. Cavalcante و همکاران (۲۰۱۷) در یک مقاله‌ی مروری، با بررسی ۳۹ مقاله دریافت که با تمرین حاد مقاومتی، به‌طورکلی سایتوکاین-های پیش‌التهابی کاهش‌یافته است (۱۰). در مطالعه‌ی Fico و همکاران (۲۰۱۸) با اجرای تمرین HIIT بر روی مردان سالم، عوامل التهابی آنان در مقایسه با تمرینی با شدت متوسط کاهش یافت (۲۳). Fernandez-Gonzalo و همکاران (۲۰۱۲و۲۰۱۴) در بررسی تمرین مقاومتی روی ۲۰ زن و ۲۰ مرد فعال و سالم، شاهد کاهش TNF-α بود (۱۱, ۲۴). Lira و همکاران (۲۰۱۷) نیز با بررسی HIIT بر ۳۰ مرد سالم دریافتند که TNF-α بلافاصله پس از تمرین افزایش و یک ساعت بعد کاهش می‌یابد (۲۵). کاظمی و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی ۳۲ کودک چاق با تمرین شدید به مدت ۸ هفته شاهد کاهش میزان TNF-α بود (۲۶). زمانپور و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای ۱۲ هفته‌ای، روی ۵۲ زن دارای دیابت نوع ۲ متوجه شدند که تمرین سرعتی باعث کاهشی غیر معنادار در عوامل التهابی و TNF-α گردید (۲۲).

همچنین، بیان ژن عامل واسطه‌ای TRAF6 در گروه‌های تمرین دیابتی افزایش معناداری یافته و این افزایش در گروه تمرین تناوبی بیشتر از مقاومتی است (نمودار ۱-۱). میزان افزایش این ژن در گروه‌های تمرین دیابتی، بیشتر از گروه غیر دیابتی است. Eftekhar و همکاران (۲۰۱۶) بعد از دو ماه دیابتی نگه‌داشتن موش‌ها، تنظیم مثبت واضحی در mRNA TRAF6 و افزایش غلظت TRAF6 قلب را مشاهده کردند (۵) که در مداخله‌ی دیابت، همسو با پژوهش حاضر است. Rosa و همکاران (۲۰۱۱) بعد از یک جلسه تمرین شدید تا واماندگی، شاهد افزایش TRAF6 در موش‌های دیابتی بودند (۲۷) که این تحقیق نیز با مشاهدات پژوهش حاضر همسوست و نشان می‌دهد که تمرین شدید به همراه دیابت می‌تواند میزان عوامل TRAF6 **و** TLR4 را بالا ببرد. در این پژوهش، TRAF6 در گروه‌های تمرین دیابتی افزایش بیشتری داشته که ممکن است به علت آسیب‌های متابولیکی زیاد در اثر افزایش قند خون، تغییر هموستاز یونی و عوامل التهابی باشد که به خاطر شدت بالای تمرینات، شوک تمرین، تحریک بیان ژن TRAF6 در دیابت را تشدید کرده است. ممکن است برای سازگاری و کاهش این مقادیر، به تمرینات سبک‌تر یا دوره تمرینی طولانی‌تر نیاز بوده است. درعین‌حال، در این پژوهش بدون در نظر گرفتن دیابت، تمرین‌های شدید و فزاینده باعث افزایش در بیان ژن TRAF6 شده‌اند که از منظر نقش واسطه‌ای آن در مسیرهای التهابی و نیز شدت بالای تمرینات تناوبی و مقاومتی، قابل توجیه می‌باشد. از طرفی با توجه به افزایش کمتر TRAF6 در گروه مقاومتی (دیابتی و غیر دیابتی) می‌توان گفت که تمرین مقاومتی، التهاب کمتری از تمرین تناوبی ایجاد می‌کند و از سویی دیگر، اثرات مثبت آن در پایین آوردن قند خون و اختلالات هموستازی ناشی از آن بیشتر است.

