

اثر دو الگوی تمرین با نسبت روزهای استراحت به تمرین متفاوت و مصرف مکمل عسل طبیعی بر غلظت اینترلوکین-۶ سرم و بیان آن در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر نابالغ

احمد رحمانی^۱، علی گریزی^۲، زهرا محمدی^۳

۱. استادیار رفتار حرکتی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران*

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۳. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی کاربردی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۴

چکیده

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر دو الگوی تمرین با نسبت روزهای استراحت به تمرین متفاوت همراه با مصرف عسل طبیعی، بر میزان IL-6 سرم و بیان آن در بافت هیپوکمپ بود. ۳۶ موش صحرایی نر نابالغ در شش گروه کنترل، عسل (۱۰ درصد در آب آشامیدنی)، تمرین تناوبی شدید چهارروزه، تمرین تناوبی شدید چهارروزه + عسل، تمرین تناوبی شدید هفت‌روزه و تمرین تناوبی شدید هفت‌روزه + عسل قرار گرفتند. دوره‌های تمرین چهارروزه (سه روز تمرین و یک روز استراحت) و هفت‌روزه (شش روز تمرین، یک روز استراحت) تناوبی شدید (۱۰-۱۶ متر در دقیقه در هفته اول و ۴۰-۳۶ متر در دقیقه در هفته آخر) به مدت یک ماه انجام شد. غلظت IL-6 سرم در گروه تمرین هفت‌روزه نسبت به گروه کنترل بالاتر بود ($P = 0.001$). سطوح IL-6 سرم در گروه عسل-تمرین هفت‌روزه پایین‌تر از گروه تمرین هفت‌روزه بدون مکمل ($P = 0.018$) بود. بین گروه چهارروزه و گروه کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت ($P = 0.946$). هر دو نوع تمرین‌های هفت‌روزه ($P = 0.007$) و چهارروزه ($P = 0.005$) موجب بالاتر رفتن معنادار بیان ژن IL-6 هیپوکمپ شدند؛ اما مصرف مکمل عسل در گروه هفت‌روزه ($P = 0.583$) و چهارروزه ($P = 0.983$) موجب تعدیل بیان ژن IL-6 هیپوکمپ نشد؛ بنابراین، تمرین‌های تناوبی شدید بیان ژن IL-6 را در هیپوکمپ افزایش می‌دهند؛ اما دوره‌های تمرینی طولانی‌تر موجب افزایش سیستمیک سایتوکاین‌های التهابی می‌شوند. مصرف عسل اثرهای مرکزی تمرین‌های تناوبی شدید را تعدیل نمی‌کند؛ با این حال، می‌تواند التهاب سیستمیک را کاهش دهد. همچنین، اثرهای ضدالتهابی عسل در شرایط غیر تمرینی و غیرالتهابی، مشاهده نمی‌شوند.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی شدید، عسل، اینترلوکین-۶، هیپوکمپ

مقدمه

رشد مغز فرایندی پیچیده است که با مجموعه‌ای از مراحل حیاتی همراه است و هر مرحله به‌منظور پیکربندی ساختار طبیعی مغز انجام می‌شود. رشد ساختار مغز قبل از تولد شکل می‌گیرد؛ اما رشد کامل آن به محرک‌های پس از تولد بستگی دارد که بر عملکرد مغز تأثیر می‌گذارند (۱). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی در دوران پیش از بلوغ تأثیر مطلوبی بر مغز دارند و عملکرد دستگاه عصبی را بهبود می‌بخشند (۲)؛ به‌عنوان مثال، کیم^۱ و همکاران (۳) نشان دادند که تمرین بچه‌موش-های صحرائی روی تردمیل، آپویتوز ناشی از استرس را سرکوب می‌کند و بر سنتز سروتونین و فعال‌سازی عصبی تأثیر مطلوب می‌گذارد؛ اما تمرین با شدت زیاد و فواصل استراحتی کم می‌تواند موجب بروز فشار اکسایشی در مغز شود. از جمله تمرین‌هایی که ورزشکاران در برنامه‌ی تمرینی خود از آن استفاده می‌کنند، تمرین‌های تناوبی پرشدت (HIIT^۲) در سطوح مختلف سنی هستند. HIIT ممکن است از چند ثانیه تا چند دقیقه طول بکشد که با وهله‌های گوناگون به‌وسیله‌ی چند دقیقه استراحت یا فعالیت با شدت کم از هم جدا می‌شوند (۴). شدت تمرین یک عامل ایجاد التهاب است و پاسخ التهابی ناشی از تمرین در رشد مغز در دوره‌ی پس از تولد به مرحله‌ی رشدی وابسته است (۵). فشار مزمن ناشی از تمرین شدید می‌تواند باعث ایجاد التهاب و سرکوب زایش نورون‌های جدید در هیپوکمپ شود. هیپوکمپ بخشی از مغز است که توانایی ایجاد نورون‌های جدید را دارد و ساختاری حیاتی برای حافظه و یادگیری محسوب می‌شود. فشارهای فیزیولوژیک و روانی زیاد بر دستگاه ایمنی تأثیر می‌گذارند و موجب کاهش کربوهیدرات و افزایش تجمع آمونیاک در مغز می‌شوند (۶). همچنین، تراکم عوامل فشارزا با ایجاد اختلال در عملکرد دستگاه ایمنی و خستگی جسمانی ناشی از فعالیت ورزشی شدید، می‌تواند سبب تغییر غلظت سایتوکین‌های التهابی در مغز شود (۸، ۷). سایتوکاین‌ها پروتئین‌های کوچکی هستند که توسط سلول‌های ایمنی (ماکروفاژها، لنفوسیت‌ها و غیره) ترشح می‌شوند و به دو نوع پیش‌التهابی و ضدالتهابی تقسیم می‌شوند (۹). افزایش غلظت سایتوکین‌های التهابی در ورزشکاران عوارضی مشابه بیماری روانی، افزایش در سطوح خستگی و پیش‌روی به‌سوی واماندگی و در نتیجه، کاهش کیفیت اجزای ورزشی را در پی خواهد داشت (۱۰). همچنین، افزایش سایتوکاین‌های IL-18، IL-6، IL-1 β و TNF α ^۴ موجب از دست رفتن نرون^۵ می‌شود (۱۱). اینترلوکین-۶ (IL-6) از جمله سایتوکاین‌های پیش‌التهابی / ضدالتهابی است که غلظت آن در پلاسما در پاسخ به

-
1. Kim
 2. High Intensity Interval Training
 3. Interleukine-1 β
 4. Tumor Necrosis Factor- α
 5. Neuronal Loss

یک جلسه تمرین وامانده ساز به طور قابل توجهی افزایش می یابد و بعد از تمرین کاهش می یابد (۱۲). مطالعاتی که اثرهای IL-6 را در افراد سالم در حال استراحت بررسی کرده اند، نشان داده اند که تزریق IL-6 موجب افزایش احساس خستگی، برهم خوردن وضعیت روانی، بالارفتن ضربان قلب و برهم خوردن الگوی خواب می شود (۱۳). به علاوه، افزایش مزمن IL-6 ممکن است موجب صدمه به مغز شود (۱۴). مطالعات حیوانی نشان داده اند که IL-6 بیان شده در بافت های مغز (استروسیت ها و میکروگلیاها)، نورونز هیپوکمپ را محدود می کند و تمایز سلول های بنیادی به سلول های عصبی را کاهش می دهد (۱۴).

