

# تأثیر ۴ هفته پیش آماده‌سازی با تمرین تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر مقادیر $TNF-\alpha$ و $TLR4$ مغز رت‌های صحرائی نر نژاد ویستار

عباس فروغی پردنجانی<sup>۱</sup>، محسن ثالثی<sup>\*</sup>، رسول رضایی<sup>۱</sup>، جواد نعمتی<sup>۱</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** التهاب در مغز با نام التهاب عصبی شناخته می‌شود و موجب افزایش ترشح  $TNF-\alpha$  (Tumor necrosis factor alpha) و فعال‌سازی مسیر  $TLR4$  (Toll-like receptor 4) می‌گردد. پژوهش حاضر با هدف تأثیر ۴ هفته پیش آماده‌سازی با تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MICT) بر مقادیر  $TNF-\alpha$  و  $TLR4$  رت‌های صحرائی نر نژاد ویستار انجام شد. **روش بررسی:** پژوهش حاضر از نظر هدف کاربردی و از نظر روش تحقیق تجربی بود. تعداد ۱۸ سر رت نر ویستار در سه گروه تمرین HIIT، تمرین MICT و گروه کنترل تقسیم شدند. برنامه HIIT شامل ۶ وهله فعالیت ۲ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵-۹۰ درصد  $VO_{2max}$  و ۵ وهله استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای و برنامه MICT با شدت معادل ۶۵ درصد  $VO_{2max}$  با مدت زمان همسان با HIIT به مدت ۴ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا گردید. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های هر سه گروه تشریح شدند و بافت‌های قشر و استراتوم مغز موش‌ها جهت سنجش  $TNF-\alpha$  و  $TLR4$  با استفاده از روش وسترن بلات، استخراج شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (ANOVA) در سطح معناداری ۰/۰۵ به کمک نرم‌افزار SPSS version 16 انجام شد. **نتایج:** نتایج پژوهش حاضر نشان داد متغیرهای  $TNF-\alpha$  و  $TLR4$  در نواحی قشر و استراتوم مغزی پس از ۴ هفته تمرین هوازی تناوبی پر شدت و تداومی با شدت متوسط تغییر معناداری نسبت به گروه کنترل نداشتند ( $p \geq 0/05$ ). **نتیجه‌گیری:** با توجه به این یافته‌ها می‌توان اظهار داشت که پیش‌آماده‌سازی با تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط اثر معناداری بر شاخص‌های التهابی در مغز ندارد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین تناوبی با شدت بالا، تمرین تداومی با شدت متوسط، پیش‌آماده‌سازی،  $TNF-\alpha$ ،  $TLR4$

**ارجاع:** فروغی پردنجانی عباس، ثالثی محسن، رضایی رسول، نعمتی جواد. تأثیر ۴ هفته پیش آماده‌سازی با تمرین تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر مقادیر  $TNF-\alpha$  و  $TLR4$  مغز رت‌های صحرائی نر نژاد ویستار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۱۰): ۶۰۰-۶۱۲

۱- بخش علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۷۷۱۲۱۹۹۸، پست الکترونیکی: mhsnsls@gmail.com، صندوق پستی: ۷۱۹۴۶۸۴۷۵۹

هستند و غالباً در شناسایی مولکول‌های مشتق از میکروب‌ها تأثیرگذار می‌باشند (۹). TLR4 (Toll-like receptor 4) یکی از گیرنده‌های اختصاصی تشخیص دهنده پاتوژن است که لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتری گرم منفی، برخی از ساختارهای محافظت شده قارچی تا پاتوژن‌های مایکوباکتریایی و بعضی از لیگاندهای داخلی را تشخیص می‌دهد (۱۰). با توجه به مطالعات گذشته، مشخص شده که یکی از عوامل بروز التهاب انجام فعالیت ورزشی حرفه‌ای و مداوم است. فعالیت ورزشی مداوم و پرشدت و فعالیت‌های ورزشی برونگرا، می‌توانند موجب ایجاد واکنش‌های التهابی قوی گردند، که توسط افزایش سایتوکاین‌های التهابی در خون و بافت‌های مختلف بدن مشخص می‌شود (۱۱،۱۲). اما از سویی دیگر، یافته‌های برخی مطالعات، از فعالیت ورزشی مداوم به عنوان یک درمان ضدالتهابی برای افراد با اختلالات التهابی مزمن یاد کرده‌اند (۱۳). تأثیر فعالیت ورزشی قبلی در ایجاد حفاظت عصبی و مقاومت نورون‌ها در برابر التهاب سیستم عصبی، پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی نامیده می‌شود، که گستره جدیدی در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر مغز به‌شمار می‌رود (۱۴). پژوهش‌های گذشته نشان دادند که پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی توسط سازوکارهای گوناگون در ایجاد حفاظت عصبی آندوژن کمک می‌کند که یکی از این سازوکارها از طریق کاهش التهاب، کاهش ICAM-1، کاهش بیان TLR2 و TLR4 و تنظیم بهتر میزان TNF- $\alpha$  در مغز و پاسخ حاد آن است (۱۵). با توجه به اینکه نقش التهابی یا ضدالتهابی فعالیت ورزشی به‌خوبی مشخص نشده اما اکثر پژوهشگران از فعالیت ورزشی به عنوان یک ابزار شناخته شده برای مقابله با وضعیت‌های مزمن التهاب‌زا یاد می‌کنند اما مکانیسم‌های آن دقیقاً مشخص نیست به‌ویژه در زمانی که تمرکز بر مسیر پیام‌رسانی TLR باشد (۱۶). در حال حاضر هیچ اجماع نظری در مورد تنظیم گیرنده‌های شبه‌تول ناشی از فعالیت ورزشی در بین پژوهشگران وجود ندارد و این ناشی از پژوهش‌های اندکی است که در مورد تأثیر انواع مختلف فعالیت‌های ورزشی بر