اما در مطالعه‌ی Fernandez-Gonzalo و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی ۶ هفته تمرین مقاومتی روی ۲۰ زن فعال و سالم، کاهش TRAF6 و افزایش TLR4 mRNA را مشاهده شد (۲۴) که با پژوهش حاضر ناهم‌سو است و این تفاوت می‌تواند به دلیل سالم بودن افراد مورد پژوهش یا شدت تمرین باشد. بر اساس پژوهش‌هایی که مدعی کاهش عوامل التهابی براثر تمرین هستند، شاید انتظار می‌رفت بیان ژن TRAF6 کاهش یابد. اما نکته‌ی قابل‌توجه، واسطه بودن این عامل در آبشارهای سلولی مختلفی است که اغلب منجر به تحریک عامل فعال‌کننده‌ی هسته‌ای NF-κB **یا** AP-1 می‌شود. NF-κB **عاملی است که** هم اثرات ضدالتهابی و هم عوارض التهابی دارد (۸). بنابراین افزایش TRAF6، نمی‌تواند اثبات‌کننده‌ی ایجاد التهاب توسط تمرین باشد، بلکه ممکن است فعال شدن آن در مسیرهای آنتی آپوپتوزی و ضدالتهابی صورت گرفته و تأییدکننده اثرات مثبت تمرینی باشد. درعین‌حال، مسیرهای دیگری که TRAF6 در آن‌ها فعال است، می‌توانند نقش مهمی در افزایش کلی آن داشته باشند که نیاز به بررسی بیشتر آن مسیرها، با در نظر گرفتن عوامل ابتدا و انتهایی هرکدام می‌باشد. برخی عوامل آغازین این مسیرها IL-1, IL-1R/TLR, IL-1β/LPS, CD40, TLR2, TCR/BCR, TBR1/2, TGFβ1/2, CD14/TLR4 هستند (۲۸, ۲۹).

بررسی‌ها نشان داده است، مسدود کردن مسیر CD40-TRAF6 می‌تواند برای محافظت در برابر اضافه‌وزن، التهاب بافت چربی و مشکلات متابولیک مثل مقاومت انسولین به کار رود (۲۸). فعال‌سازی CD14-TLR4 می‌تواند از دو راه مختلف باعث التهاب شود: مسیر غیر وابسته به عامل مهارکننده میلوئید۸۸ (MyD88) یا وابسته به آن. در مسیر وابسته به MyD88، که TRAF6 یکی از واسطه‌های آن می‌باشد، آداپتور MyD88 یک مجموعه مولکولی با رویدادهای آبشاری را تشکیل می‌دهد که توسط TLR آغاز می‌شود (۲۴, ۲۹). پس از اتصال لیگاند، TLR دیمریزه می‌شود. دو عضو IRAK4 و IRAK به ترتیب فسفوریله می‌شوند و این کار آن‌ها را از مجموعه گیرنده جدا می‌کند و موجب افزایش ارتباط آن‌ها با عامل گیرنده ۶ TNF (TRAF6) می‌گردد. سپس TRAF6 پروتئین فعال‌شده با میتوژن (MAPK) را فعال می‌کند. این کیناز می‌تواند فاکتور رونویسی AP-1 را فعال کند. فاکتور رونویسی NF-κB، زمانی که با مهارکننده‌های κB (IκB) همراه است، غیرفعال می‌باشد. پروتئین IκB به دایمرهای مختلف NF-κB متصل می‌شود. این کار به NF-κB اجازه می‌دهد تا به هسته منتقل‌شده و بیان ژن‌های هدفش را تحریک کند (۳۰،۲۹). NF-κB یکی از عوامل رونویسی کلیدی است که بیان سایتوکاین‌های

