

## تأثیر هم‌افزایی هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول بر مقادیر IL-10 و TNF- $\alpha$ موش‌های نر دیابتی

معصومه حسینی<sup>۱\*</sup>، مریم حسینی<sup>۲</sup>

### چکیده

مقدمه: سایتوکاین‌های پیش التهابی عامل نکرورز تومور آلفا TNF- $\alpha$  و ضد التهابی اینترلوکین -۱۰ به ترتیب نقش مهمی در ایجاد و جلوگیری از التهاب سیستمیک دارند. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی تأثیر هم‌افزایی تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول بر مقادیر IL-10 و TNF- $\alpha$  در موش‌های دیابتی بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی  $225 \pm 10$  گرم براساس جدول برآورد حجم نمونه‌ی کوهن دیابتی شده با ترکیب رژیم پرچرب و تزریق استرپتوزوسین (STZ) به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل (C)، مکمل (M)، تمرین (T)، تمرین+مکمل (TM) تقسیم شدند. گروه‌های تمرین به‌مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۱۸ دقیقه تحت تأثیر تمرین تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد  $VO_{2max}$  قرار گرفتند. گروه‌های دریافت‌کننده‌ی مکمل روزانه ۱۰ mg/kg رزوراترول به‌مدت هشت هفته، سه بار در هفته به‌صورت گاوآژ دریافت کردند. ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه‌ی تمرین، نمونه‌ی خونی از آزمودنی‌ها گرفته شد. داده‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس یک طرفه و نرم‌افزار spss ورژن ۲۴ ارزیابی شد.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد در گروه‌های تجربی IL-10 افزایش یافت اما معنادار نبود ( $P=0.109$ )، مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه TM کاهش یافت در حالی که در گروه‌های T و M افزایش یافت که در مقایسه با گروه TM معنادار بود ( $P=0.000$ )، گلوکز ناشتا، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین گروه‌های تجربی کاهش معناداری پیدا کرد ( $P=0.000$ ).

نتیجه‌گیری: اجرای هشت هفته تمرین تناوبی به همراه مصرف رزوراترول می‌تواند با افزایش IL-10 و کاهش TNF- $\alpha$  تأثیر مثبت بر عوامل التهاب و مقاومت به انسولین بگذارد.

واژگان کلیدی: رزوراترول، IL-10، تمرین تناوبی، موش دیابتی

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*نشانی: تهران، سه راه افسریه، بزرگراه امام رضا (ع)، کیلومتر ۱۸، شهرقیامدشت، انتهای خیابان شهید باهنر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق، کد پستی: ۱۸۶۶۱۱۳۱۱۸، تلفن: ۰۲۱۳۳۵۹۴۹۵۰۰، نمابر: ۰۳۳۵۸۴۰۱۱، پست الکترونیک: mhbasadi@yahoo.com

## مقدمه

مشخصه‌ی دیابت ملیتوس افزایش مزمن قند خون و اختلال متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است [۱]. دو عامل مهم چاقی و عدم فعالیت بدنی در توسعه‌ی این بیماری نقش دارند. التهاب مزمن سیستمیک از ویژگی‌های بارز دیابت نوع دو به شمار می‌آید [۲]. بافت چربی به‌عنوان محصول اصلی چاقی علاوه بر ذخیره چربی به‌عنوان یک بافت فعال، پپتیدهایی را تحت عنوان آدیپوکین‌ها و سایتوکین‌های پیش التهابی و ضد التهابی مانند آدیپونکتین، رزیستین، ویسفاتین، اینترلوکین و اینترفرون گاما ترشح می‌نماید که دارای اثرات اندوکراین و پاراکرینی هستند [۳]. افزایش توده‌ی چربی در افراد چاق می‌تواند موجب افت ایمنی شود. مطالعات پیشین نشان دادند توده‌ی چربی و غلظت سایتوکاین‌های التهابی و ضد التهابی با هم مرتبط هستند [۳].

سایتوکاین‌ها دسته‌ای از مولکول‌های پروتئینی محلول در آب هستند که نقش مهمی در عملکرد دستگاه ایمنی بدن دارند [۴]. عوامل مختلفی بر ترشح سایتوکاین‌ها تأثیر گذارند که از جمله می‌توان به فعالیت‌های ورزشی اشاره کرد. Leiro و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند حین فعالیت بدنی، عضله‌ی اسکلتی در حال انقباض مقادیر مشخصی سایتوکاین IL-6 و TNF- $\alpha$  را به درون گردش خون رها می‌کند. رها شدن IL-6 ممکن است با فعال‌سازی Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase (AMPK) باعث تحریک اکسایش اسیدهای چرب شود، بنابراین اکسیداسیون اسید چرب در سلول‌ها افزایش می‌یابد که این امر ممکن است موجب کاهش چربی‌های پلاسما شود [۴].