التهاب یک سازوکار دفاعی بدن در مقابل محرک‌های آسیب‌زا است که می‌تواند واکنش‌ها و خطوط دفاعی بدن را فعال کند (۱). التهاب در مغز با نام التهاب عصبی شناخته شده است و می‌تواند به‌وسیله سیگنال‌های ارسال شده از نورون‌های تخریب شده، ارگان‌سیم‌های مهاجم مثل ویروس‌ها و باکتری‌ها، مواد شیمیایی مضر و هم‌چنین پروتئین‌های تغییر شکل یافته (مثل پپتیدهای آمیلوئید بتا) در مغز تحریک شود (۲). التهاب عصبی موجب افزایش ترشح سایتوکاین‌هایی نظیر TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor alpha)، اینترلوکین-۱ (IL-1) و اینترلوکین-۶ (IL-6) می‌شود که خود موجب تحریک بیان مولکول‌های چسبان سلولی همانند مولکول چسبان سلولی-۱ (ICAM-1)، پی‌سلکتین و ای‌سلکتین در سلول‌های آندوتلیال می‌گردند (۳). سلول‌های میکروگلیا در پاسخ به عوامل التهابی نظیر لیپوپلی‌ساکارید باکتریایی (LPS) و اینترفرون گاما ( $\gamma$ -INF)، سایتوکاین‌های التهابی نظیر عامل نکروز دهنده تومور-آلفا (TNF- $\alpha$ )، اینترلوکین-۱ بتا (IL-1 $\beta$ )، اینترلوکین-۶، NO و ROS تولید می‌کنند (۴). TNF- $\alpha$  یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های التهابی و یک پلی‌پپتید چندوجهی و ۱۷ کیلودالتونی است و از برخی سلول‌های ایمنی همانند مونوسیت‌ها، سلول‌های کشنده طبیعی و ماکروفاژها ترشح می‌شود و موجب ایجاد ادم مغزی و نابودی نورون‌ها می‌شود و بیانگر التهاب مغزی است (۵،۶). برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهند که در بیماران مبتلا به بیماری‌های عصبی میزان عوامل التهابی در مقایسه با افراد سالم بیشتر است که خود می‌تواند دلیلی برای بروز انحطاط عصبی در این بیماران باشد (۷،۸). از طرفی بروز التهاب در مغز می‌تواند یکی از مسیرهای التهابی با نام مسیر گیرنده‌های شبه‌تول (TLRs) را فعال کند. TLRها گیرنده‌های انتقال پیام غشایی هستند که وظایف اساسی در دفاع ذاتی علیه میکروارگانسیم‌ها را دارند. این گیرنده‌های پروتئینی، در غشای سلول‌های ماکروفاژ و سلول‌های دندریتیک حاضر

آزمودنی‌های گروه‌های سه‌گانه به‌صورت کاملاً تصادفی در هر گروه ۶ عدد انتخاب شد و موش‌های انتخاب شده در ۶ قفس و هر قفس سه موش نگهداری شدند.

**شرایط نگهداری:** محیط نگهداری رت‌ها قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف در ابعاد ۲۰\*۱۵\*۱۵ سانتی‌متر بود. حیوانات در محیطی با دمای ۲۳-۲۸ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ۵۰-۴۰ درصد نگهداری شدند. در تمامی مراحل پژوهش، غذا و آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت.

**پروتکل تمرینی:** آشناسازی با تمرین به‌مدت دو هفته در گروه‌های تمرین انجام شد و به این صورت بود که رت‌ها ۵ روز در هفته و هر روز به مدت ۱۵ دقیقه روی تردمیل با سرعت ۵ تا ۱۵ متر در دقیقه و با شیب صفر درجه دویدند. جهت تعیین سرعت حداکثر سرعت دویدن و حداکثر اکسیژن مصرفی از آزمون فزاینده استاندارد بیدفورد و همکاران (۱۹۷۹) استفاده شد (۱۸) که به‌وسیله لیاندرو و همکاران (۲۰۰۷) جهت رت‌های نژاد ویستار استانداردسازی گردیده است (۱۹). آزمون شامل ۱۰ مرحله سه دقیقه‌ای است. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر بر ساعت (برابر با ۵ متر بر دقیقه) و در مراحل بعدی ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوارگردان اضافه شد. با توجه به این‌که روش آزمون وامانده‌ساز لیاندرو و همکاران (۱۹) دارای شیب متفاوت می‌باشد، در این تحقیق از شیب صفر برای تعیین سرعت حداکثر اکسیژن مصرفی استفاده شد و سرعت بدست آمده در آخرین مرحله که حیوان قادر به دویدن نبود به عنوان حداکثر سرعت دویدن حیوان استفاده شد. این آزمون در دو مرحله (پیش از شروع پروتکل تمرینی و ابتدای هفته سوم پروتکل تمرینی) اجرا گردید. در این پژوهش حداکثر سرعت دویدن در مرحله اول ۲۰ تا ۲۳ متر در دقیقه و در مرحله دوم ۲۵ تا ۲۸ متر در دقیقه بود. برنامه تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط شامل سه قسمت گرم‌کردن، تمرین اصلی و سردکردن بود. دوره تمرین به مدت ۴ هفته، هر هفته ۵ جلسه و هر جلسه ۳۲ دقیقه به طول انجامید (جدول ۱).

شاخص‌های التهابی مغز انجام شده است. همچنین اثرگذاری تمرینات HIIT بر بافت‌های عضلات اسکلتی و قلبی در افراد سالم و دارای بیماری در پژوهش‌های گذشته بررسی شده است، اما تأثیر تمرینات HIIT بر سازگاری‌های بافت مغزی کمتر بررسی شده است. در نهایت با توجه به اینکه پژوهش‌های گذشته از اهمیت فعالیت ورزشی به‌عنوان مداخله‌ای کاربردی در ایجاد حفاظت عصبی ناشی از التهاب مغزی، حمایت می‌کنند اما تاکنون اطلاعات دقیقی در مورد نوع پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی، مدت و شدت آن که بتواند موجب ایجاد بیشترین میزان حفاظت عصبی و کاهش التهاب مغزی گردد، موجود نیست و در کل می‌توان بیان کرد که سازوکار دقیق حفاظت عصبی متعاقب پیش‌آماده‌سازی به‌طور کامل مشخص نشده است. در همین راستا نتایج ضد و نقیضی گزارش شده که برخی حاکی از اثرات مثبت تمرین تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط (۱۷) و برخی حاکی از اثرات مخرب تمرین ورزشی در اثر فعال‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال و نهایتاً ترشح سایتوکاین‌های التهابی (۱۱) هستند که اهمیت پژوهش بیشتر در این زمینه را نمایان می‌کند. به‌طور کلی و با توجه به پژوهش‌های اندک و عدم قطعیت در این زمینه پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر مقادیر پروتئین‌های TNF- $\alpha$ ، TLR4 در دو ناحیه استراتوم و قشر مغز رت‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام گرفته است.