ضدالتهابی و التهابی، ژن‌های پروبیوتیک و بقای سلولی را تنظیم می‌کند. فعال شدن NF-κB می‌تواند باعث اختلال در عملکرد میتوکندری و قلب، در قلب دیابتی شود (۸). این اولین مطالعه‌ای است که بیان ژن TRAF6 را در قلب موش‌های دیابتی، پس از این دو نوع تمرین می‌سنجد و پژوهش حاضر نوین می‌باشد. در پژوهش حاضر مداخله‌ی دیابت، HIIT و RT در گروه‌های کنترلی قرار گرفت تا تأثیر متغیرها با دقت بالا بررسی شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد هر دو نوع تمرین، به خصوص HIIT می‌توانند نقش مهمی در کاهش عامل التهابی TNF-α، در شرایط استرس متابولیک، اکسیداتیو و التهابی دیابت، خصوصاً در قلب دیابتی داشته باشند. تمرین از طریق فعال کردن مسیر و سازوکارهای سلولی و مولکولی ضدالتهابی موجب کاهش چشمگیر اثرات منفی ناشی از دیابت بر بدن و سیستم قلبی عروقی می‌شود.

هر دو تمرین باعث افزایش TRAF6 شد که این افزایش در گروه تمرینی دیابت و خصوصاً در گروه تناوبی شدید بیشتر بود. ممکن است به خاطر شوک تمرین، افزایش بالقوه این ژن در دیابت تشدید شده است و برای سازگاری و کاهش، به تمرینات سبک‌تر یا دوره تمرینی طولانی‌تر نیاز بوده است. درعین‌حال احتمال فعال شدن TRAF6 از مسیرهای دیگر نیز هست که با توجه به عامل NF-κB که در انتهای مسیر، هم بر ژن‌های التهابی و هم ضدالتهابی اثر دارد، می‌توان گفت که افزایش این واسطه‌ی سلولی در اثر تمرین، از آثار مثبت تمرین است و صرفاً نشان‌دهنده‌ی افزایش التهاب نمی‌باشد. بنابراین، تحقیقات بیشتری همراه با بررسی هم‌زمان عوامل ابتدا و انتهایی مسیر پیام‌رسانی NF-κB و نیز بررسی مسیرهای دیگری که TRAF6 در آن‌ها فعال است، لازم به نظر می‌رسد. همچنین هرکدام از عوامل تمرین مانند زمان تمرین و استراحت، شدت و تعداد هفته‌های پژوهش مؤثر هستند. ضمناً تجویز این نوع تمرینات در انسان‌های مبتلابه دیابت برای بهبود عملکرد مناسب است اما قبل از شروع، باید افراد از تمرینات سبک شروع کنند تا به سطحی از آمادگی برسند.

قدردانی

از زحمات دست‌اندرکاران و نیز کارشناسان آزمایشگاه سلولی و مولکولی دانشکده فناوری‌های نوین دانشگاه شهید بهشتی کمال تشکر را ابراز می‌دارم.

ملاحظات اخلاقی

در پژوهش حاضر برای کار با موش‌های صحرایی از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا استفاده شد و در تمامی مراحل کار، پژوهشگر همواره این موارد را مدنظر داشت. ضمناً این طرح در کمیته اخلاق پژوهشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی به شماره ۳۰۵ .۱۳۹۷ IR. SSRI. REC. ثبت گردیده است.

منابع مالی

این مقاله بخشی از رساله دکترای فیزیولوژی ورزشی قلب و عروق و تنفس دانشگاه خوارزمی می‌باشد. از آزمایشگاه ورزشی حیوانات و تسهیلات دانشکده علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی استفاده، و قسمتی از هزینه‌های پژوهش از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی تأمین گردید.

منافع متقابل

تألیف این مقاله هیچ‌گونه منافع متقابلی برای نویسندگان ندارد.

مشارکت مؤلفان

س.ف.ت مؤلف مقاله حاضر می‌باشد. ن.خ به‌عنوان استاد راهنما در طراحی، اجرا و ویرایش اثر نقش داشته‌اند. همکار دیگر نیز مشاوره و اجرای امور آزمایشگاه سلولی را به عهده داشته‌اند.