IL-10 (interlokin-10) سایتوکاین ضد التهابی است که به کمک انواع سلول‌های ایمنی نظیر سلول‌های Th2، ماکروفاژها و سلول‌های CD8 تولید می‌شود و توانایی مهار طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های ایمنی و التهابی را دارد [۵]. یافته‌ها نشان می‌دهند IL-10 باعث افزایش حساسیت انسولینی سلول‌های عضلانی و کاهش نفوذ ماکروفاژها به درون آن‌ها می‌شود [۵]. تصور بر این است که IL-10 از طریق مهار ساخت سایتوکاین

های التهابی، از اثرات زیان آور آن‌ها روی پیام‌دهی انسولین و متابولیسم گلوکز جلوگیری می‌کند. همچنین IL-10 باعث افزایش عملکرد سلول‌های بتای لوزالمعده در پاسخ به گلوکز و کاهش التهاب جزایر لانگرهانس می‌شود [۵]. Peake و همکاران (۲۰۰۵) سه برنامه‌ی دویدن روی تردمیل با شدت‌های ۶۰، ۸۵ و ۶۰ درصد (با شیب منفی) حداکثر اکسیژن مصرفی را در ۲۳ دونه مطالعه کردند. سطوح پلاسمایی IL-10 در شدت بالا به‌طور معناداری بیشتر از شدت‌های متوسط گزارش شد [۶].

TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor-alpha) یک سایتوکاین مهم التهابی است که نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای سلولی و تولید IL-10 دارد و توسط اغلب سلول‌های سیستم دفاعی بدن، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های عضله‌ی صاف و بافت چربی تولید می‌شود [۷]. تنظیم طبیعی سوخت و ساز انرژی (به ویژه چربی) را که به عنوان یک عامل پاتوفیزیولوژیک احتمالی در بروز تصلب شرایین، دیابت، بیماری‌های قلبی - عروقی و غیره به شمار می‌رود؛ دچار اختلال می‌کند. همچنین به‌عنوان یک تنظیم کننده‌ی بیان ژن در سلول‌های چربی عمل می‌کند و سبب افزایش مقاومت به انسولین و چاقی می‌شود [۷].

به‌دنبال تمرینات ورزشی سطوح گردش IL-6 افزایش می‌یابد که موجب تحریک دو سایتوکاین ضد التهابی IL-10 و IL1ra می‌گردد و از تولید TNF- $\alpha$  جلوگیری می‌کند [۸]. برخی شواهد موجود نشان داده است که متغیر شدت در تمرینات عامل مهم تری نسبت به حجم تمرین در بهبود مقاومت انسولینی، کنترل متابولیسمی و عملکرد قلبی بیماران دیابتی است. Robinson و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند، تمرینات کوتاه مدت شدید می‌تواند یک جایگزین مناسب تمرین هوازی توصیه شده ۱۵۰ دقیقه‌ای در هفته جهت ایجاد تغییرات مثبت در مارکرهای خطر بیماری دیابت نوع دو باشد [۸].

رزورترول یک ترکیب پلی فنولیک فیتوآلکسین است که به‌طور طبیعی در انگور، انواع توت و بادام زمینی وجود دارد. این ماده سبب افزایش بیان ناقل گلوکز وابسته به انسولین (GLUT4) و کاهش قند خون در موش‌های صحرایی دیابتیک می‌شود [۹].

تحقیقات متعدد نشان می‌دهد رزوراترول تولید  $TNF-\alpha$ ، IL-6 و IL-8 را مهار می‌کند [۹].

با توجه به اهمیت تمرینات ورزشی و نقش عوامل دارویی گیاهی در کنترل دیابت و تعدیل پاسخ ایمنی، همچنین با توجه به توصیه‌ی کالج پزشکی ورزشی آمریکا مبنی بر انجام فعالیت‌های جسمانی به شیوه‌ی متناوب و وجود برخی تناقضات در نتایج تحقیقات گذشته، همچنین نبود پژوهش واحدی در زمینه‌ی بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول بر مقادیر  $TNF-\alpha$  و IL-10 محقق در نظر دارد به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول بر مقادیر  $TNF-\alpha$  و IL-10 در موش‌های دیابتی نوع ۲ پردازد.

## روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی ۳۲ سر (براساس جدول برآورد حجم نمونه کوهن [۱۰]) موش صحرایی نژاد اسپراگ داوولی ۱۰ هفته‌ای  $225 \pm 10$  گرم در مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد واحد ساری انتخاب و پس از ورود به محیط پژوهش و آشنایی یک هفته‌ای با محیط جدید و نحوه‌ی فعالیت، به روش تصادفی در ۴ گروه کنترل، تمرین، مکمل، تمرین + مکمل تقسیم شدند (۸ سر در هر گروه). تمامی موش‌ها به مدت ۳ هفته تحت رژیم غذایی پر چرب (تهیه شده توسط پلت‌سازی انستیتو سرم سازی رازی) قرار گرفتند (۱۷۱ کالری چربی، ۵۸ کالری پروتئین و ۱۸۷ کالری کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم). پس از ۳ هفته، القای دیابت با تزریق تک دوز استرپتوزوسین (STZ) حل شده در بافر سدیم سیترات با  $PH=4/5$  به مقدار  $40 \text{ mg/kg}$  به روش درون صفاقی انجام شد. برای تأیید دیابت، ۹۶ ساعت پس از تزریق STZ با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات یک قطره‌ی خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفته

و توسط دستگاه گلوکومتر Easygluco خوانده شد. سطوح گلوکز خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد [۹]. حیوانات مورد آزمایش در طی مراحل پژوهش در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به ابعاد  $30 \times 15 \times 15$  سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، در شرایط کنترل شده چرخه‌ی روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با دمای محیطی  $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت هوای  $55 \pm 5$  درصد و با تهویه مناسب نگاه‌داری شدند.