## روش بررسی

### طرح پژوهش

پژوهش حاضر از نظر هدف کاربردی و از نظر روش تحقیق تجربی می‌باشد که در دو گروه تجربی و یک گروه کنترل انجام شد. نمونه آماری پژوهش حاضر را ۱۸ سر رت نر هشت هفته‌ای نژاد ویستار تشکیل دادند. این تعداد نمونه به‌طور تصادفی در سه گروه تمرین هوازی تناوبی پر شدت (۶ سر)، تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط (۶ سر) و گروه کنترل (۶ سر) قرار گرفتند. روش تصادفی‌سازی به این صورت بود که در ابتدا موش‌ها شماره‌گذاری شدند سپس برای انتخاب

| تمرین تناوبی با شدت بالا                          | تمرین تداومی با شدت متوسط   |
|---|---|
| تعداد جلسه تمرین در هفته                          | ۵ جلسه در هفته  |
| تعداد دوره تمرینی در یک جلسه                      | ۱ دوره تمرین تداومی با شدت متوسط  |
| شدت تمرین (% vo2max)                              | شدت بالا: ۸۵ تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (معادل ۲۲ متر در دقیقه در دو هفته اول و ۲۵ متر در دقیقه در دو هفته دوم بود) |
| مدت تمرین (دقیقه)                                 | گرم کردن: ۵ دقیقه (با سرعت ۱۲ تا ۱۵ متر در دقیقه)<br>تمرین اصلی: ۲۲ دقیقه<br>سرد کردن: ۵ دقیقه                          |
| گرم کردن: ۵ دقیقه (با سرعت ۱۲ تا ۱۵ متر در دقیقه) | گرم کردن: ۵ دقیقه (با سرعت ۱۲ تا ۱۵ متر در دقیقه)   |
| تمرین اصلی: ۲۲ دقیقه                              | تمرین اصلی: ۲۲ دقیقه  |
| سرد کردن: ۵ دقیقه                                 | سرد کردن: ۵ دقیقه   |

حل شد، سپس اسیدفسفوریک قطره قطره به آن اضافه شد. سپس آب را قطره قطره اضافه شد تا محلول حاصل به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید. محلول تهیه شده با کاغذ صافی دو بار صاف شده و در بطری تیره داخل یخچال نگهداری شد.

پ) تهیه غلظتهای مختلف BSA برای رسم منحنی استاندارد: از BSA به عنوان پروتئین استاندارد برای اندازه‌گیری میزان پروتئین استفاده شد. غلظت‌های ۰/۵، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۱۲۵ از پروتئین استاندارد با افزودن نصف حجم آب به غلظت قبلی ایجاد شد.

ت) آماده‌سازی نمونه: نمونه‌های پروتئینی تهیه شده قبل از ریخته شدن در چاهک، هم غلظت شده و با بافر نمونه مخلوط و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. این بافر موجب سنگین شدن، احیا و خطی شدن پروتئین‌ها می‌شود علاوه بر آن برموفنول بلو موجود در بافر طریقه حرکت پروتئین‌ها را در ژل نشان می‌دهد.

ث) ساخت الکتروفورز بر روی ژل SDS page: ژل SDS page از پلی‌آکریل آمید ساخته شد که بیس آکریل‌آمید این پلیمر را به‌صورت عرضی به هم مرتبط کرد، به‌گونه‌ای که منافذ با قطر معین و یکسان در ژل حاصل شد. پلیمریزاسیون ژل با افزودن آمونیوم پرسولفات شروع شده و با اضافه کردن tetramethylethylenediamine (TEMED) موجب تشکیل

روش بافت‌برداری: برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل آزمودنی‌ها در حین اجرای برنامه تمرینی، بافت‌برداری در ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس با استفاده از گیوتین سر جدا شده و بافت مغز جدا گردید و با استفاده از دستگاه Brain Matrix بافت‌های قشر و استراتوم جدا گردید و بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند. سنجش میزان پروتئین TNF- $\alpha$  و TLR4: از روش وسترن-بلات برای سنجش میزان پروتئین TNF- $\alpha$  و TLR4 استفاده شد که شامل مراحل زیر بود:

الف) لیز کردن بافت: برای لیز کردن بافت‌ها از Lysis buffer استفاده شد و سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ مدل Eppendorph 5415 R در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع شفاف (Supernatant) حاوی پروتئین استخراج و در فریزر با دمای ۲۰- نگهداری شد.

ب) تعیین غلظت پروتئین به‌وسیله بردفورد: برای ساخت محلول بردفورد کوماسی بلو کاملاً در الکل به‌مدت ۲۰ دقیقه

رادیکال‌های آزاد از APS شده که این رادیکال‌ها باعث پلیمریزاسون می‌شد.

(ج) روش انجام آزمایش و ساختن ژل پایین به بالا: برای دورگیری ژل، ۱۰۰۰ میکرولیتر از ژل پایین کاملاً فاقد تمد را برداشته و به آن ۴ میکرولیتر تمد اضافه شد. سپس محلول حاصل را به سرعت از گوشه‌هایی از فضای دو ژل ریخته، بعد از دورگیری ۱۵ دقیقه، فرصت داده تا کاملاً بگیرد و سپس محلول ژل کامل به همراه تمد را برداشته به وسیله سمپلر در فضای بین دو شیشه ریخته به طوری که تا دوسوم شیشه‌ها پر شد. سپس مقداری اتانول اشباع شده اسپری کرده تا مانع خشک شدن ژل شود و به علت سنگینی حاصل از آن سطح ژل صاف شد. حدود ۴۵ دقیقه برای پلیمریزاسیون ژل پایین لازم است و در این مرحله ژل بالا ۵ درصد آماده شد.

(چ) الکتروفورز بر ژل SDS page: شیشه‌های حاوی ژل، درون تانک الکتروفورز قرار داده شد. بافر الکتروفورز اضافه گردید و سپس ابتدا مارکر پروتئین رنگی به میزان دو میکرولیتر در چاهک اول و نمونه‌ها در سایر چاهک‌ها به میزان ۱۲ میکرولیتر توسط سرنگ همپلتون لود شد. سپس الکترودها را به دستگاه مولد جریان وصل کرده و تا رسیدن پروتئین‌ها به ژل پایین، حدود ۴۵ دقیقه جریان با ولتاژ ۱۲۰ برقرار شد.

(ح) وسترن بلات یا ایمونوبلاتینگ: ایمونوبلاتینگ روشی است که طی آن باندهای پروتئینی جدا شده توسط ژل الکتروفورز به غشایی از جنس نیترو سلولوز یا PVDF انتقال یافته و سپس به وسیله آنتی‌بادی اختصاصی پروتئین‌های روی آن شناسایی می‌شود. انتقال نمونه‌ها از ژل به کاغذ توسط جریان الکتریکی صورت گرفت.

(خ) بعد از اتمام الکتروفورز ژل به آرامی از شیشه‌ها جدا شده و در بافر انتقال قرار گرفت. سپس کاغذ PVDF به اندازه ژل بریده شده و برای فعال شدن به مدت ۱ دقیقه در متانول شیک شده و با آب مقطر شسته شده و درون بافر انتقال قرار گرفت. در حین قرار دادن کاغذ صافی روی کاغذ PVDF و کاغذ PVDF روی ژل، حباب‌هایی ایجاد شده توسط حرکت آهسته اسپیسر روی کاغذ صافی خارج شد. در نهایت دستگاه و با ولتاژ

۱۲۰ میلی‌ولت به مدت یک‌ونیم ساعت به منبع مولد جریان متصل گشته و پروتئین‌های موجود در ژل به کاغذ منتقل شدند.