References

1. Abdullah M, Berthiaume JM, Willis MS. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 as a nuclear factor kappa B-modulating therapeutic target in cardiovascular diseases: at the heart of it all. Translational Research. 2017;195:48-61. doi: 10.1016/j.trsl.2017.10.012
2. Guo C, Zhang L, Nie L, Zhang N, Xiao D, Ye X, et al. Association of polymorphisms in the MyD88, IRAK4 and TRAF6 genes and susceptibility to type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy in a southern Han Chinese population. Mol Cell Endocrinol. 2016;429:114-9. doi: 10.1016/j.mce.2016.04.003
3. Battiprolu PK, Lopez-Crisosto C, Wang ZV, Nemchenko A, Lavandero S, Hill JA. Diabetic cardiomyopathy and metabolic remodeling of the heart. Life Sci. 2013;92(11):609-15. doi: 10.1016/j.lfs.2012.10.011

4. Hafstad AD, Boardman N, Aasum E. How exercise may amend metabolic disturbances in diabetic cardiomyopathy. Antioxidants & redox signaling. 2015;22(17):1587-605. doi: 10.1089/ars.2015.6304
5. Eftekhar E DZM, Katebi M , Ghadiri Soufi F. MicroRNA-146a and its adapter proteins are affected by diabetes in rat's heart. Bratisl Med J 2016; 117(3):166-70. doi: 10.4149/bll_2016_031
6. Feng B ,Chen S, Gordon AD, Chakrabarti S. miR-146a mediates inflammatory changes and fibrosis in the heart in diabetes. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2017;105:70-6. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.03.002
7. Fuentes-Antrás J, Ioan A, Tunon J, Egido J, Lorenzo Ó. Activation of toll-like receptors and inflammasome complexes in the diabetic cardiomyopathy-associated inflammation. International Journal of Endocrinology. 2014;2014. doi: 10.1155/2014/847827
8. Gjevestad GO, Holven KB, Ulven SM. Effects of exercise on gene expression of inflammatory markers in human peripheral blood cells: a systematic review. Current cardiovascular risk reports. 2015;9(7):34. doi: 10.1007/s12170-015-0463-4
9. Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. European journal of clinical investigation. 2017 Aug;47(8):600-11.
10. Cavalcante PAM, Gregnani MF, Henrique JS, Ornellas FH, Araújo RC. Aerobic but not Resistance Exercise Can Induce Inflammatory Pathways via Toll-Like 2 and 4: a Systematic Review. Sports medicine-open. 2017;3(1):42. doi: 10.1186/s40798-017-0111-2
11. Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguelez P, Cuevas MJ, González-Gallego J. TLR4-mediated blunting of inflammatory responses to eccentric exercise in young women. Mediators of inflammation. 2014;2014. doi: 10.1155/2014/479395
12. mansur ghasemi karam asa, sajad ahmadizad. moghayeseh tasir 6hafteh tamrin tanavobi shdid va tadavomi ahesteh bar moghavemat be ansolin dar mardan daraye ezafeh vazn. fizyology varzesh va faaliat badani. 1390;4(2):663-70.
13. Ghosh S, Golbidi S, Werner I, Verchere BC, Laher I. Selecting exercise regimens and strains to modify obesity and diabetes in rodents: an overview. Clinical Science. 2010;119(2):57-74. doi: 10.1042/cs20090389
14. Lew JKS, Pearson JT, Schwenke DO, Katare R. Exercise mediated protection of diabetic heart through modulation of microRNA mediated molecular pathways. Cardiovascular diabetology. 2017;16(1):10. doi: 10.1186/s12933-016-0484-4
15. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. Diabetologia. 2017;60(1):7-23. doi: 10.1007/s00125-016-4106-1
16. Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. Experimental Diabetes Research. 2008 Oct;2008. doi: 10.1155/2008/704045