## پروتکل تمرینی

توان هوازی موش‌ها به‌طور غیر مستقیم ارزیابی شد. ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد  $VO_{2max}$  صورت گرفت. بعد از گرم شدن، آزمون با دویدن رت‌ها با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت دو دقیقه شروع شد. سپس سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یک بار به میزان  $0.3$  متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. ملاک رسیدن به  $VO_{2max}$ ، عدم افزایش  $VO_2$  با وجود افزایش سرعت بود [۱۱].

برنامه‌ی تمرینی به مدت هشت هفته، هفته‌ای پنج جلسه، هر جلسه ۱۸ دقیقه دویدن روی نوار گردان با شیب صفراجرا شد که شامل ۶ دقیقه تمرین با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد  $VO_{2max}$  برای گرم کردن حیوانات، ۴ دقیقه تمرین تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد  $VO_{2max}$ ، ۲ دقیقه تمرین تناوبی با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد  $VO_{2max}$  و ۶ دقیقه نیز برای سرد کردن حیوانات با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد  $VO_{2max}$  بود. در پایان هر دو هفته، آزمون حداکثر اکسیژن مصرفی اجرا شد و سرعت تمرینی جدید در نظر گرفته شد (جدول ۱) [۱۲].

جدول ۱- برنامه‌ی تمرینی گروه‌های تجربی

گرم کردن/ سرعت	تناوب شدید/سرعت	تناوب بازیافت/ سرعت	سرد کردن
VO2max ۶۰ تا ۵۰ درصد	۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO2max	۵۰ تا ۶۰ درصد O2max	۶۰ تا ۵۰ درصد O2max
شیب نوار گردان صفر درجه			
هفته اول و دوم	۶ دقیقه	۴ دقیقه / ۱۵ متر در دقیقه	۲ دقیقه
هفته سوم و چهارم	۶ دقیقه	۴ دقیقه / ۲۰ متر در دقیقه	۲ دقیقه
هفته پنجم و ششم	۶ دقیقه	۴ دقیقه / ۲۵ متر در دقیقه	۲ دقیقه
هفته هفتم و هشتم	۶ دقیقه	۴ دقیقه / ۳۰ متر در دقیقه	۲ دقیقه

مقدار ۱۰ mg/kg رزوراترول (محصول شرکت HerbaFit آلمان) در گروه‌های مکمل و تمرین + مکمل به مدت ۸ هفته، سه بار در هفته به صورت گاواژ داده شد [۱۳]. برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، عمل خونگیری ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی (برای از بین بردن اثرات حاد تمرینی) پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی، انجام شد. ابتدا حیوانات در فضای ویژه‌ی نمونه برداری (محیط استریل) توسط متخصصین کارآموده، با ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس خونگیری از بطن چپ به میزان ۵ سی‌سی انجام گرفته و سرم نمونه‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ Hettich, EBA 20 ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه جدا شده و تا زمان اندازه‌گیری، نمونه‌ها در دمای ۷۰- نگه‌داری شد. کلیه‌ی مراحل تحقیق فوق با مجوز شماره ۱۳۹۴۲۷ مورد تأیید کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری قرار گرفت. برای اندازه‌گیری TNF- $\alpha$  کیت Rat Zellbio GmbH (TNF- $\alpha$ ) (ELISA) Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (ELISA) Zellbio GmbH

مقدار ۱۰ mg/kg رزوراترول (محصول شرکت HerbaFit آلمان) در گروه‌های مکمل و تمرین + مکمل به مدت ۸ هفته، سه بار در هفته به صورت گاواژ داده شد [۱۳]. برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، عمل خونگیری ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی (برای از بین بردن اثرات حاد تمرینی) پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی، انجام شد. ابتدا حیوانات در فضای ویژه‌ی نمونه برداری (محیط استریل) توسط متخصصین کارآموده، با ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس خونگیری از بطن چپ به میزان ۵ سی‌سی انجام گرفته و سرم نمونه‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ Hettich, EBA 20 ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه جدا شده و تا زمان اندازه‌گیری، نمونه‌ها در دمای ۷۰- نگه‌داری شد. کلیه‌ی مراحل تحقیق فوق با مجوز شماره ۱۳۹۴۲۷ مورد تأیید کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری قرار گرفت. برای اندازه‌گیری TNF- $\alpha$  کیت Rat Zellbio GmbH (TNF- $\alpha$ ) (ELISA) Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (ELISA) Zellbio GmbH

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{انسولین (میلی لیتر/میکروواحد)} \times \text{گلوکز ناشتا (میلی مول)}}{20}$$

مشاهده تفاوت معنادار آماری از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معناداری برای تمام محاسبات ( $P \leq 0/05$ ) در نظر گرفته شد. کلیه‌ی عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گردید.

#### تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش

توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معناداری هریک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک راهه و در صورت

## یافته‌ها

مکمل افزایش یافت که میان گروه مکمل با گروه کنترل این اختلاف معنادار بود ( $P < 0/001$ ). مقدار  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین+مکمل کاهش یافت که در مقایسه با دو گروه تجربی دیگر اختلاف معنادار بود ( $P < 0/001$ ). متغیرهای انسولین، گلوکز و شاخص مقاومت انسولین در گروه های تجربی کاهش یافت که در مقایسه بین گروهی، اختلاف معنادار میان گروه‌های تمرین و تمرین+مکمل با دو گروه مکمل و کنترل بود ( $P = 0/000$ ).