(د) مرحله بلاکینگ: در مرحله بلاکینگ، محلول Blocking به منظور پوشاندن کاغذ برای جلوگیری از واکنش غیر اختصاصی آنتی‌بادی اولیه به کار می‌رود.

(ذ) مرحله انکوبه کردن با آنتی‌بادی اولیه و ثانویه: پس از پایان یافتن زمان بلاکینگ کاغذ با آنتی‌بادی اولیه‌ای که با محلول بلاکینگ به مقدار معین آنتی‌بادی اولیه (sc- $\beta$ -actin (300:1, 47778 مخلوط و رقیق شده بود، به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوبه شد. سپس کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه با غلظت (۱:۱۰۰۰) برای آنتی‌بادی‌های اولیه به مدت یک ساعت و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق شیک شد.

(ر) مرحله آشکارسازی: پس از شست‌وشوی نهایی مرحله قبل آب اضافی کاغذ PVDF روی سلفون قرار می‌گرفت و محلول کمولومینسانس با سمپلر روی نواحی باند مورد نظر ریخته شد. کاغذ در سلفون گذاشته شد و درون کاست فیلم قرار داده شد.

(ز) مرحله ظهور فیلم در تاریک خانه) برای مشاهده باند پروتئینی مورد نظر فیلم عکاسی را بر کاغذ دارای پوشش نایلونی گذاشته و در کاست بسته شد. مدت زمان باقی ماندن فیلم در کاست برای آنتی‌بادی‌های TNF- $\alpha$  و TLR4، ۶۰ تا ۸۰ ثانیه و در مورد آنتی‌بادی  $\beta$ -actin 10 ثانیه بود. سپس در تشتک آب فیلم را به مدت ۲۰ ثانیه شسته و بعد از آن به مدت ۲۰ ثانیه در محلول ثبوت تکان داده شد. در نهایت مجدداً فیلم را با آب جاری شسته و با گیره آویزان شد تا خشک شود.

### تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از روش آمار توصیفی شامل: فراوانی، میانگین و انحراف استاندارد، برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک و برای تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و به کمک نرم‌افزار SPSS version 16 استفاده شد.

### ملاحظات اخلاقی

در پژوهش حاضر برای کار با حیوانات از ضوابط اخلاقی نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کشور استرالیا

استفاده گردید، هم‌چنین این پژوهش توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به شماره IR-SUMS.REC.1399.905 تصویب شد.

استفاده گردید، هم‌چنین این پژوهش توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به شماره IR-SUMS.REC.1399.905 تصویب شد.

استفاده گردید، هم‌چنین این پژوهش توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به شماره IR-SUMS.REC.1399.905 تصویب شد.

استفاده گردید، هم‌چنین این پژوهش توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به شماره IR-SUMS.REC.1399.905 تصویب شد.

## نتایج

مقادیر پیش‌آزمون و پس‌آزمون وزن موش‌های صحرائی در هر سه گروه مورد مطالعه در جدول ۲ ذکر شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه نشان داد متغیر TNF- $\alpha$  در نواحی قشر ( $p=0/113$ ) و استراتوم مغزی

جدول ۲: وزن موش‌های صحرائی (g) در گروه‌های مورد مطالعه (n=6)

| گروه  | پیش‌آزمون<br>انحراف معیار $\pm$ میانگین | پس‌آزمون<br>انحراف معیار $\pm$ میانگین |
|-------|---|--|
| کنترل | ۲۵۰/۶۶ $\pm$ ۶/۷۷                       | ۳۰۰/۶۶ $\pm$ ۹/۰۰                      |
| HIIT  | ۲۴۷/۰۰ $\pm$ ۱۵/۵۹                      | ۳۰۵/۶۶ $\pm$ ۲۲/۳۸                     |
| MICT  | ۲۴۶/۰۰ $\pm$ ۵/۴۴                       | ۳۲۹/۶۶ $\pm$ ۲۰/۹۸                     |

HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا؛ MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط

برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد که نتایج حاکی از نرمال بودن توزیع داده‌ها داشت و اجازه استفاده از آزمون پارامتریک آنالیز واریانس یک‌راهه به محقق داده شد. شاخص‌های توصیفی مربوط به متغیرهای TNF- $\alpha$  و TLR4 در نواحی قشر و استراتوم مغزی در جدول ۳ ذکر شده است.

جدول ۳: شاخص‌های توصیفی متغیرهای TNF- $\alpha$  و TLR4 در گروه‌های HIIT، MICT و کنترل