17. Rajasekar R, Manokaran K, Rajasekaran N, Duraisamy G, Kanakasabapathi D. Effect of Alpinia calcarata on glucose uptake in diabetic rats-an in vitro and in vivo model. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. 2014;13(1):33. doi: 10.1186/2251-6581-13-33
18. Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. InPain Research 2004 (pp. 55-65). Humana Press. doi: 10.1385/1-59259-770-x:225
19. 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 Cardiovascular Prevention & Rehabilitation. 2007;14(6):753-60. doi: 10.1097/hjr.0b013e3281eacef1
20. Songstad NT, Kaspersen K-HF, Hafstad AD, Basnet P, Ytrehus K, Acharya G. Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. PloS one. 2015;10(11):e0143095. doi: 10.1371/journal.pone.0143095
21. Ali Gaeini A, Khaledi N, Fayazmilani R, Ravasi A, Sedghroohi G, Arabkari V. Changes in ACTN3 gene expression and fiber type composition in flexor hallucis longus muscle after eight weeks progressive resistance training in Sprague-Dawley rats. Tehran University Medical Journal. 2013 Apr 1;71(1). http://tumj.tums.ac.ir/browse.php?a_id=36&sid=1&slc_lang=en
22. Roemers P, Mazzola P, De Deyn P, Bossers W, van Heuvelen M, van der Zee E. Burrowing as a novel voluntary strength training method for mice: A comparison of various voluntary strength or resistance exercise methods. Journal of neuroscience methods. 2018;300:112-26. doi: 10.1016/j.jneumeth.2017.05.027
23. Fico BG, Whitehurst M, Slusher AL, Mock JT, Maharaj A, Dodge KM, et al. The comparison of acute high-intensity interval exercise vs. continuous moderate-intensity exercise on plasma calprotectin and associated inflammatory mediators. Physiology & Behavior. 2018;183:27-32. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.10.015
24. Fernandez-Gonzalo R, De Paz JA, Rodriguez-Miguelez P, Cuevas MJ, González-Gallego J. Effects of eccentric exercise on toll-like receptor 4 signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells. Journal of Applied Physiology. 2012;112(12):2011-8. doi: 10.1152/japplphysiol.01499.2011
25. Lira FS, dos Santos T, Caldeira RS, Inoue DS, Panissa VL, Cabral-Santos C, et al. Short-Term High-and Moderate-Intensity Training Modifies Inflammatory and Metabolic Factors in Response to Acute Exercise. Frontiers in physiology. 2017;8:856. doi: 10.3389/fphys.2017.00856
26. Kazemi A, Rahmati M, Fariabi M, Taherabadi Sj. Effect of Eight Weeks High Intensity Interval Training on Body Weight and Serum Levels of Tnf-A, Insulin and Lipid Profile in Obese Children. Razi Journal of Medical

Sciences. 2016;22(139):1-7. www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=508534
27. Rosa JC, Lira FS, Eguchi R, Pimentel GD, Venâncio DP, Cunha CA, et al. Exhaustive exercise increases inflammatory response via toll like receptor-4 and NF-κBp65 pathway in rat adipose tissue. Journal of Cellular Physiology. 2011;226(6):1604-7. doi: 10.1002/jcp.22490
28. Chatzigeorgiou A, Seijkens T, Zarzycka B, Engel D, Poggi M, Van Den Berg S, et al. Blocking CD40-TRAF6 signaling is a therapeutic target in obesity-associated insulin resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(7):2686-91. doi: 10.1073/pnas.1403231111
29. Yu L, Feng Z. The Role of Toll-Like Receptor Signaling in the Progression of Heart Failure. Mediators of inflammation. 2018;2018. doi: 10.1155/2018/9874109
30. Rogero MM, Calder PC. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. Nutrients. 2018;10(4):432. doi: 10.3390/nu10040432