اطلاعات مربوط به وزن موش‌ها در هر یک از گروه‌های چهارگانه در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، وزن موش‌های گروه‌های تجربی پس از هشت هفته کاهش یافت اما معنادار نبود. جدول ۳ شاخص‌های آماری  $TNF-\alpha$ ، انسولین، گلوکز و مقاومت به انسولین در چهار گروه کنترل، مکمل، تمرین، تمرین+مکمل را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد مقادیر  $IL-10$  در گروه‌های تجربی افزایش یافت اما معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). مقادیر  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین و گروه

جدول ۲- وزن موش‌ها (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد) پس از دیابتی شدن و بعد از هشت هفته تمرین در چهار گروه

گروه‌ها	کنترل	تمرین	مکمل	تمرین+مکمل
وزن اولیه موش‌ها (گرم)	۸/۲۸۱ $\pm$ ۲/۸	۶/۲۸۵ $\pm$ ۳/۱	۵/۲۸۷ $\pm$ ۵/۲	۱۲/۲۸۳ $\pm$ ۵/۱
وزن موش‌ها بعد از تمرین (گرم)	۸/۲۸۸ $\pm$ ۲	۴/۲۸۱ $\pm$ ۹/۳	۸/۲۸۱ $\pm$ ۰/۸	۷/۲۸۲ $\pm$ ۵/۲

جدول ۲- شاخص‌های آماری  $TNF-\alpha$ ، انسولین، گلوکز و مقاومت به انسولین در چهار گروه کنترل، مکمل، تمرین، تمرین+مکمل

متغیرها	کنترل	تمرین	مکمل	تمرین+مکمل	کنترل
$IL-10$ (pg/ml)	۱/۳ $\pm$ ۹/۲	۲/۲ $\pm$ ۳/۴	۲/۱ $\pm$ ۳/۷	۲/۵ $\pm$ ۲/۵	۱/۳ $\pm$ ۹/۲
$TNF-\alpha$ (ng/ml)	۳/۲ $\pm$ ۹/۸	۴/۵ $\pm$ ۱/۳	۴/۶ $\pm$ ۷/۳	۳/۴ $\pm$ ۳/۷	۳/۲ $\pm$ ۹/۸
انسولین ( $\mu U/dl$ )	۷/۰ $\pm$ ۹/۳۶	۶/۰ $\pm$ ۹/۲	۷/۰ $\pm$ ۳/۲	۶/۰ $\pm$ ۹/۱	۷/۰ $\pm$ ۹/۳۶
گلوکز (mg/dl)	۱۷/۰ $\pm$ ۶/۶	۱۳/۰ $\pm$ ۱/۲	۱۴/۰ $\pm$ ۱/۴	۱۲/۰ $\pm$ ۶/۵	۱۷/۰ $\pm$ ۶/۶
مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	۶/۰ $\pm$ ۲/۴	۴/۰ $\pm$ ۳/۱	۴/۰ $\pm$ ۶/۲	۳/۰ $\pm$ ۹/۱	۶/۰ $\pm$ ۲/۴

مقدار  $P \leq 0/05$  از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شده است. \* کاهش معنادار در مقایسه با گروه کنترل و مکمل E افزایش معنادار در مقایسه با گروه کنترل † کاهش معنادار در مقایسه با دو گروه تمرین و مکمل. روش: آنالیز واریانس یک راهه، چهار گروه ۸ نفره موش صحرایی نژاد اسپراگ داوولی

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد غلظت  $IL-10$  در اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول افزایش یافت که این افزایش معنادار نبود. نتایج پژوهش حاضر با پژوهش Thakur و همکاران (۲۰۱۶) که در پژوهش خود نشان دادند یک دوره تمرین هوازی تأثیر معناداری بر غلظت سرمی اینترلوکین-۱۰ موش‌های دیابتی ندارد [۱۵] همسو است. یکی از دلایل افزایش  $IL-10$  پس از تمرین، افزایش اکسیداسیون چربی و در نتیجه،

کاهش بافت چربی منجمله چربی احشایی است. کاهش در توده ی چربی، همراه با کاهش نفوذ ماکروفاژها به درون بافت چربی و تبدیل مونوسیت‌های ماکروفاژی نوع M1 به فنوتیپ مونوسیت های ماکروفاژهای نوع M2، موجب می‌شود سایتوکین‌های ضدالتهابی از جمله  $IL-10$  افزایش یافته و سایتوکین‌های پیش التهابی نظیر  $TNF-\alpha$  کاهش یابند [۱۶]. یکی دیگر از سازوکارهای درگیر در افزایش  $IL-10$ ، افزایش  $IL-6$  در پی تمرین است. تمرین باعث افزایش سوخت و ساز عضلانی شده و منجر به افزایش  $IL-6$  در عضله و خون می‌گردد. افزایش  $IL-$

و بیماری دیابت است [۱۷، ۱]. یافته‌های مطالعات گوناگون حاکی از آن است که بین سطوح پلاسمایی آدیپوکین‌های التهابی و مقدار فعالیت بدنی ارتباط معکوسی وجود دارد [۱۷]. فعالیت ورزشی شدید و کوتاه‌مدت ممکن است با افزایش سطوح آدیپوسایتوکین‌های التهابی همراه باشد، اما انجام انواع تمرینات ورزشی منظم موجب کاهش سطوح در گردش مارکرهای التهابی می‌شود [۱۷، ۱۶].