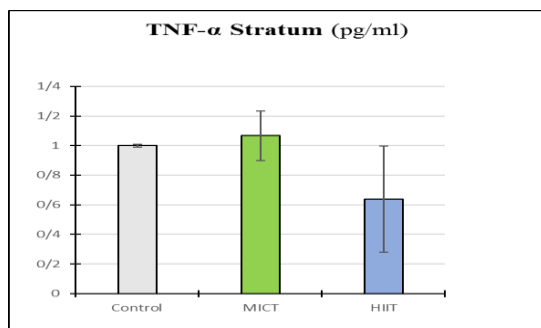
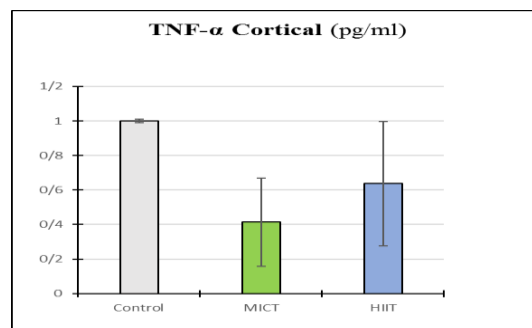
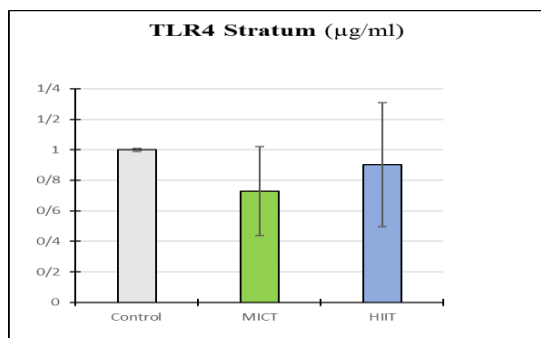
| گروه  | متغیر         | موقعیت   | انحراف معیار $\pm$ میانگین | کمینه | بیشینه |
|-------|---------------|----------|----------------------------|-------|--------|
| HIIT  | TNF- $\alpha$ | قشر مغزی | ۰/۳۶۲ $\pm$ ۰/۶۳۸          | ۰/۱۵۰ | ۱/۶۰۰  |
|       | (pg/ml)       | استراتوم | ۱/۱۲۰ $\pm$ ۰/۲۰۹          | ۰/۸۶۶ | ۱/۳۲۶  |
|       | TLR4          | قشر مغزی | ۰/۹۲۱ $\pm$ ۰/۱۵۰          | ۰/۷۴۳ | ۱/۰۷۶  |
|       | ( $\mu$ g/ml) | استراتوم | ۰/۹۰۱ $\pm$ ۰/۴۰۶          | ۰/۵۳۴ | ۱/۴۰۹  |
| MICT  | TNF- $\alpha$ | قشر مغزی | ۰/۲۵۶ $\pm$ ۰/۴۱۴          | ۰/۱۲۹ | ۰/۷۰۳  |
|       | (pg/ml)       | استراتوم | ۱/۰۶۷ $\pm$ ۰/۱۶۷          | ۰/۸۵۵ | ۱/۳۲۶  |
|       | TLR4          | قشر مغزی | ۱/۰۳۹ $\pm$ ۰/۰۹۵          | ۰/۹۷۴ | ۱/۱۶۲  |
|       | ( $\mu$ g/ml) | استراتوم | ۰/۷۳۰ $\pm$ ۰/۲۹۲          | ۰/۴۹۸ | ۱/۱۰۵  |
| کنترل | TNF- $\alpha$ | قشر مغزی | ۱/۰۰ $\pm$ ۰/۰۱            | ۱/۰۰  | ۱/۰۰   |
|       | (pg/ml)       | استراتوم | ۱/۰۰ $\pm$ ۰/۰۱            | ۱/۰۰  | ۱/۰۰   |
|       | TLR4          | قشر مغزی | ۱/۰۰ $\pm$ ۰/۰۱            | ۱/۰۰  | ۱/۰۰   |
|       | ( $\mu$ g/ml) | استراتوم | ۱/۰۰ $\pm$ ۰/۰۱            | ۱/۰۰  | ۱/۰۰   |

HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا؛ MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط؛ TNF- $\alpha$ : فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا؛ TLR4: گیرنده شبه‌تول ۴

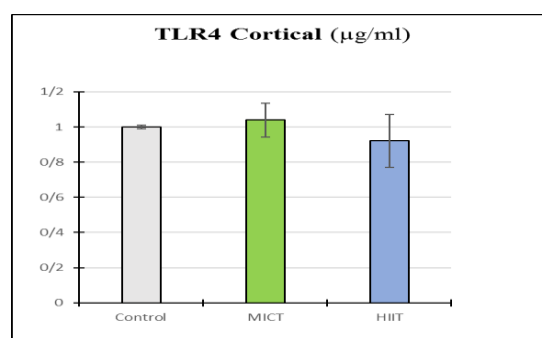
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه در جدول ۴ ذکر شده است.

جدول ۴: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه

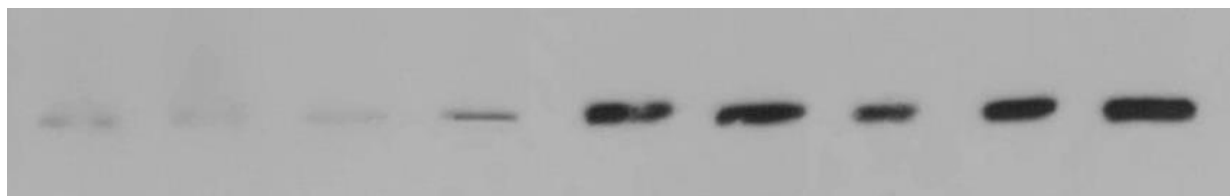
| متغیر         | موقعیت   | تغییرات    | F     | Sig   |
|---------------|----------|------------|-------|-------|
| TNF- $\alpha$ | قشر مغزی | بین گروهی  | ۲/۵۳۶ | ۰/۱۱۳ |
|               |          | درون گروهی | --    | --    |
|               | استراتوم | بین گروهی  | ۰/۹۰۶ | ۰/۴۲۵ |
|               |          | درون گروهی | --    | --    |
| TLR4          | قشر مغزی | بین گروهی  | ۲/۰۵۹ | ۰/۱۶۲ |
|               |          | درون گروهی | --    | --    |
|               | استراتوم | بین گروهی  | ۱/۳۳۲ | ۰/۲۹۳ |
|               |          | درون گروهی | --    | --    |

TNF- $\alpha$ : فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا؛ TLR4: گیرنده شبه‌تول ۴نمودار ۲: بررسی میزان TNF- $\alpha$  در استراتوم مغز گروه‌های پژوهشنمودار ۱: بررسی میزان TNF- $\alpha$  در قشر مغز گروه‌های پژوهش

نمودار ۴: بررسی میزان TLR4 در استراتوم مغز گروه‌های پژوهش



نمودار ۳: بررسی میزان TLR4 در قشر مغز گروه‌های پژوهش

شکل ۱: باندهای وسترن بلات مربوط به فاکتور TNF- $\alpha$  در استراتوم مغز گروه‌های پژوهش

شکل ۲: باندهای وسترن بلات مربوط به فاکتور TNF- $\alpha$  در قشر مغزی گروه‌های پژوهش

شکل ۳: باندهای وسترن بلات مربوط به فاکتور TLR4 در استراتوم گروه‌های پژوهش



شکل ۴: باندهای وسترن بلات مربوط به فاکتور TLR4 در استراتوم گروه‌های پژوهش

سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نظیر TNF- $\alpha$  را تولید می‌کنند و این بیانگر نقش اساسی ماکروفاژها در بروز پاسخ‌های التهابی توسط فعال‌سازی TLR4 به وسیله LPS است (۲۳). در راستای تأثیر تمرین‌های HIIT و MICT بر شاخص‌های التهابی، نتایج ضد و نقیض است. پروایز و هافمن-گویتز (۲۰۱۲)، با بررسی تغییرات سایتوکاین‌های التهابی در پاسخ به تمرینات شدید در موش‌های ماده دریافتند که میزان TNF- $\alpha$  پس از تمرین شدید بر روی تردمیل کاهش پیدا کرد (۲۴). در مقابل مارتین-کوردرو و همکاران (۲۰۱۱)، افزایش مقادیر TNF- $\alpha$  را بعد از تمرین هوازی در نمونه‌های حیوانی دارای اختلال متابولیکی مشاهده کردند (۲۵). مختارزاده و همکاران (۲۰۱۷)، در پژوهشی نشان دادند که تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا می‌تواند موجب کاهش TNF- $\alpha$  در زنان مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس گردد (۲۶). اکبری و همکاران (۲۰۱۹)، در پژوهش خود نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین HIIT و MICT موجب کاهش معنادار TNF- $\alpha$  و IL-10 سرمی در رت‌های نر چاق گردید (۲۷). احتمالاً دلیل اصلی وجود تفاوت در نتایج این پژوهش‌ها با پژوهش حاضر در این است که در بیشتر این پژوهش‌ها از آزمودنی‌های مبتلا به بیماری که شرایط بروز التهاب در آن‌ها

## بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر مقادیر پروتئین‌های TNF- $\alpha$ ، TLR4 در دو ناحیه استراتوم و قشر مغز رت‌های صحرائی نر انجام گردید. نتایج این پژوهش حاکی از عدم تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر مقادیر پروتئین‌های TNF- $\alpha$ ، TLR4 در دو ناحیه استراتوم و قشر مغز رت‌های صحرائی نر بود. ارتباط TLR4 با TNF- $\alpha$  با بروز التهاب و با واسطه آبخار پیام‌رسانی TLR4 توسط اتصال لیگاند لیپوپولی‌ساکارید (LPS) به دومین خارج سلولی TLR4 آغاز می‌گردد (۲۱). این آبخار با میانجی‌گری MyD88 در پیام‌رسانی TLR4 که عمدتاً در غشاء‌های پلاسمایی روی می‌دهد، انجام می‌گیرد و شامل فسفوریلاسیون کینازهای مرتبط با IL-1R، ارتباط با گیرنده TNF- $\alpha$  و سیگنال‌های پایین دست می‌باشد که در نهایت منجر به فعال‌سازی NF- $\kappa$ B و القاء واسطه‌های پیش‌التهابی همانند TNF- $\alpha$  و IL-6 می‌گردد (۲۲). همچنین مشخص شده که ماکروفاژها سطوح بالایی از TLR4 را بیان می‌کنند و این سلول‌ها موقعی که با LPS فعال شوند



فراهم بوده استفاده شده و فعالیت ورزشی موجب سرکوب التهاب در این افراد شده که در پژوهش حاضر با توجه به استفاده از رت‌های سالم به عنوان جامعه آماری این کاهش در میزان TNF- $\alpha$  دیده نشد. TNF- $\alpha$  یک سایتوکاین پیش‌التهابی است که در بروز التهاب سیستمیک نقش اساسی ایفا می‌کند و قادر به القای تب، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، سرکوب تومورزایی، تکثیر ویروس و پاسخ به عفونت است (۷). افزایش بافت چربی موجب افزایش تولید آدیپوکاین‌های پیش‌التهابی و بالعکس کاهش بافت چربی موجب کاهش میزان سایتوکاین‌های ضدالتهابی می‌گردد. با توجه به این رابطه می‌توان بیان کرد که ورزش منظم توانایی این را دارد که با کاهش توده چربی حتی بدون کاهش وزن موجب کاهش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نظیر TNF- $\alpha$  گردد (۲۸). از سویی گیرنده‌های TLR نقش اساسی را در سیستم ایمنی بدن توسط شناخت و شروع یک پاسخ التهابی به سلول‌های خطرناک ایفا می‌کنند که خود موجب رونویسی از سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها می‌شود. فعال شدن TLRها می‌تواند منجر به افزایش سطوح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نظیر TNF- $\alpha$  گردد. پژوهش‌های گوناگون گزارش کردند که تمرین‌های ورزشی منظم موجب کاهش بیان گیرنده‌های TLR2 و TLR4 بر روی مونوسیت‌ها می‌گردد و با توجه به اینکه این گیرنده‌ها می‌توانند بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی را آغاز نمایند، نتیجه مثبتی در پیشگیری از بروز التهاب داشته باشند (۲۹). در همین راستا اکبری و همکاران (۲۰۱۹)، مکانیسم اصلی کاهش TNF- $\alpha$  را القای TLR4 بیان کردند (۲۷). طبق این مسیر فعال‌سازی TLR4 با اسیدهای چرب آزاد موجب تحریک سیگنالینگ NF- $\kappa$ B و بیان TNF- $\alpha$  در آدیپوسیت‌ها می‌گردد (۳۰). در نتیجه احتمالاً یکی از علت‌های سرکوب TNF- $\alpha$  ناشی از تمرین ورزشی در موش‌های چاق تنظیم کاهشی TLR4 باشد (۲۷). همچنین تیمرمان و همکاران (۲۰۰۸)، در پژوهشی نشان دادند که تمرین‌های ورزشی منظم موجب کاهش مونوسیت‌های در گردش می‌گردد و در نتیجه خود موجب کاهش عوامل التهابی می‌گردد (۳۱). شاید اصلی‌ترین علت در عدم کاهش TLR4 و TNF- $\alpha$  در پژوهش

حاضر مدت زمان پژوهش و همچنین استفاده از موش‌های جوان و با وزن نرمال باشد. همچنین یکی دیگر از علل احتمالی عدم وجود تفاوت معنادار مدت زمان تمرین بود. در پژوهش‌های قبلی عموماً ۸ هفته تمرین اجرا گردید و در این پژوهش به خاطر بررسی اجرای تمرین در مدت زمان کمتر و بررسی اثرات این نوع تمرینات از ۴ هفته استفاده گردید که شاید یکی از دلایل عدم اثرگذاری تمرین بوده است. همچنین برخی پژوهش‌های گذشته نشان دادند که پیش‌آماده‌سازی با فعالیت ورزشی توسط سازوکارهای گوناگون در ایجاد حفاظت عصبی آندوژن کمک می‌کند. این سازوکارها عبارتند از: (۱) تنظیم افزایشی بیان نوروتروفین‌ها مثل BDNF، NGF و IGF-1؛ (۲) کاهش التهاب، کاهش ICAM-1، کاهش بیان TLR2 و TLR4 و تنظیم بهتر میزان TNF- $\alpha$  در مغز و پاسخ حاد آن؛ (۳) افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی مغز و کاهش استرس اکسیداتیو که گزارش شده در کاهش حجم انفارکت و نتایج نورولوژیک پس بروز سکته مغزی اثرگذار است؛ (۴) بهبود متابولیسم مغزی و کاهش اختلالات متابولیک مغزی بر اثر افزایش بیان GLUT-1 و GLUT-3، افزایش فعالیت AMPK و افزایش فعالیت آنزیم‌های گلیکولیزی مهم مغزی مثل LDH و PFK؛ (۵) کاهش آپوپتوزیس و افزایش بقاء نورونی پس از آسیب ایسکمیک، خونرسانی مجدد، که وابسته به نسبت عوامل پیش‌آپوپتوزی همچون Bax، Bad، Bak و AIF به ضدآپوپتوزی همچون Bcl-2، HSP-70 و HSP-27 و همچنین کارایی بهتر میتوکندری‌ها به‌عنوان دروازه‌بان مرگ یا بقاء سلولی؛ (۶) گسترش شبکه مویرگی و شریانی مغز بر اثر افزایش چکالی عروق مغزی، آنژیوژنز و آرتریوژنز در قسمت‌های مختلف مغزی؛ (۷) تقویت سد خونی-مغزی (۱۴). به‌طور کلی و با توجه به نتایج پژوهش‌های گذشته به‌نظر می‌رسد تمرینات هوازی عامل اصلی و بالقوه در تغییرات مربوط به TNF- $\alpha$  خصوصاً در اختلالات متابولیکی باشند (۳۲). اما از سوی دیگر پاسخ‌های متابولیکی در طی تمرینات تناوبی، شدیدتر از پاسخ‌های تمرین‌های تداومی و متوالی و با شدت متوسط است که همین امر موجب می‌گردد تا تغییرات TNF- $\alpha$  متعاقب تمرینات تناوبی قوی‌تر از تغییرات آن پس از