در مورد تأثیر تمرین های جسمانی به ویژه تمرین های HIIT بر مغز در دوران پیش از بلوغ، مطالعات اندکی انجام شده اند. یکی از پژوهش های انجام شده در این زمینه نشان داد که یک هفته دویدن روی تردمیل با شدت کم تا متوسط، نورونز را در هیپوکمپ موش های ۳۵ روزه افزایش می دهد. (۱۵). کیم و همکاران (۳) نیز به این نتیجه رسیدند که ۳۰ دقیقه دویدن در روز با شدت ملایم به مدت چهار هفته در موش های یک ماهه، تأثیر مثبتی بر آپوپتوز دارد؛ با این حال، در این پژوهش ها فاکتورهای التهابی اندازه گیری نشدند؛ اما دی آلمیدا^۱ و همکاران (۱۶) گزارش دادند که تمرین شدید در موش های ۳۰-۲۱ روزه موجب بالارفتن IL-6 هیپوکمپ می شود. در مقابل، لزی و همکاران (۱۷) نتیجه گرفتند که هشت هفته تمرین بالاتر از آستانه لاکتات بر برخی از سایتوکاین های التهابی در مغز موش های آزمایشگاهی تأثیر ندارد. از سوی دیگر، برخی از پژوهش ها نشان داده اند که حجم های مختلف یک برنامه تمرینی با شدت یکسان می تواند اثرهای متفاوتی بر سایتوکاین ها داشته باشد (۱۸)؛ بر این اساس، انجام پژوهش هایی کاربردی با هدف تعیین راهبردهای تمرینی برای جمعیت های مختلف به ویژه افراد در حال رشد درگیر در فعالیت های رقابتی و ورزشی می تواند مفید واقع شود. پژوهش ها نشان داده اند که رعایت الگوی استراحت/تمرین مطلوب در این قبیل از تمرین های اینتروال شدید الزامی است. هیونز^۲ و همکاران (۱۹) نشان دادند که پروتکل تمرینی پر شدت با استراحت کوتاه، موجب افزایش IL-6 در مردان و زنان شد. همچنین، توصیه شده است که برای کاهش ابتلا به عفونت، بعد از دو روز تمرین تناوبی بسیار شدید، یک روز استراحت در نظر گرفته شود (۲۰)؛ از این رو، یکی از اهداف پژوهش حاضر، تعیین اثرهای التهابی دو الگوی برنامه تمرینی تناوبی با فاصله تمرین/استراحت متفاوت بود. در این راستا، به استفاده از مکمل های غذایی برای پیشگیری از افزایش فاکتورهای التهابی نیز توجه شده است. بر اساس مطالعات انجام شده، بیش از ۵۰۰۰ نوع منابع ضدالتهابی و آنتی اکسیدان

شناسایی شده‌اند که شامل میوه‌ها، گیاهان سبز، سبزی‌ها، ادویه، چای، شکلات تلخ، شراب قرمز و عسل هستند (۱۳). عسل طبیعی حاوی کربوهیدرات‌هایی مانند گلوکز، فروکتوز و نیز پروتئین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای ارگانیک و ترکیبات آروماتیک است. به‌علاوه، آنزیم‌هایی مانند گلوکز اکسیداز و کاتالاز، ویتامین‌های A و E، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک در عسل وجود دارند که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (۲۱)؛ از این رو، اثرهای ضدالتهابی عسل توجه بسیاری از پژوهشگران را به‌خود جلب کرده است. مکانیسم دقیق عمل عسل هنوز ناشناخته است؛ اما پژوهش‌ها بر اثرهای ضدباکتریایی آن تمرکز کرده‌اند. مکانیسم اثر عسل ممکن است مربوط به سطح پایین PH و محتوای بالای شکر آن باشد (اسمولاریته بالا) که برای توقف رشد میکروب‌ها کفایت می‌کند (۲۲). به‌علاوه، میزان زیاد شکر در عسل، اثرهای دهیدراتاسیونی دارد که این موضوع از رشد باکتری جلوگیری می‌کند (۲۳). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که با مصرف عسل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی سرم افزایش می‌یابد و سایتوکین‌های التهابی (IL-1، IL-6، IL-10 و TNF- α) کاهش می‌یابند (۲۴). در این راستا، چپولیس^۱ و همکاران (۲۵) نشان دادند که مصرف مکمل عسل به‌مدت ۱۲ ماه باعث کاهش فشار اکسایشی می‌شود و حافظه فضایی را بهبود می‌بخشد. همچنین، شش هفته مصرف عسل محلول در آب، از میزان TNF- α در پلاسمای موش‌های صحرایی می‌کاهد (۲۳). در یک مطالعه، مصرف خوراکی (۵ g/kg) التهاب ایجادشده در موش‌ها را کاهش داد (۲۶). به‌طور مشابه، در یک پژوهش، مکمل‌دهی عسل با دوز روزانه ۷۰ گرم و به‌مدت هشت هفته، نشانگرهای التهاب پلازما مانند TNF- α ، IL-6 و IL-8 را در دوچرخه‌سواران جاده کاهش داد (۲۱). در مطالعه صالحیان و همکاران (۲۴)، ۱۰ هفته تمرین شدید، سطوح IL-6 و TNF- α سرم مردان ورزشکار را افزایش داد؛ اما، مصرف عسل میزان این سایتوکاین‌ها را کاهش داد. پژوهش‌های انجام‌شده در زمینه عسل، عمدتاً به اثرهای مؤثر و مثبت آن اشاره می‌کنند. از طرف دیگر، با توجه به سازگاری‌های سودمند تمرین‌های تناوبی بر ظرفیت ورزشی و متابولیسم انرژی (هوازی و بی‌هوازی) و صرفه‌زمانی آن، این نوع تمرین در بین ورزشکاران در حال رشد شیوع یافته است. همچنین، از آنجایی که حدی بحرانی برای اجرای تمرین‌های ورزشی سنگین وجود دارد و اغلب ورزشکاران روی لبه تیغ حرکت می‌کنند و نیز با توجه به نیازهای رشدی ورزشکاران پیش از بلوغ، به‌نظر می‌رسد که استفاده از راهبردهای طراحی تمرین و تغذیه بتواند باز یافت مورد نیاز ورزشکاران در دوره رشد را فراهم کند و مانع از بیش‌تمرینی آن‌ها شود.

بنابراین، نظر به اینکه مقادیر سرمی IL-6 نشان‌دهنده میزان التهاب بافت‌های محیطی بدن و سطوح بافتی آن در هیپوکمپ، بیانگر مقدار التهاب مرکزی هستند، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر دو الگوی تمرین اینتروال شدید با طول دوره چهارروزه و هفت‌روزه همراه با مکمل عسل طبیعی،