همان‌طور که قبلاً بیان گردید، چاقی باعث افزایش تولید  $TNF-\alpha$  می‌شود؛ لذا افزایش لیپولیز در اثر تمرینات استقامتی از طریق تحریک فعالیت لیپاز حساس به هورمون، می‌تواند سازوکاری برای کاهش  $TNF-\alpha$  باشد [۳]. علاوه بر این، کاهش سطوح  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین + مکمل را می‌توان به مصرف رزوراترول نسبت داد. Leiro و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌ی خود نشان دادند رزوراترول باعث کاهش سایتوکین‌های پیش التهابی می‌شود و واکنش‌های التهابی را در برخی از بیماری‌های التهابی کاهش می‌دهد [۴].

با این حال علت افزایش  $TNF-\alpha$  در گروه‌های دیگری می‌تواند مربوط به فاکتورهای عصبی - هورمونی باشد که قادرند بر میزان  $TNF\alpha$  اثر بگذارند. در این زمینه، تحقیقات گذشته نشان داده است که ورزش و فعالیت بدنی می‌تواند میزان کورتیزول، کاتکول آمین‌ها و ذخایر کربوهیدرات را تحت تأثیر قرار دهد که این تغییرات به نوبه‌ی خود منجر به افزایش  $TNF\alpha$  می‌گردند. [۱۷]. این در حالی است که Safarzade و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهش خود نشان دادند ۴ هفته تمرین مقاومتی بر  $TNF-\alpha$  موش‌های صحرایی دیابتی تأثیر معناداری ندارد [۷] که با نتایج پژوهش حاضر همسو نیست. به نظر می‌رسد اختلافات مشاهده شده بین مطالعات مربوط به مکمل مصرفی و شدت و مدت تمرینات باشد.

نتایج نشان داد غلظت گلوکز ناشتا در اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول در موش‌های دیابتی نوع دو کاهش معناداری یافت. فعالیت‌های ورزشی از راه سازوکارهای مختلفی می‌توانند موجب بهبود دریافت و مصرف گلوکز خون به هنگام و پس از فعالیت ورزشی شوند. برخی از این سازوکارها، شامل افزایش جریان خون عضلانی، افزایش اتصال

6 خود باعث افزایش ترشح IL-10 در ماکروفاژها می‌شود [۱۶]. افزایش سطوح IL-10 راهمچنین می‌توان به مصرف رزوراترول نسبت داد چنانچه Tomé-Carneiro و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند مصرف رزوراترول منجر به افزایش معنی‌دار IL-10 می‌شود [۹]. سازوکار دیگر به افزایش لنفوسیت‌های نوع CD4 مربوط می‌شود. نشان داده شده است که تمرین باعث افزایش تولید سلول‌های CD4 در ارگان‌های لنفوییدی به‌ویژه طحال می‌گردد. افزایش تولید سلول‌های CD4 باعث افزایش ترشح سایتوکاین‌های ضدالتهابی از جمله IL-10 می‌شود [۱۷]. هر چند که تغییرات سلول‌های CD4 در این مطالعه اندازه گیری نشده است، اما احتمال می‌رود افزایش اندک IL-10 بتواند متأثر از این سازوکار باشد.

نتایج این پژوهش با پژوهش Jenkins و همکاران (۲۰۱۲) که کاهش معنادار IL-10 را پس از هشت هفته تمرینات استقامتی بررسی کردند [۵] ناهمسو است. به نظر می‌رسد اختلافات مشاهده شده بین مطالعات مربوط به جامعه‌ی آماری، ژنوتیپ، نوع مکمل مصرفی و عوامل دیگری از جمله تغذیه و تأثیر مستقیم آخرین جلسه‌ی تمرین بر نمونه‌های خونی باشد.

نتایج نشان داد مقادیر  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین و گروه مکمل افزایش یافت که فقط میان گروه مکمل با گروه کنترل اختلاف معنادار بود. مقدار  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین + مکمل کاهش یافت که در مقایسه با گروه تمرین و گروه مکمل اختلاف معنادار بود. نتایج پژوهش حاضر با پژوهش Lee و همکاران (۲۰۱۲) همسو است. این محققین با بررسی یک دوره‌ی تمرین استقامتی در موش‌های صحرایی دیابتی، شاهد کاهش معنادار  $TNF-\alpha$  بودند [۱].

$TNF-\alpha$  یکی از سایتوکین‌های پیچیده در سیستم التهابی است که در واکنش‌های حاد و کنترل سیستم ایمنی که از بافت چربی ترشح می‌شوند نقش مهمی را ایفا می‌کند و سطح اینترلوکین‌هایی نظیر IL-6، IL-18 و IL-1 را افزایش می‌دهد. همچنین سطوح استراحتی آن با چاقی و سبک زندگی غیرفعال ارتباط دارد. این عامل التهابی باعث بازدارندگی لیپوپروتئین لیپاز و تحریک لیپولیز در آدیپوسیت‌ها و نیز افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع در جریان خون می‌شود که پیامد آن، افزایش مقاومت به انسولین

انسولین به گیرنده‌اش و افزایش انتقال گلوکز به وسیله تحریک جابه‌جایی GLUT4 به سطح سلول عضلانی است. این سازگاری به شدت تحت تأثیر هزینه کرد انرژی است [۱۸]. در مطالعه‌ای مشاهده شد که رزوراترول باعث بهبود عملکرد انسولین و افزایش فرکانس باز شدن دریچه‌ی GLUT-4 می‌گردد و گلوکز با سرعت بیشتری از خون به داخل سلول‌های تحت تأثیر انسولین انتقال می‌یابد [۱۹]. مطالعات پیشین گزارش کردند هشت هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار گلوکز خون در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت می‌شود [۲، ۳]. Ramos-Gomez (۲۰۱۷) و Fouad و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند مصرف رزوراترول منجر به کاهش معنادار گلوکز ناشتا شد [۲۰، ۱۹] که با نتایج پژوهش حاضر همسو هستند.