انجام تمرین ورزشی چه با شدت بالا و چه با شدت متوسط نمی‌تواند عاملی مؤثر بر افزایش شاخص‌های التهابی در مغز باشد.

### سپاس‌گزاری

این پژوهش برگرفته از رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شیراز می‌باشد. از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

حامی مالی: دانشگاه شیراز

تعارض در منافع: وجود ندارد.

تمرینات هوازی با شدت متوسط باشد (۳۳). بنابراین به احتمال فراوان تمرینات تناوبی همانند تمرینات تداومی طولانی مدت با تغییر در میزان دسترسی به مواد غذایی در طی ورزش و ایجاد کسر انرژی، مسیرهای متابولیکی مؤثر در تنظیم بیان  $TNF-\alpha$  را فعال کرده و از این مسیر موجب تعدیل و تنظیم این سایتوکاین می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به این یافته‌ها می‌توان اظهار داشت که افزایش  $TNF-\alpha$  و TLR4 خود بیانگر افزایش التهاب در مغز است و

### References:

- 1-Cuevas AG, Ong AD, Carvalho K, Ho T, Chan SW, Allen J, Chen R, Rodgers J, Biba U, Williams DR. *Discrimination and Systemic Inflammation: A Critical Review and Synthesis*. Brain Behav Immun 2020; 89: 465-79.
- 2-Enache D, Pariante CM, Mondelli V. *Markers of Central Inflammation in Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Studies Examining Cerebrospinal Fluid, Positron Emission Tomography and Post-Mortem Brain Tissue*. Brain Behav Immun 2019; 81: 24-40.
- 3-Khan J, Noboru N, Young A, Thomas D. *Pro and Anti-Inflammatory Cytokine Levels (TNF-A, IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10) In Rat Model of Neuroma*. Pathophysiology 2017; 24(3): 155-9.
- 4-Nakagawa Y, Chiba K. *Role of Microglial M1/M2 Polarization in Relapse and Remission of Psychiatric Disorders and Diseases*. Pharmaceuticals 2014; 7(12): 1028-48.
- 5- You K, Gu H, Yuan Z, Xu X. *Tumor Necrosis Factor Alpha Signaling and Organogenesis*. Front Cell Dev Biol 2021; 9: 1-9.
- 6- Ye L, Huang Y, Zhao L, Li Y, Sun L, Zhou Y, Qian G, Zheng JC. *IL-1 $\beta$  And TNF-A Induce Neurotoxicity Through Glutamate Production: A Potential Role for Neuronal Glutaminase*. J Neurochem 2013; 125(6): 897-908.
- 7-Arroyo E, Laudato JA, Gibson BM, Dulaney CS, Vaughan JA, Followay BN, Glickman EL, Jajtner AR. *Tumor Necrosis Factor-A, TNF Receptor, and Soluble TNF Receptor Responses to Aerobic Exercise in the Heat*. Cytokine X 2020; 2(3): 100033.
- 8-Norouzian M, Rajabi H, Panahzadeh F. *The Effect of 6 Weeks Tai Chi Training on TNF-A, BDNF Serum Levels and Cognitive and Physical Function in Women with Stroke*. J Spo Exerc Physiol. 2017; 10(1): 11-19. [Persian]

- 9- Soltani N, Marandi SM, Kazemi M, Esmaeil N. *Combined All-Extremity High-Intensity Interval Training Regulates Immunometabolic Responses Through Toll-Like Receptor 4 Adaptors and A20 Downregulation in Obese Young Females*. *Obes Facts* 2020; 13(3): 415-31.
- 10- Park JW, Kim KH, Choi JK, Park TS, Song KD, Cho BW. *Regulation of Toll-Like Receptors Expression in Muscle Cells by Exercise-Induced Stress*. *Anim Biosci* 2021; 34(10): 1590-99.
- 11- Soori R, Vahdat H, Shabkhiz F, Ababzadeh S, Eslami Farsani M. *Effects of Aerobic Exercise and Rosemary Extracts on Inflammatory Factors in Cerebellar of Male Old Rats*. *Qom Univ Med Sci J* 2020; 14(4): 11-21. [Persian]
- 12- Hovanloo F, Arefirad T, Ahmadizad S. *Effects of Sprint Interval and Continuous Endurance Training on Serum Levels of Inflammatory Biomarkers*. *J Diabetes Metab Disord* 2013; 12(1): 1-5.
- 13- Timmons BW. *Paediatric Exercise Immunology: Health and Clinical Applications*. *Exerc Immunol Rev* 2005; 11(2005): 108-44.
- 14- Wang X, Zhang M, Feng R, Li WB, Ren SQ, Zhang J, Zhang F. *Physical Exercise Training And Neurovascular Unit In Ischemic Stroke*. *Neuroscience* 2014; 271: 99-107.
- 15- Dornbos III D, Ding Y. *Mechanisms of Neuronal Damage and Neuroprotection Underlying Ischemia/Reperfusion Injury after Physical Exercise*. *Curr Drug Targets* 2012; 13(2): 247-62.
- 16- Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. *The Anti-Inflammatory Effects of Exercise: Mechanisms and Implications for the Prevention and Treatment of Disease*. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(9): 607-15.
- 17- Rezaei R, Nasoohi S, Haghparast A, Khodaghohi F, Bigdeli MR, Nourshahi M. *High Intensity Exercise Preconditioning Provides Differential Protection Against Brain Injury Following Experimental Stroke*. *Life Sci* 2018; 207: 30-35.
- 18- Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. *Maximum Oxygen Consumption of Rats and Its Changes with Various Experimental Procedures*. *J Appl Physiol* 1979; 47(6): 1278-83.
- 19- Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-De-Castro R. *A Program of Moderate Physical Training for Wistar Rats Based on Maximal Oxygen Consumption*. *J Strength Cond Res*. 2007; 21(3): 751-6.
- 20- Ramez M, Rajabi H, Ramezani F, Naderi N, Darbandi-Azar A, Nasirinezhad F. *The Greater Effect of High-Intensity Interval Training versus Moderate-Intensity Continuous Training on Cardioprotection against Ischemia-Reperfusion Injury through Klotho Levels and Attenuate of Myocardial TRPC6 Expression*. *BMC Cardiovasc Disord* 2019; 19(1): 118.
- 21- Sandoghchian Shotorbani S, Espotin A, Mahmoudi J, Dehghan A, Sadigh Eteghad S. *Effects of HSP70 on TLR4 Expression by Increasing MAPK and NF- $\kappa$ B Signaling Pathways in Periodontitis*. *J Mashhad Dent Sch* 2021; 45(1): 63-9. [Persian]
- 22- Kovach MA, Singer B, Martinez-Colon G, Newstead MW, Zeng X, Mancuso P, et al. *IL-36 $\gamma$  is a Crucial Proximal Component of Protective Type-1-Mediated Lung Mucosal Immunity In Gram-Positive*