بر میزان پروتئین اینترلوکین-۶ سرم و میزان آن در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرائی نابالغ بود؛ براین اساس، برای کنترل متغیرهای ناخواسته که در مطالعات انسانی می‌توانند بر سطوح سایتوکاین‌ها اثرگذار باشند، این پژوهش به صورت تجربی و روی موش‌های آزمایشگاهی انجام شد.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه مداخله‌ای انجام گرفت. نمونه آماری این پژوهش ۳۶ سر موش صحرائی نر ویستار با میانگین سنی ۲۰ روز بودند که براساس وزن همگن شده و به روش تصادفی به شش گروه کنترل (شش سر)، عسل (شش سر)، تمرین تناوبی شدید با الگوی طول دوره چهارروزه (شش سر)، تمرین تناوبی شدید با الگوی چهارروزه + عسل (شش سر)، تمرین تناوبی شدید با الگوی طول دوره هفت‌روزه (شش سر) و تمرین تناوبی شدید با الگوی هفت‌روزه + عسل (شش سر) تقسیم شدند. نمونه‌ها پس از تهیه از انستیتوی پاستور کرج، طی یک هفته پروتکل آشناسازی (از سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت یک دقیقه تا سرعت ۱۶ متر در دقیقه به مدت یک دقیقه)، دویدن روی نوار گردان را تجربه کردند (شکل‌های شماره یک و شماره دو). در طول دوره آشناسازی، برای یادگیری و تحریک دویدن، موش‌ها شوک الکتریکی خفیف (یک میلی‌آمپر) را تجربه کردند که این شوک با شروع تمرین‌های اصلی قطع شد. در طی پژوهش، حیوان‌ها در قفسه‌های پلی‌کربنات با دمای محیط 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد در چرخه تاریکی روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت 45 ± 5 درصد نگهداری شدند. عسل تهیه شده در آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان آزمایش شد. نتیجه نشان داد که این مکمل برطبق استاندارد جهانی، دارای رطوبت ۱۷/۷، $PH = 3/6$ و ساکارز ۴/۲ است که در اختیار گروه‌های دریافت‌کننده عسل به صورت محلول در آب آشامیدنی قرار گرفت. در گروه‌های مکمل، از رژیم پایه استاندارد همراه با ۱۰ درصد مکمل عسل به صورت محلول در آب آشامیدنی روزانه استفاده شد (۲۷) و در سایر گروه‌ها نیز از رژیم پایه استاندارد تهیه شده از شرکت خوراک دام تهران و آب آشامیدنی استفاده شد. در طی مطالعه، موش‌ها به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. موش‌ها در شروع تمرین‌های ۲۲ روزه (سن از شیرگرفتن) بودند و تا رسیدن به سن بلوغ، ۳۰ تا ۴۰ روز فاصله داشتند. به همین دلیل، پس از یک دوره آشناسازی یک‌هفته‌ای با محیط آزمایشگاهی و تمرین، طول دوره پروتکل تمرینی ۳۰ روز تعیین شد که با دوره پیش از بلوغ موش‌ها برابر است. هدف از استفاده از موش‌های نابالغ، بررسی اثرهای تمرین با راهبردهای تغذیه‌ای و تمرینی مختلف در سن رشد بر عوامل پیش التهابی بود. موش‌های صحرائی روی دستگاه نوار گردان مخصوص جوندگان (ساخت صنعت پیشرو اندیشه صنعت - شیراز) تمرین کردند. برای اندازه‌گیری وزن از ترازوی کمپکت اسکیل-

اچ تی ۱۵۰۰ ساخت چین استفاده شد. وزن کشی در دو نوبت انجام شد: ابتدا پس از یک هفته آشناسازی، با هدف همسان سازی وزنی گروه‌ها و سپس، در پایان یک ماه پروتکل تمرین، با هدف ثبت میزان افزایش وزن.

در این پژوهش، تمرین تناوبی شدید در قالب تمرین با الگوی دوره‌های چهارروزه (سه روز تمرین و یک روز استراحت) و هفت‌روزه (شش روز تمرین و یک روز استراحت) انجام شد. در هر دو شیوه، سرعت در الگوی اول برابر با ۱۰ تا ۱۶ متر در دقیقه بود. به تدریج سرعت تمرین افزایش یافت تا زمانی که در دوره آخر به ۳۶ تا ۴۰ متر (متوسط ۳۷ تا ۳۸ متر در دقیقه) در دقیقه (معادل حدود ۸۵ درصد $Vo_2 \max$) رسید (۳۱-۲۸). مدت تمرین همان یک دقیقه با ۱۰ تکرار در یک دوره تمرینی بود (شکل‌های شماره یک و شماره دو). برای جلوگیری از بیش‌تمرینی، مدت زمان استراحت بین تکرارهای تمرین در دوره چهارم به بیش از دو برابر مدت زمان استراحت دوره‌های قبلی افزایش یافت و همچنین، سرعت تمرین کاهش یافت (۳۳، ۳۲، ۴). پروتکل تمرینی براساس برنامه‌های تمرین تناوبی در پژوهش‌های حیوانی قبلی (۳۴) و توانایی موش‌های نابالغ پژوهش حاضر تعدیل شد و در طی دوره پژوهش، اعمال شد (جدول شماره یک).

جدول ۱- برنامه باردهی تمرین تناوبی شدید در گروه با الگوهای تمرین چهارروزه و هفت‌روزه معادل حدود ۵۰ تا ۸۵ درصد $Vo_2 \max$ (۳۱، ۳۵)

الگوی تمرین	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
سرعت (متر/ دقیقه)	۱۸	۲۲	۲۶	۲۰	۳۰	۳۴	۳۸
دوره چهارروزه	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مدت فعالیت (دقیقه)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مدت استراحت (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تکرار	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
هفته‌های تمرین	۱	۲	۳	۴			
سرعت (متر/ دقیقه)	۱۹	۲۵	۳۱	۳۷			
دوره هفت‌روزه	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مدت فعالیت (دقیقه)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مدت استراحت (دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
تکرار	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات پس از بی‌هوشی با کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و زایلازین (سه تا پنج میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن)

قربانی شدند. برای جداسازی هیپوکمپ، بلافاصله بعد از جداکردن سر حیوانات توسط گیوتین، مجسمه شکافته شد و با توجه به مشخصات هیپوکمپ، به کمک اطلس پاکسینوس، هیپوکمپها از سایر نواحی مغز جدا شدند. نمونه خونی به دست آمده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد و سرم به دست آمده برای هر نمونه در میکروتیوب جمع آوری شد. سرم و هیپوکمپ بلافاصله در ازت مایع منجمد شدند و برای انجام مراحل بعدی در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در زمان تشریح، برای جلوگیری از تداخل اثر زمان تشریح بر میزان هورمونها (ریتم شبانه روزی)، موشها به صورت متناوب از گروههای شش گانه تشریح شدند. نمونههای هیپوکمپ پس از شست و شو با آب مقطر در ازت مایع فریز شدند و برای اجرای کارهای آزمایشگاهی در یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. بافت های هیپوکمپ با دستگاه هموژنایزر و با استفاده از بافر فسفات سالین (PBS) هموژن شدند و پس از سانتریفیوژ، سوپرناتانت به دست آمده توسط کیت دو ایکس هایپر اسکریپ^۱ ساخت کشور کره و کیت سیناکلون^۲ ساخت ایران و کیت ریبونکس^۳ ساخت کشور کره، مخصوص موشهای صحرایی برای اندازه گیری بیان ژن IL-6 هیپوکمپ تجزیه و تحلیل شدند؛ براین اساس، ابتدا از بافت هیپوکمپ RNA استخراج شد. بدین منظور، یک میلی لیتر محلول RNX-plus (شرکت سیناژن- ایران) به میکروتیوبهای محتوای نمونه اضافه شد و محتویات میکروتیوبها به خوبی هموژن شدند. سپس، ۲۰۰ میکرو لیتر کلروفورم به هر تیوب اضافه گردید. سانتریفیوژ نمونهها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای چهار درجه سانتیگراد انجام شد. فاز آبی حاوی RNA به میکروتیوب جدید منتقل شد و هم حجم آن ایزوپروپانل سرد اضافه گردید. سپس، میکروتیوبها در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در دمای چهار درجه سانتیگراد RNA قرار داده شدند و با تخلیه ایزوپروپانل پلت RNA به دست آمد. شست و شوی RNA برای حذف آلودگیهای نمکی از آن، با افزودن ۵۰ میکرو لیتر اتانول ۷۵ درصد و سانتریفیوژ به مدت هشت دقیقه با دور ۷۵۰۰ در دمای چهار درجه سانتیگراد انجام شد. برای بررسی کیفی و کمی RNAهای استخراج شده، از ژل آگارز ۱/۵ درصد و جذب اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه نانودراپ (شرکت R & D) استفاده شد (۲۶). برای اطمینان از صحت انجام تلخیص RNA، RNA استخراج شده از بافتها به تفکیک روی ژل آگارز یک درصد ران شد و دو باند RNA ۲۸s و ۱۸s رؤیت شد. همچنین، با استفاده از دستگاه نانودراپ (شرکت R & D)، میزان غلظت RNA و