در مقابل Hedayati و همکاران (۱۳۹۷) دریافتند، هشت هفته تمرین تناوبی شدید و متوسط تأثیر معناداری بر گلوکز سرم موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت ندارد [۱۸]. عدم همسویی با پژوهش حاضر را می‌توان ناشی از تفاوت در سن آزمودنی‌ها و مدت و شدت تمرینات، مکمل مصرفی و تغذیه آزمودنی‌ها دانست.

نتایج نشان داد غلظت انسولین سرمی در اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول در موش‌های دیابتی نوع دو کاهش معناداری یافت. در تحقیق Mohammadi (۲۰۱۷) نیز کاهش معنادار انسولین سرم در پی ۱۲ هفته تمرین مقاومتی در موش‌های دیابتی شده با STZ مشاهده شد [۲۱]. پاسخ سنتز و ترشح انسولین در انسان یا گونه‌های حیوانی، بسته به حضور یا عدم حضور دیابت، شدت دیابت، همچنین سن القای دیابت در حیوان و سن ورود به تمرین، متفاوت از یکدیگرند که تا اندازه‌ای یافته‌های تحقیقات را متأثر می‌کند [۲۱]. هنگام ورزش، سطح انسولینی پایه و سطح انسولینی تحریک شده گلوکوزی کاهش می‌یابد. همچنین تمرین منجر به کاهش میزان mRNA لازم برای تولید پروانسولین و گلوکوکیناز در پانکراس می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد حداقل دو سازوکار سلولی وجود دارد تا میزان ترشح انسولین را کاهش دهد. اول، کاهش mRNA پرو انسولینی که نشان دهنده‌ی کاهش سنتز انسولین است. دوم، از آنجا که وجود گلوکوکیناز در کبد برای حساسیت سلول‌های

بتای پانکراس به انسولین ضروری است، بنابراین کاهش میزان mRNA گلوکوکیناز ممکن است منجر به کاهش حساسیت این سلول‌ها به انسولین شده و میزان ترشح آن را کاهش دهد [۲۲]. از دلایل احتمالی کاهش انسولین در این پژوهش می‌توان به کاهش معنادار TNF- $\alpha$  اشاره کرد؛ زیرا نشان داده شده است که TNF- $\alpha$  در مختل نمودن عمل انسولین نقش دارد و از این طریق باعث افزایش مقاومت انسولینی می‌گردد [۳]. نتایج پژوهش حاضر با پژوهش Salehi و Hosseini (۲۰۱۷) که عدم تغییر انسولین سرم را پس از هشت هفته تمرینات استقامتی در موش‌های صحرایی دیابتی نشان دادند، همسویی ندارد [۲۳، ۲۰].

نتایج نشان داد شاخص مقاومت انسولینی در اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف رزوراترول در موش‌های دیابتی نوع دو کاهش معناداری یافت. این یافته با مطالعه‌ی Ramzany و همکاران (۲۰۱۶) که گزارش کردند هشت هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار مقاومت به انسولین در موش‌های نر دیابتی نوع دو گردید [۱۴] همسو است. دیابت به‌عنوان یک فرآیند التهابی مزمن مرتبط با مقاومت انسولین یا کاهش ترشح آن شناخته شده است. افزایش اسیدهای چرب آزاد پلاسما، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و نقص در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از جمله علل گسترش مقاومت به انسولین در دیابت است. سازوکار احتمالی در کاهش سطح مقاومت انسولینی ممکن است به‌طور بالقوه با واسطه‌ی تغییر در عملکرد چندین واسطه‌ی پپتیدی ترشح شده از آدیپوسیت‌ها، مانند TNF- $\alpha$  میانجی‌گری شود. TNF- $\alpha$  با پیامدهی توسط انسولین مخالفت می‌کند که این عمل را توسط کاهش سیگنال‌دهی از طریق فسفوریلاسیون سرین انجام می‌دهد [۲۳، ۱۴].

فعالیت بدنی منجر به افزایش گیرنده‌های انسولینی در بافت عضله می‌شود که تحویل گلوکز را به عضلات افزایش داده و انتقال GLUT4 به غشای سلول عضله و جذب گلوکز غیر وابسته به انسولین را بالا می‌برد. همچنین، فعالیت بدنی تعداد و تراکم میتوکندری‌ها را در عضله‌ی اسکلتی بالا می‌برد که منجر به افزایش ظرفیت اکسیداتیو و کاهش مقاومت به انسولین می‌شود [۲۴].