- and-Negative Bacterial Pneumonia.* Mucosal Immunol 2017; 10(5): 1320-34.
- 23- Huynh J, Scholz GM, Aw J, Kwa MQ, Achuthan A, Hamilton JA, Reynolds EC. *IRF6 Regulates the Expression of IL-36 $\gamma$  By Human Oral Epithelial Cells In Response to Porphyromonas Gingivalis.* J Immunol 2016; 196(5): 2230-8.
- 24- Pervaiz N, Hoffman-Goetz L. *Immune Cell Inflammatory Cytokine Responses Differ Between Central and Systemic Compartments in Response to Acute Exercise in Mice.* Exerc Immunol Rev 2012; 18: 142-57.
- 25- Martin-Cordero L, García JJ, Hinchado MD, Bote E, Manso R, Ortega E. *Habitual Physical Exercise Improves Macrophage IL-6 and TNF-A Deregulated Release in the Obese Zucker Rat Model of the Metabolic Syndrome.* Neuroimmunomodulation 2011; 18(2): 123-30.
- 26- Mokhtarzade M, Ranjbar R, Majdinasab N. *Acute and Chronic Effect of Upper and Lower Body Interval Training on Tumor Necrosis Factor (Tnfa) and Leptin Concentration in Women with MS.* Stud Med Sci 2017; 28(5): 332-42.
- 27- Akbari A, Mohebbi H, Khalafi M, Moghaddami K. *The Effect of Two Types of High Intensity and Moderate Intensity Continuous Training on Serum Levels of TNF-A and IL-10 in Obese Male Rats.* J Appl Health Stud Sport Physiol 2019; 6(1): 86-93. (Persian)
- 28- Mujumdar PP, Duerksen-Hughes PJ, Firek AF, Hessinger DA. *Long-Term, Progressive, Aerobic Training Increases Adiponectin in Middle-Aged, Overweight, Untrained Males and Females.* Scand J Clin Lab Invest 2011; 71(2): 101-7.
- 29- Stewart LK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, Mcfarlin BK, et al. *Influence of Exercise Training and Age on CD14+ Cell-Surface Expression of Toll-Like Receptor 2 and 4.* Brain Behav Immun 2005; 19(5): 389-97.
- 30- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. *TLR4 Links Innate Immunity And Fatty Acid-Induced Insulin Resistance.* J Clin Invest 2006; 116(11): 3015-25.
- 31- Timmerman KL, Flynn MG, Coen PM, Markofski MM, Pence BD. *Exercise Training-Induced Lowering of Inflammatory (CD14+ CD16+) Monocytes: A Role in the Anti-Inflammatory Influence of Exercise.* J Leukocyte Biol 2008; 84(5): 1271-8.
- 32- White LJ, Castellano V, Mc Coy SC. *Cytokine Responses to Resistance Training In People with Multiple Sclerosis.* J Sports Sci. 2006; 24(8): 911-4.
- 33- Hotamisligil GS. *Mechanisms of TNF-A-Induced Insulin Resistance.* Exp Clin Endocrinol Diabetes. 1999; 107(2): 119-25.

## Effect of 4 Weeks Preconditioning with High Intensity Interval Training and Moderate Intensity Continuous Training on Brain Levels of TNF-A and TLR4 in Male Wistar Rats

Abbas Foroughi Pordanjani<sup>1</sup>, Mohsen Salesi<sup>\*1</sup>, Rasoul Rezaei<sup>1</sup>, Javad Nemati<sup>1</sup>

### Original Article

**Introduction:** Inflammation in the brain is known as neuroinflammation and increases TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor alpha) secretion and activates the TLR4 (Toll-like receptor 4) pathway. The aim of this study was to evaluate the effect of 4 weeks preconditioning with high intensity intermittent training (HIIT) and moderate intensity training (MICT) on TNF- $\alpha$  and TLR4 levels in male Wistar rats.

**Methods:** The current research was an experimental study. 18 male Wistar rats were divided into three groups: high intensity intermittent training (6 heads), continuous moderate intensity training (6 heads) and the control group (6 heads). HIIT program included 6 stages of 2-minute activity with intensity of 85-90% VO<sub>2</sub>max and 5 stages of active rest for 2 minutes and MICT program with intensity of 65% VO<sub>2</sub>max with the same duration as HIIT for 4 weeks and 5 days per week was implemented. 48 hours after the last training session, rats were dissected and cortical tissues and layers of mice were extracted for TNF- $\alpha$  and TLR-4 using western blotting. Data analysis was performed using ANOVA test at a significance level of 0.05 With the help of SPSS version 16 software.

**Results:** The results of the present study showed that TNF- $\alpha$  and TLR4 in the cortex and stratum cerebral areas after 4 weeks of high-intensity and moderate-intensity intermittent aerobic exercise did not change significantly compared to the control group ( $p \geq 0.05$ ).

**Conclusion:** According to these findings, it can be stated that exercise with high or moderate intensity cannot be an effective factor in increasing inflammatory markers in the brain.

**Keywords:** HIIT, MICT, Preconditioning, TNF- $\alpha$ , TLR4.

**Citation:** Foroughi Pordanjani A, Salesi M, Rezaei R, Nemati J. **Effect of 4 Weeks Preconditioning with High Intensity Interval Training and Moderate Intensity Continuous Training on Brain Levels of TNF-A and TLR4 in Male Wistar Rats.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2023; 30(10): 6000-6012.

<sup>1</sup>Department of Sports Science, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 09177121998, email: mhsnsls@gmail.com