-
1. 2X HyperScrip One-Step RT-PCR Master Mix
 2. Cinnacolon Qualitative PCR
 3. RiboEx Ls Total RNA

ODهای ۲۶۰/۲۳۰ و ۲۶۰/۲۸۰ به عنوان شاخص‌هایی برای به‌ترتیب پروتئین و فنولی بررسی شد (۳۶). پس از بررسی کیفیت و کمیت RNAهای استخراج‌شده از بافت هیپوکمپ، cDNA ساخته شد که برای انجام واکنش qRT-PCR برای تمامی نمونه‌ها استفاده شد. cDNA با استفاده از کیت مستر میکس^۱ RT (شرکت جینیل^۲، کره جنوبی) براساس دستور کار شرکت به شرح زیر سنتز شد. یک میکرولیتر از RNA استخراجی (بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانوگرم)، یک میکرولیتر پرایمر اولیگاد^۳ ۱۰ پیکومول و ۱۲ میکرولیتر مستر میکس RT در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد برای یک ساعت قرار داده شدند. سپس، برای غیرفعال کردن آنزیم، میکروتیوب‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند. واکنش qPCR در دستگاه روتورجین^۴ ۳۰۰۰ (کیاگن^۵ آمریکا) با استفاده از کیت 5X مستر میکس اواگرین^۶ (سولایس بیوداین^۷، استونی) انجام گرفت. برنامه حرارتی شامل ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۵ سیکل شامل ۹۵ (دناچوریشن^۸ - جداسازی رشته‌های NDA)، ۵۲ (آنیلینگ^۹ - کاهش دما برای اتصال پرایمرها) و ۷۲ (اکستنشن^{۱۰} - طول شدن رشته‌های DNA) درجه سانتی‌گراد و هر کدام ۱۲ ثانیه بود. ژن بتا-اکتین^{۱۱} به عنوان ژن رفرنس برای هر نمونه cDNA در کنار ژن هدف به کار گرفته شد. نتایج ct به صورت دو تکرار در دستگاه ریل تایم پی سی آر^{۱۲} به دست آمد. در نهایت، تغییرات بیان ژن IL-6 با استفاده از نرم افزار رست^{۱۳} و براساس روش پفافل^{۱۴} تجزیه و تحلیل شدند. روش محاسبه بیان ژن به صورت توان دوم منهای دلتا دلتای سی تی (2- $\Delta\Delta CT$) به صورت تغییر یافته بود. نمونه‌های خونی نیز پس از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه) توسط کیت بوستر بایولوژیکال^{۱۵} ساخت کشور آلمان برای اندازه‌گیری پروتئین IL-6 به روش الایزا تجزیه و تحلیل شدند.

1. Master Mix
2. Geneall
3. Oligodt
4. Rotorgene
5. Qiagen
6. 5X Master Mix Evagreen
7. Solice Biodine
8. Denaturation
9. Annealing
10. Extension
11. Beta-Actin
12. Real Time PCR
13. REST
14. PFAFFL
15. Boster Biological

برای آزمون توزیع طبیعی داده‌ها در گروه‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ استفاده شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون آنوا^۲ و آزمون تعقیبی توکی در برنامه‌اس.پی.اس.اس^۳ نسخه ۱۶ در سطح معناداری ۰/۰۵ انجام شد.

ملاحظات اخلاقی: همه مراحل پژوهش براساس موازین اخلاقی و اصول راهنمای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی که توسط NIH^۴ منتشر شده است، انجام شد.^۵

نتایج

پس از همگن کردن وزن موش‌های صحرایی در هنگام شروع تمرین‌های اینتروال شدید، وزن اولیه و پایانی آن‌ها (برحسب گرم) تفاوت معناداری را نشان داد (جدول شماره یک). با توجه به داده‌های این جدول مشاهده می‌شود که بیشترین افزایش وزن در گروه HIIT چهارروزه-عسل (۱۳۲/۸ گرم) و کمترین افزایش وزن مربوط به گروه کنترل (۱۰۴/۲۳ گرم) است. میانگین متوسط افزایش وزن در بین شش گروه حدود ۱۱۹/۲ گرم است (جدول شماره یک).

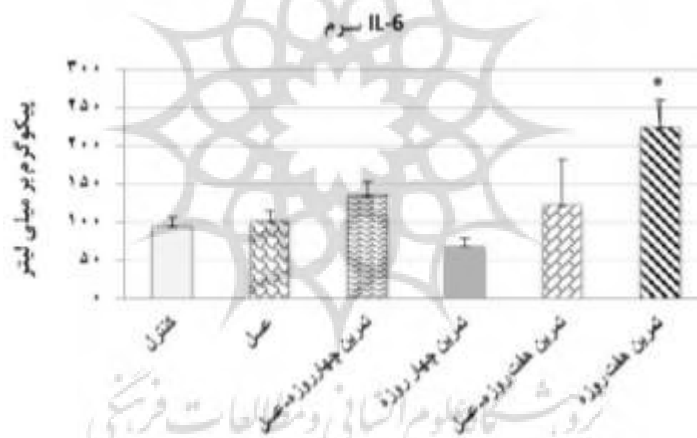
جدول ۱- میانگین وزن اولیه و نهایی آزمودنی‌ها (برحسب گرم)

گروه‌ها	تعداد	وزن اولیه	وزن نهایی	تغییر وزن در یک ماه
کنترل	۶	۸۴/۵۷	۱۸۸/۸	+۱۰۴/۲۳
عسل	۶	۸۳/۱۶	۲۰۸/۹	+۱۲۵/۷۴
HIIT چهارروزه	۶	۸۴/۱۰	۱۹۶/۵	+۱۱۲/۴
HIIT چهارروزه-عسل	۶	۸۴/۸۰	۲۱۷/۶	+۱۳۲/۸
HIIT هفت‌روزه	۶	۸۴/۵۰	۲۰۵/۷	+۱۲۱/۲
HIIT هفت‌روزه-عسل	۶	۸۶/۱۰	۲۰۴/۹	+۱۱۸/۸
جمع کل	۳۶	۸۴/۵۳	۲۰۳/۷۳	+۱۱۹/۲

1. Shapiro-Wilk
2. ANOVA
3. SPSS
4. National Institutes of Health
5. Code: ZNU.ECRA.2018-5 کد کمیته اخلاق دانشگاه زنجان

تغییرات IL-6 سرم و بیان ژن IL-6 هیپوکمپ: میزان IL-6 سرم در بین گروه‌های شش‌گانه تفاوت معناداری را نشان داد ($P = 0.001$). همچنین، میزان بیان ژن IL-6 هیپوکمپ در بین گروه‌ها تفاوت معناداری داشت ($P = 0.004$).

تمرین در یک الگوی هفت‌روزه، موجب بالاتر رفتن IL-6 سرم ($۸۶/۰۳ \pm ۲۲۴/۸۳$) در مقایسه با گروه کنترل ($۲۸/۷۴ \pm ۹۴/۸۳$) شد ($P = 0.001$)؛ اما تمرین طول دوره چهارروزه ($۲۴/۰۶ \pm ۶۸/۸۳$) تفاوت معناداری را در میزان IL-6 سرم ایجاد نکرد ($P = 0.946$). مکمل‌دهی همراه با تمرین اینتروال شدید هفت‌روزه ($۵۹/۵۹ \pm ۱۲۳$) موجب کاهش معنادار سطوح IL-6 سرم نسبت به گروه تمرین هفت‌روزه بدون مکمل شد ($P = 0.018$)؛ اما بین تمرین طول میکروسیکل چهارروزه با عسل ($۴۵/۳۵$) و شرایط تمرین چهارروزه بدون مصرف مکمل عسل ($۲۴/۰۶ \pm ۶۸/۸۳$) در میزان IL-6 سرم تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P = 0.23$) (شکل شماره یک).