پروفایل لیپیدی، شدت دیابت و نحوه‌ی دیابتی نمودن از عواملی هستند که می‌تواند در ایجاد گزارشات متفاوت مؤثر باشد. در تحقیق حاضر تمرین همراه با مصرف مکمل رزوراترول، توانست سطح عوامل التهابی را کاهش دهد. این احتمال وجود دارد که استفاده‌ی هم‌زمان از مکمل رزوراترول و تمرینات ورزشی سبب تقویت پاسخ‌های سیستم ایمنی شود. با توجه به شیوع بالای دیابت در جهان پیشنهاد می‌شود از تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل رزوراترول در کنار مصرف داروهای شیمیایی و پس از مشورت با پزشک متخصص غدد برای بیماران دیابتی استفاده شود.

### سپاسگزاری

مطالعه‌ی حاضر بخشی از پایان‌نامه در مقطع کارشناسی ارشد، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق در سال ۱۳۹۶ است که بدین وسیله پژوهشگران مراتب قدردانی و تشکر خود را از مسؤولان محترم آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد واحد ساری و آزمایشگاه رژوان آزما که در این طرح ما را یاری فرمودند، اعلام می‌دارند.

از آنجا که مقادیر گلوکز و انسولین هر دو روندی رو به کاهش در پژوهش حاضر را داشتند، لذا برآیند آنها منجر به بهبود معنادار در مقاومت انسولین شد. همانگونه که بیان شد مقاومت به انسولین شاخصی است که متکی بر مقادیر گلوکز و انسولین است [۲۴]. در تعدادی از مطالعات، تحریک ترشح انسولین و جلوگیری از افزایش مقاومت سلولی نسبت به انسولین را به عنوان سازوکار اثر رزوراترول معرفی کرده‌اند. رزوراترول اثر مثبت بر روی متابولیسم دارد و سطح چربی و گلوکز را کاهش می‌دهد و در نتیجه تحمل گلوکز را افزایش می‌دهد. نشان داده شده است که رزوراترول می‌تواند برداشت گلوکز و سنتز گلیکوژن را تحریک کند و باعث کاهش معنادار مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی شود [۲۵].

این در حالی است که Mohammadi و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهش خود نشان دادند ۱۲ هفته تمرین مقاومتی تأثیر معناداری بر مقاومت انسولینی موش‌های دیابتی شده با STZ ندارد [۲۱]. با بررسی دقیق پژوهش‌های انجام شده نوع، شدت و مدت پروتکل تمرینی، سن، جنس و وضعیت آمادگی آزمودنی‌ها، روش‌های آزمایشگاهی، تعادل بین زمان تمرین و زمان استراحت، تعادل هورمونی-عصبی، وزن بدن، وراثت، تغذیه،

### مآخذ

- Lee S, Park Y, Zhang C. Exercise training prevents coronary endothelial dysfunction in type 2 diabetic mice. *Am J Biomed Sci* 2012; 3(4):241-52.
- Hoseini SA, Zar A, Kheirdeh M, Arayesh A. Effect of Endurance Training on Vaspine and Glycemic Indexes in Diabetic Rats. *Qom Univ Med Sci J* 2017; 10 (11):17-24 [Persian].
- Tofighi A, Babaei S. The effects of separate and combined exercise and nigella supplement on plasmatic levels of apelin and glucose in type 2 diabetes mouse. *J Urmia Univ Med Sci* 2016; 27 (1):10-18 [Persian].
- Leiro JM, Varela M, Piazzon MC, Arranz JA, Noya M, Lamas J. The anti-inflammatory activity of the polyphenol resveratrol may be partially related to inhibition of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) pre-mRNA splicing. *Mol Immunol* 2010; 47(5): 1114-20
- Jenkins NT, Padilla J, Arce-Esquivel AA, Bayless DS, Martin JS, Leidy HJ, et al. Effects of endurance exercise training, metformin, and their combination on adipose tissue leptin and IL-10 secretion in OLETF rats. *J Appl Physiol* 2012; 113(12):1873-83.
- Peake JM, Suzuki K, Hordern M, Wilson G, Nosaka K, Coombes JS. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 2005; 95(5-6):514-21.
- Safarzade A R, Gharakhanlou R, Hedayati M, Talebi-Garakani E. The Effect of 4 Weeks Resistance Training on Serum Vaspine, IL-6, CRP and TNF-A Concentrations in Diabetic Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2012; 14 (1):68-74 [Persian]
- Robinson E, Durrer C, Simtchouk S, Jung ME, Bourne JE, Voth E, Little JP. Short-term high-intensity interval and moderate-intensity continuous training reduce leukocyte TLR4 in inactive adults at elevated risk of type 2 diabetes. *Journal of Applied Physiology* 2015; 119(26):508-516.