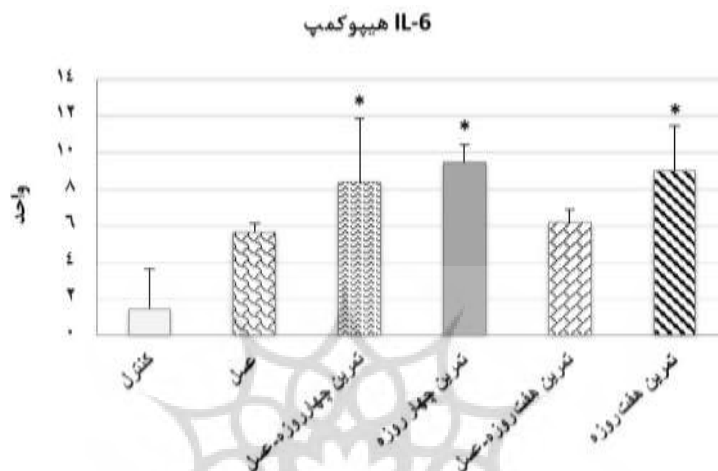


شکل ۱- غلظت IL-6 سرم موش‌های صحرایی (میانگین ± خطای معیار میانگین)

*: تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل، عسل، تمرین اینتروال شدید چهارروزه-عسل، تمرین اینتروال شدید چهارروزه و تمرین اینتروال شدید هفت‌روزه-عسل ($P < 0.05$)

هر دو گروه تمرین‌های شدید اینتروال در الگوی هفت‌روزه ($۲/۵۰ \pm ۸/۹۸$) ($P = 0.007$) و چهارروزه ($۱/۰۰ \pm ۹/۴۶$) ($P = 0.005$) به‌طور معناداری بیان ژن IL-6 هیپوکمپ بالاتری را نسبت به گروه کنترل ($۲/۲۰ \pm ۱/۴۸$) داشتند؛ اما در بیان ژن IL-6 هیپوکمپ گروه هفت‌روزه با عسل ($۰/۶۸ \pm ۶/۲۲$) نسبت به گروه تمرین هفت‌روزه تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P = 0.583$). بین گروه تمرین چهارروزه و گروه تمرین چهارروزه همراه با مکمل عسل ($۳/۵۱ \pm ۸/۳۶$) نیز تفاوت معناداری وجود

نداشت ($P = 0.983$). به علاوه، استفاده از عسل در شرایط غیر تمرینی (0.49 ± 0.64) تفاوت معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد ($P = 0.201$) (شکل شماره دو).



شکل ۲- میزان بیان ژن IL-6 هیپوکمپ (میانگین \pm خطای معیار میانگین)

*: تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل ($P < 0.05$)

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که وزن گروه عسل در مقایسه با گروه کنترل، ۲۰ درصد و گروه چهارروزه تناوبی با عسل در مقایسه با چهارروزه تناوبی، ۱۸ درصد بیشتر افزایش یافته است. همچنین، غلظت IL-6 سرم در گروه هفتروزه، به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود؛ اما در الگوی چهارروزه، تفاوت معناداری با گروه کنترل مشاهده نشد. بیان ژن IL-6 هیپوکمپ نیز در هر دو گروه تمرین های تناوبی شدید الگوی هفتروزه و چهارروزه به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود. افزایش وزن بیشتر (۲۰ درصدی) گروه عسل در مقایسه با کنترل و ۱۸ درصدی گروه چهارروزه تناوبی با عسل در مقایسه با چهارروزه تناوبی، بیانگر تأثیر مثبت دریافت مکمل عسل بر وزن حیوانات است. این موضوع می تواند ناشی از اثرهای کاهنده تمرین های سنگین و استرس مزمن بر وزن بدن (۳۷) و اثرهای مثبت عسل بر وزن، به دلیل تقویت دستگاه آنتی اکسیدان و تعدیل فشار اکسایشی ناشی از تمرین های سنگین باشد (۳۸، ۳۹). برخی از پژوهش ها نشان داده اند که IL-6 به عنوان یکی از مولکول های پیش التهابی است که در کاهش وزن نقش دارد (۴۱، ۴۰). همچنین، در پژوهش حاضر،

همبستگی بالای بین وزن بدن موش‌ها و IL-6 هیپوکمپ در گروه تمرین چهارروزه و گروه چهارروزه + غسل مشاهده شد که از نتایج پژوهش مای و همکاران (۴۰) و اسمیت و همکاران (۴۱) حمایت می‌کند.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غلظت IL-6 سرم در گروه هفت‌روزه، به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود؛ اما در الگوی چهارروزه، تفاوت معناداری با گروه کنترل مشاهده نشد. غیرخطی بودن شیوه چهارروزه (کاهش بار در روز چهارم) در مقایسه با روش خطی هفت‌روزه، یکی از دلایل بالاتر بودن معنادر میزان IL-6 سرم گروه هفت‌روزه از گروه چهارروزه است. اثر مثبت روش غیرخطی برای جلوگیری از برهم‌خوردن تعادل آنتی‌اکسیدانی، در پژوهش‌های پیشین ثابت شده است (۴۲). به‌علاوه، بیان ژن IL-6 هیپوکمپ در هر دو گروه تمرین‌های تناوبی شدید الگوی هفت‌روزه و چهارروزه، به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که در این پژوهش هر دو نوع تمرین اینتروال شدید اثرهای مرکزی داشتند و موجب تغییر بیان ژن IL-6 بافت هیپوکمپ شدند. این نتیجه با یافته‌های مطالعه دی‌آلمیدا و همکاران (۱۶) مشابهت دارد. آن‌ها نشان دادند که در دوره کودکی، تمرین شدید موجب افزایش IL-6 در هیپوکمپ می‌شود. در پژوهش آن‌ها، گروه‌های سنی مختلف موش‌ها پس از تولد، تمرین‌هایی با شدت بالا را به‌مدت ۱۰ روز متوالی اجرا کردند. آن‌ها تأثیر تمرین ۱۰ جلسه‌ای بر سایتوکین‌های التهابی را بررسی کردند؛ باوجود این، یافته‌های پژوهش آن‌ها با نتایج پژوهش حاضر که به‌مدت یک ماه طول کشید و تأثیر منفی تمرین تناوبی شدید به‌مدت طولانی را نشان داد، یکسان است؛ از این‌رو، به‌نظر می‌رسد که هیپوکمپ نسبت به فشار تمرین حساس است و تحت تأثیر تمرین‌های شدید قرار می‌گیرد. درمقابل، فریتاس^۱ و همکاران (۴۳) کاهش نشانگرهای التهاب را در هیپوکمپ پس از شش هفته تمرین HIIT گزارش دادند. نکته قابل توجه این است که در پژوهش فریتاس، آزمودنی‌ها موش‌های بزرگسال بودند؛ درحالی‌که در پژوهش حاضر و نیز مطالعه دی‌آلمیدا و همکاران (۱۶)، موش‌ها بعد از حدود ۲۰ روزگی پس از تولد تمرین را شروع کردند؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که اثر تمرین‌های تناوبی شدید بر التهاب مرکزی به سن و مرحله رشدی بستگی دارد. ازسوی دیگر، یافته پژوهش ما نشان داد که اثرهای سیستمیک تمرین اینتروال شدید به طول میکروسیکل بستگی داشته‌اند و فقط درطول میکروسیکل هفت‌روزه مشاهده شدند. احتمالاً تمرین با الگوی چهارروزه به‌دلیل داشتن استراحت بیشتر (سه روز تمرین و یک روز استراحت) نسبت به تمرین طول الگوی هفت‌روزه (شش روز تمرین و یک روز استراحت)، اثرهای التهابی و اکسایشی کمتری را به‌صورت سیستمیک در پی داشته است. در این مورد، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزایش فواصل استراحت در تمرین‌های اینتروال شدید موجب کاهش استرس و التهاب می‌شود (۴۴).

نتایج پژوهش حاضر درباره گروه الگوی چهارروزه، با نتایج پژوهش دسوزا^۱ و همکاران (۱۸) و کابرال سانتوز^۲ و همکاران (۴۵) که نشان دادند پروتکل‌های مختلف با حجم و شدت‌های مختلف میزان IL-6 را به صورت سیستمیک افزایش می‌دهند، ناهمسو است. به نظر می‌رسد که نوع آزمودنی، مدت زمان انجام تمرین‌ها و رده سنی آزمودنی‌ها می‌توانند از دلایل ناهمسویی با پژوهش حاضر باشند (۴۶، ۴۷)؛ از این رو، براساس یافته‌های پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که هیپوکمپ بافت حساس‌تری نسبت به سرم که نمایانگر وضعیت کل بدن است، دارد؛ در نتیجه، هیپوکمپ نسبت به سرم بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد.

بنابراین، هر دو نوع تمرین اینتروال شدید، اثرهای مرکزی دارند و موجب تغییر بیان ژن IL-6 بافت هیپوکمپ می‌شوند؛ اما اثرهای سیستمیک تمرین اینتروال شدید، به الگوی نسبت روزهای استراحت به تمرین بستگی دارد. تمرین با الگوی چهارروزه به دلیل داشتن روزهای استراحت بیشتر (سه روز تمرین و یک روز استراحت) نسبت به تمرین با الگوی هفت‌روزه (شش روز تمرین و یک روز استراحت) دارای فرصت بازیافت بیشتری بوده است و میزان IL-6 سرم و بیان ژن آن در هیپوکمپ نیز از این موضوع حمایت می‌کند؛ از این رو، استفاده از طول دوره‌های هفته‌ای کوتاه‌مدت‌تر نسبت به طول میکروسیکل هفت‌روزه می‌تواند شرایط التهابی سیستمیک و مرکزی کمتری را در پی داشته باشد. سایر یافته‌ها نشان داد که مکمل‌دهی همراه با تمرین اینتروال شدید هفت‌روزه کاهش معناداری را در سطوح IL-6 سرم نسبت به گروه تمرین هفت‌روزه بدون مکمل داشت. همچنین، مکمل عسل تأثیری کاهنده بر میزان IL-6 سرم در تمرین طول دوره‌های چهارروزه داشت؛ اما معنادار نبود. به طور مشابه، مکمل‌دهی عسل در گروه‌های چهارروزه و هفت‌روزه موجب کاهش غیرمعنادار بیان ژن IL-6 هیپوکمپ شد؛ اما استفاده از عسل در شرایط غیرتمرینی تأثیر معناداری را نشان نداد.

تأثیر تعدیل‌کننده عسل بر سطوح IL-6 با یافته مطالعه صالحیان و همکاران (۲۴) همسو است. آن‌ها نشان دادند که تمرین‌های شدید استقامتی در مردان جوان، به مدت ۱۰ هفته با شدت ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، میزان سایتوکاین‌های التهابی و به ویژه IL-6 را افزایش دادند؛ اما مصرف مکمل عسل موجب شد که IL-6 بلافاصله، یک ساعت و ۲۴ ساعت پس از ورزش کاهش یابد. همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که تمام ترکیبات سوکرافات (آلومینیوم، سولفات و ساکارز) موجود در عسل می‌توانند از لایه مخاطی معده محافظت کنند و از زخم معده پیشگیری کنند (۴۸). به علاوه، اثر مفید

-
1. Desouza
 2. Cabral Santos

عسل بر سیستم ایمنی در شرایط مختلف بررسی شده است؛ به عنوان نمونه، چپولیس^۱ (۴۹) نشان داد که ۵۲ هفته مکمل‌دهی عسل به صورت محلول در آب آشامیدنی در موش‌های دوماهه، تأثیری مفید بر فعالیت ایمنی دارد. ترتیبیان و جلیلی (۵۰) نیز نشان دادند که نوشابه شیرین‌شده با عسل (پنج میلی‌لیتر بر کیلوگرم محلول ۱۲ درصد عسل) اثرهای تمرین بر سطوح لیکوسیتها را در مردان تمرین‌کرده‌ای که در یک تمرین هوازی بیشینه شرکت کرده بودند، تعدیل می‌کند. در پژوهشی دیگر، مکمل‌دهی عسل (۷۰ گرم) در مدت هشت هفته تمرین دوچرخه سواری موجب افزایش کمتری در میزان سایتوکاین‌های التهابی شد (۵۱)؛ از این رو، به نظر می‌رسد که مصرف عسل قبل یا در طول تمرین‌ها می‌تواند در تعدیل میزان سایتوکاین‌های التهابی مؤثر باشد. سازوکار زیربنایی برای تأثیر عسل بر کاهش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی ناشناخته است؛ اما احتمال می‌رود که اجزای غیرقندی عسل مسئول اثرهای مربوط به تنظیم ایمنی باشند. در این زمینه، عسل یک منبع کربوهیدراتی حاوی ترکیبات فلاونوئیدی است که به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند (۵۲) و گزارش شده است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم در انسان را افزایش می‌دهد (۵۱)؛ بنابراین، این احتمال وجود دارد که محتوای آنتی‌اکسیدانی عسل در کاهش التهاب نقش داشته باشد. عسل، حاوی فلاونوئید کوئرستین است که موجب کاهش سایتوکاین‌های التهابی ناشی از تمرین می‌شود (۲۴). این فلاونوئید در انواع گوناگونی از گیاهان خوراکی شامل توت‌ها، پیازها، سیب، برگ چای، بروکلی و عسل وجود دارد و کاهش سطوح IL-6، IL-1 و TNF- α توسط این فلاونوئید گزارش شده است (۲۴).

از سوی دیگر، استفاده از عسل در شرایط غیرتمرینی، افزایش غیرمعنادار IL-6 را در پی داشت. همسو با این یافته، سمرقندیان و همکاران (۵۳) و تونکز^۲ و همکاران (۵۴) و اعلام کردند که انواع مختلف عسل موجب تولید سایتوکاین‌های التهابی از مونسیت‌ها می‌شوند. در مطالعه حاضر، مکمل‌دهی عسل موجب افزایش معنادار وزن نسبت به گروه کنترل شد. لازم است یادآوری شود که عسل با کیفیت خوب دارای محتوای فروکتوز بیشتری است (۵۵). فروکتوز آزاد کالری‌های فراوانی را ایجاد می‌کند و می‌تواند وزن بدن را افزایش دهد (۵۶). در این راستا، افزایش برخی از سایتوکاین‌ها در افراد چاق و دارای اضافه‌وزن گزارش شده است (۵۷). همچنین، نشان داده شده است که سلول‌های چربی و ماکروفاژهای مشتق از بافت، IL-6 بیشتری را در افراد چاق در مقایسه با اشخاص با وزن طبیعی تولید می‌کنند (۵۸)؛ از این رو، در این مطالعه افزایش وزن ناشی از مصرف عسل می‌تواند به عنوان یکی از عوامل افزایش سطح IL-6 در گروه مکمل مطرح شود؛ با این حال، مکانیسم‌هایی که به واسطه آن‌ها،

1. Chepulis
2. Tonks

عسل عوامل ضدالتهابی را از مونوسیت‌ها آزاد می‌کند، هنوز ناشناخته هستند و به انجام مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است (۵۴).