9. Tomé-Carneiro J, González M, Larrosa M, Yáñez-Gascón MJ, García-Almagro FJ, Ruiz-Ros JA, et al. One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2012; 110(3):356-63.
10. Verma JP. Statistical Methods for Sports and Physical Education. 978-0-07-133351-1, New Delhi, *Tata McGraw-Hill*. 2011; P: 123-138.
11. 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): 753-760.
12. Hadidi V, Kordi MR, Gaeini AA, Nekooei A, Shafiei A, Hajatimodaraei M. The effect of eight weeks of high intensity interval training on Expression of PGC-1 $\alpha$  gene in the slow and rapid contraction of healthy male rats. *Sport Biosciences* 2016; 7(4):661-673 [Persian].
13. Zunino SJ, Storms DH, Newman JW, Pedersen TL, Keen CL, Ducore JM. Resveratrol given intraperitoneally does not inhibit the growth of high-risk t (4; 11) acute lymphoblastic leukemia cells in a NOD/SCID mouse model. *International journal of oncology* 2012; 40(4):1277-84.
14. Ramzany N, Gaeini AA, Choobineh S, Kordi MR, Hedayati M. Changes of RBP-4 and insulin resistance after 8 weeks of aerobic training in type 2 diabetic rats. *Metabolism and Exercise A biannual journal* 2016; 5(2):89-98 [Persian].
15. Thakur V, Gonzalez M, Pennington K, Nargis S, Chattopadhyay M. Effect of exercise on neurogenic inflammation in spinal cord of Type 1 diabetic rats. *Brain Res* 2016; 1:87- 94.
16. Molanouri-Shamsi M, Fallah M, Mahdavi M. The effect of resistance training on skeletal muscle inflammatory factors in diabetic rats. *Feyz*. 2014; 18 (5):477-483 [Persian].
17. Nieman DC. Exercise effects on systemic immunity. *Immunology and Cell Biology* 2000; 78(5):496-501.
18. Hedayati S, Riyahi Malayeri Sh, Hoseini M. The Effect of Eight Weeks of High and Moderate Intensity Interval Training Along with Aloe Vera Consumption on Serum Levels of Chemerin, Glucose and Insulin in Streptozotocin-induced Diabetic Rats: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2018; 17 (9): 801-14 [Persian]
19. Ramos-Gomez M, Olivares-Marin IK, Canizal-García M, González-Hernández JC, Madrigal-Perez LA. Resveratrol induces mitochondrial dysfunction and decreases chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae* in a glucose-dependent manner. *J Bioenerg Biomembr* 2017; 49(3):241-251.
20. Fouad MA, Agha AM, Merzabani MM, Shouman SA. Resveratrol inhibits proliferation, angiogenesis and induces apoptosis in colon cancer cells: calorie restriction is the force to the cytotoxicity. *Hum Exp Toxicol* 2013; 32(10):1067-80.
21. Mohammadi R, Matin Homaei H, azarbayjani M A, Baesi K. The Effect of 12-Week Resistance Training on Cardiac Hypertrophy, Glucose Level, Insulin, and Insulin Resistance Index in STZ-Induced Diabetic Rats. *Qom Univ Med Sci J*. 2017; 11 (2):38-45 [Persian].
22. Azari N, Rahmati M, Fathi M. The effects of endurance exercise on blood glucose, insulin and insulin resistance in patients with type ii diabetes: a systematic review and meta-analysis of studies in iran. *Ijldd* 2018; 17 (2):65-78 [Persian].
23. Salehi O R, Hoseini A. The Effects of Endurance Trainings on Serum BDNF and Insulin Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Shefaye Khatam*. 2017; 5 (2):52-61[ Persian].
24. Toledo FG, Menshikova EV, Ritov VB, Azuma K, Radikova Z, DeLany J, et al. Effects of physical activity and weight loss on skeletal muscle mitochondria and relationship with glucose control in type 2 diabetes. *Diabetes* 2007; 56(8):2142.
25. Riyahi Malayeri S, Azadnia A, Rasaei MJ. Effect of eight-week high intensity interval training and resveratrol intake on serum adiponectin and resistin in type 2 diabetic rats. *ijldd* 2019; 18 (1):8-1 [Persian].

## THE SYNERGISTIC EFFECT OF EIGHT WEEKS HIGH-INTENSITY INTERVAL TRAINING AND RESVERATROL CONSUMPTION ON IL-10 AND TNF- A IN DIABETIC MALE RATS

Masoumeh Hosseini <sup>\*1</sup>, Maryam Hosseini<sup>2</sup>

1. Department of exercise physiology. East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

### ABSTRACT

**Background:** The proinflammatory cytokines of tumor necrosis factor alpha TNF- $\alpha$  and anti-inflammatory interleukin-10 have important roles in inducing and preventing systemic inflammation, respectively. The purpose of this study was to the synergistic effect of High-Intensity Interval training and resveratrol consumption on IL-10 and TNF-  $\alpha$  in diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 32 diabetic rats  $225 \pm 10$  g based on Cohen's sample size estimation table diabetic with combination of high-fat diet and streptozotocin (STZ) injection, were randomly divided into four groups: control(C), supplement(M), training (T)and training + supplement(TM). The training groups were exposed to high-intensity interval training with an intensity of 90 to 100% VO<sub>2</sub>max for 8 weeks, 5 sessions per week, each session for 18 minutes. The supplement groups received 10 mg / kg of resveratrol daily for eight weeks, three times a week by gavage. Blood samples were taken 48 hours after the last training session. Data were analyzed using one-way analysis of variance and SPSS software version 24 (ANOVA).

**Results:** Results showed that IL-10 increased in the experimental groups but was not significant (P=0.109). TNF- $\alpha$  levels decreased in the TM group, whereas it increased in the T and M groups, which was significant compared to the TM group (P=.000). Fasting glucose, insulin and insulin resistance index decreased significantly in experimental groups (P=.000).

**Conclusion:** Eight weeks of high-intensity interval training plus resveratrol can have a positive effect on inflammation and insulin resistance by increasing IL-10 and decreasing TNF- $\alpha$ .

**Keywords:** Resveratrol, IL-10, Interval training, Diabetic rat

\* Khavaran Road, Ghiam Dasht Town, Bahonar St., Azad University of East Tehran, Postal Code:1866113118, Phone: +98 (21) 335949500, Fax: +98 (21)33584011, Email: mhbisadi@yahoo.com