پیام مقاله: مکمل‌دهی عسل در کوتاه‌مدت احتمالاً نمی‌تواند اثرهای مرکزی تمرین‌های اینتروال شدید را تعدیل کند؛ اما اثرهای سیستمیک تمرین‌های شدید بر سایتوکاین‌های التهابی را مهار می‌کند؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که ورزشکاران می‌توانند برای کاهش سایتوکاین‌های التهابی در سرم، همراه با تمرین‌های اینتروال شدید از مکمل عسل استفاده کنند؛ با این حال، استفاده از عسل در شرایط غیرتمرینی تأثیر معناداری بر سایتوکاین‌های پیش‌التهابی ندارد. همچنین، استفاده از طول دوره‌های هفته‌ای کوتاه‌مدت‌تر نسبت به طول دوره‌ی هفت‌روزه، به دلیل داشتن فرصت کافی برای باز یافت برای ورزشکاران رده‌های سنی پایین، می‌تواند شرایط التهابی کمتری را داشته باشد.

منابع

1. Andersen SL. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev.* 2003;27(1-2):3-18.
2. Uysal N, Tugyan K, Kayatekin BM, Acikgoz O, Bagriyanik HA, Gonenc S, et al. The effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spatial memory. *Neurosci Lett.* 2005;383(3):241-45.
3. Kim T-W, Ji E-S, Kim T-W, Lee S-W, Lee C-Y, Lee S-J. Postnatal treadmill exercise attenuates prenatal stress-induced apoptosis through enhancing serotonin expression in aged-offspring rats. *J Exerc Rehabil.* 2015;11(1):12-9.
4. Gibala MJ, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exerc Sport Sci Rev.* 2008;36(2):58-63.
5. De Almeida AA, da Silva SG, Fernandes J, Peixinho-Pena LF, Scorza FA, Cavaleiro EA, et al. Differential effects of exercise intensities in hippocampal BDNF, inflammatory cytokines and cell proliferation in rats during the postnatal brain development. *Neurosci Lett.* 2013;553:1-6.
6. Secher NH, Seifert T, Van Lieshout JJ. Cerebral blood flow and metabolism during exercise: implications for fatigue. *J Appl Physiol.* 2008;104:306-14.
7. Chennaoui M, Drogou C, Gomez-Merino D. Effects of physical training on IL-1 β , IL-6 and IL-1ra concentrations in various brain areas of the rat. *Eur Cytokine Netw.* 2008;19(1):8-14.
8. Colbert L, Davis J, Essig D, Ghaffar A, Mayer E-P. Tissue expression and plasma concentrations of TNF α , IL-1 β , and IL-6 following treadmill exercise in mice. *Int J Sports Med.* 2001;22(04):261-7.
9. Zhang J-M, An J. Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol Clin.* 2007;45(2):27-37.
10. Smith LL. Overtraining, excessive exercise, and altered immunity. *Sports Med.* 2003;33(5):347-64.

11. Wang W-Y, Tan M-S, Yu J-T, Tan L. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. *Ann Transl Med.* 2015;3(10):136-51.
12. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Totsuka M, Sato K, Sugawara K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. *Cytokine kinetics. Exerc Immunol Rev.* 2002;8:6-48.
13. European journal of pharmacology International journal of biological sciences Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol.* 2008;585(2-3):325-37.
14. Erta M, Quintana A, Hidalgo J. Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *Int J Biol Sci.* 2012;8(9):1254-66.
15. Lou S-j, Liu J-y, Chang H, Chen P-j. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain Res.* 2008;1210:48-55.
16. De Almeida AA, Gomes da Silva S, Fernandes J, Peixinho-Pena LF, Scorza FA, Cavalheiro EA, et al. Differential effects of exercise intensities in hippocampal BDNF, inflammatory cytokines and cell proliferation in rats during the postnatal brain development. *Neurosci Lett.* 2013;553:1-6.
17. Lezi E, Burns JM, Swerdlow RH. Effect of high-intensity exercise on aged mouse brain mitochondria, neurogenesis, and inflammation. *Neurobiol Aging.* 2014;35(11):2574-83.
18. De Souza DC, Matos VAF, Dos Santos VOA, Medeiros IF, Marinho CSR, Nascimento PRP, et al. Effects of High-Intensity Interval and Moderate-Intensity Continuous Exercise on Inflammatory, Leptin, IgA, and Lipid Peroxidation Responses in Obese Males. *Front Physiol.* 2018;9:567-76.
19. Heavens KR, Szivak TK, Hooper DR, Dunn-Lewis C, Comstock BA, Flanagan SD, et al. The effects of high intensity short rest resistance exercise on muscle damage markers in men and women. *J Strength Cond Res.* 2014;28(4):1041-9.
20. Navalta JW, Tibana RA, Fedor EA, Vieira A, Prestes J. Three consecutive days of interval runs to exhaustion affects lymphocyte subset apoptosis and migration. *Biomed Res Int.* 2014;2014:1-6
21. Ghazali WSW, Romli AC, Mohamed M. Effects of honey supplementation on inflammatory markers among chronic smokers: a randomized controlled trial. *BMC Complement Altern Med.* 2017;17(1):175-81.
22. Vallianou N, Gounari P, Skourtis A, Panagos J, Kazazis C. Honey and its anti-inflammatory, anti-bacterial and anti-oxidant properties. *Gen Med (Los Angel).* 2014;2(132):1-5.
23. Hadagali MD, Chua LS. The anti-inflammatory and wound healing properties of honey. *Eur Food Res Technol.* 2014;239(6):1003-14.
24. Salehian O, Rashidi M, Sedaghat M. Oral supplementation of natural honey and levels of inflammatory and anti-inflammatory plasma cytokines during 10-week of intensive tread-mill training in endurance-trained athletes. *Biomed Res-India.* 2014;25(4): 459-62.
25. Chepulis LM, Starkey NJ, Waas JR, Molan PC. The effects of long-term honey, sucrose or sugar-free diets on memory and anxiety in rats. *Physiol Behav.* 2009;97(3-4):359-68.

26. Prakash A, Medhi B, Avti PK, Saikia UN, Pandhi P, Khanduja KL. Effect of different doses of Manuka honey in experimentally induced inflammatory bowel disease in rats. *Phytother Res*. 2008;22(11):1511-9.
27. Camelia Adly Abdel Malak KAKE, Mahmoud Mohamed Howas, Eslam Samy Elsherbiny. Protective Effect of Honey and Propolis against Carbon Tetrachloride (CCl₄)-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Biochemistry*. 2015;5(2):1-4.
28. Shepherd R, Gollnick P. Oxygen uptake of rats at different work intensities. *Pflug Arch*. 1976;362(3):219-22.
29. Mohebbi H, Garekani ET, Hedayati M, Fathi R. Effects of exercise training on high molecular weight adiponectin in healthy male rat. *IJEM*. 2009;11(3): 315-21. (in persian).
30. Bijeh N, Hejazi K, Delpasand A. Acute and Chronic Responses of Serum Leptin Hormone to Different Intensities of Exercise in Rats with Polycystic Ovarian Syndrome. *Pathobio Res*. 2015;18(1):95-106. (in persian).
31. Vincent HK, Powers SK, Stewart DJ, Demirel HA, Shanely RA, Naito H. Short-term exercise training improves diaphragm antioxidant capacity and endurance. *Eur J Appl Physiol*. 2000;81(1-2):67-74.
32. Freitas DA, Rocha-Vieira E, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, et al. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiol Behav*. 2018;184:6-11.
33. Zwetsloot KA, John CS, Lawrence MM, Battista RA, Shanely RA. High-intensity interval training induces a modest systemic inflammatory response in active, young men. *J Inflamm Res*. 2014;7:9-17.
34. Gorzi A, Ekradi S, Rahmani A. The Effect of 8 Weeks of Sprint Interval Training on Oxidative and Antioxidative Capacity of Heart, Liver and Skeletal Muscle in Male Wistar Rats. *Sport Phys*. 2018;10(37):123-38. (in persian).
35. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu F, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol*. 1993;265(6):2094-8.
36. Dorak MT. Real-time PCR. Newcastle: Taylor & Francis Group; 2007:1-307
37. Sahnugi Z, Hasenan SM, Jubri Z. Protective effects of gelam honey against oxidative damage in young and aged rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:1-9.
38. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS. Honey: a novel antioxidant. *Molecules*. 2012;17(4):4400-23.
39. Tavafzadeh SS, Ooi FK, Chen CK, Sulaiman SA. Changes in Bone Metabolism and Antioxidant Status with Combined Exercise and Honey Supplementation in Young Female Rats. *J Exerc Sports Orthop*. 2015;2(2):1-8.
40. Ma Y, Gao M, Sun H, Liu D. Interleukin-6 gene transfer reverses body weight gain and fatty liver in obese mice. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(5):1001-11.
41. Smith LL. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(2):317-31.
42. Gorzi A, Tofighi A, Amiri B. The effects of curcumin supplementation on oxidative stress induced during strenuous endurance training on the kidney and lung tissue. *SJKUMS*. 2017;13(25):75-86. (in persian).

43. Freitas DA, Rocha-Vieira E, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, et al. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiol Behav.* 2018;184:6-11.
44. Sheikholeslami-vatani D, Eidi A, Boubani B, Abdi M. The effects of one vs. two exhaustive sessions exercise on Cortisol, TNF- α and Adenosine Deaminase enzyme in endurance runners. *J Kermanshah Univ Med Sci.* 2012;16(2):109-18. (in persian).
45. Cabral-Santos C, Castrillón CI, Miranda RA, Monteiro PA, Inoue DS, Campos EZ, et al. Inflammatory cytokines and BDNF response to high-intensity intermittent exercise: effect the exercise volume. *Front Physiol.* 2016;7:509-17.
46. Mogharnasi M, Gaeini A, Sheikholeslami Vatani D. Comparing the effects of two training methods of aerobic and anaerobic on some pre-inflammatory cytokines in adult male rats. *IJEM.* 2010;11(2):191-8. (in persian).
47. Pedersen BK. Exercise and cytokines. *Immunol Cell Biol.* 2000;78(5):532-5.
48. Nasuti C, Gabbianelli R, Falcioni G, Cantalamessa F. Antioxidative and gastroprotective activities of anti-inflammatory formulations derived from chestnut honey in rats. *Nutr Res.* 2006;26(3):130-7.
49. Chepulis LM. The effects of honey compared with sucrose and a sugar-free diet on neutrophil phagocytosis and lymphocyte numbers after long-term feeding in rats. *JCIM.* 2007;4(1):1-7.
50. Jalili L, Hajizadeh B, Mohammadzadeh H, Tartibian B. The effects of honey solution before maximal aerobic exercise on immune responses in active young men. *J Urmia Univ Med Sci.* 2010;21(2):235-42. (in persian).
51. Tartibian B, Maleki BH. The effects of honey supplementation on seminal plasma cytokines, oxidative stress biomarkers, and antioxidants during 8 weeks of intensive cycling training. *J Androl.* 2012;33(3):449-61.
52. Samarghandian S, Farkhondeh T, Samini F. Honey and Health: A Review of Recent Clinical Research. *Pharmacognosy Res.* 2017;9(2):121-7.
53. Samarghandian S, Farkhondeh T, Samini F. Honey and health: A review of recent clinical research. *Pharmacogn Res.* 2017;9(2):121-7.
54. Tonks AJ, Cooper R, Jones K, Blair S, Parton J, Tonks A. Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine.* 2003;21(5):242-7.
55. Buba F, Gidado A, Shugaba A. Analysis of biochemical composition of honey samples from North-East Nigeria. *Biochem Anal Biochem.* 2013;2(3):139-46.
56. Wang J, Vanegas SM, Du X, Noble T, Zingg J-MA, Meydani M, et al. Caloric restriction favorably impacts metabolic and immune/inflammatory profiles in obese mice but curcumin/piperine consumption adds no further benefit. *Nutr Metab.* 2013;10(1):29-39.
57. Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, Stamenkovic-Pejkovic D, et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes (Lond).* 2009;33(1):151-6.
58. Winer S, Paltser G, Chan Y, Tsui H, Engleman E, Winer D, et al. Obesity predisposes to Th17 bias. *Eur J Immunol.* 2009;39(9):2629-35.

ارجاع دهی

رحمانی احمد، گرزلی علی، محمدی زهرا. اثر دو الگوی تمرین با نسبت روزهای استراحت به تمرین متفاوت و مصرف مکمل عسل طبیعی بر غلظت اینترلوکین-۶ سرم و بیان آن در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر نابالغ. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۲): ۳۲-۱۱۳. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2019.3748.1505

Rahmani A, Gorzi A, Mohammadi Z. The Effects of Two Models of Training with Different Days of Rest-to-Training Ratios and Natural Honey Supplementation on Serum Concentration of Interleukin-6 and its Hippocampal Gene Expression in Male Immature Rats. Summer 2019; 11(41): 113-32. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2019.3748.1505

The Effects of Two Models of Training with Different Days of Rest-to-Training Ratios and Natural Honey Supplementation on Serum Concentration of Interleukin-6 and its Hippocampal Gene Expression in Male Immature Rats

A. Rahmani¹, A. Gorzi², Z. Mohammadi³

1. Assistant Professor of Motor Behavior, University of Zanjan, Zanjan, Iran *
2. Associate Professor of Exercise Physiology, University of Zanjan, Zanjan, Iran
3. M.Sc. in Applied Exercise Physiology, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Received: 2018/11/05

Accepted: 2019/06/17

Abstract

This study was designed to investigate the effects of two models of training with different days of rest-to-training ratios of high-intensity interval training (HIIT) and natural honey supplementation on serum interleukin-6 (IL-6) and its expression in the hippocampus of immature Wistar rats. Thirty-six male rats were randomly assigned into six groups: control; honey (10% in drinking water); 4-day strenuous interval training; 4-day strenuous interval training+honey; 7-day strenuous interval training; and 7-day strenuous interval training+honey. They underwent HIIT (from 10-16 m/min in the first week to 36-40 in the last week) during 4-day (three days training, one day rest) and 7-day (six days training, one day rest) models for a month. Results demonstrated that the serum concentration of IL-6 was significantly ($P=0.001$) higher in the 7-day program in comparison with the control group. Supplementation with honey in the 7-day group resulted in a lower level of serum IL-6 compared with 7-day group alone ($P=0.018$). There was no significant difference between four days and control groups ($P=0.946$). Both 7-day ($P=0.007$) and 4-day ($P=0.005$) training programs lead to a significantly higher level of gene expression of IL-6 in the hippocampus. However, honey supplementation didn't modulate hippocampal gene expression in 4-day-honey ($P=0.983$) and 7-day-honey groups ($P=0.583$). Therefore, HIIT increases hippocampal gene expression of IL-6; however, longer period of training cause increase systemic inflammatory cytokines. Although honey supplementation couldn't adjust the central effect of the intensive interval training, it can ameliorate systemic inflammation. Also, honey hasn't anti-inflammatory effect in non-training and non-inflammatory conditions.

Keywords: High Intensity Interval Training, Honey, IL-6, Hippocampus

*Corresponding Author

Email: a_rahmani@znu.ac.ir