University of Birjand

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport *Research Paper*
Fall & Winter 2020, 8(16), 116-130
Received: Dec 24, 2018 *Accepted: Jun 11, 2019*

The effect of different intensities of acute and chronic aerobic activity on the signaling pathway of the inflammasome NLRP3 complex and TLR4 and some inflammatory cytokines in young men

Iman Khakroo Abkenar[1]*, Farhad Rahmani-nia[2], Giovanni Lombardi[3]

1. PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, University of Guilan, Rasht, Iran.
2. Full Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
3. Full Professor, IRCCS Istituto Ortopedico Galeazzi, Laboratory of Experimental Biochemistry and Molecular Biology, via Riccardo Galeazzi, Milano, Italy.

Abstract

Background and Aim: The results of the studies showed that the intensity and volume of aerobic exercise activities can make different responses to the immune system. The purpose of this study was to investigate the acute and chronic effects of moderate and high intensity aerobic exercises on the signaling pathway of the inflammatory NLRP3 complex or TLR4 and some inflammatory cytokines in young men. **Materials and Methods:** A randomized sampling method was used in which 60 subjects were selected based on their research. They were randomly divided into two groups (40 subjects) with a mean age of 24.4 ± 0.4 years and a BMI of 23.3 ± 3.5 kg/m^2 and in the control group (20 persons) with a mean age of 22.8 ± 0.55 years and BMI of 23.0 ± 4.91 kg/m^2. The training protocol for the moderate group performed up to 50 - 70 and for the high group up to 70 – 90 percent of maximum heart rate respectively. Using real time-PCR method, the expression of NLRP3, TLR4 genes and using the Elisa method IL-1β and IL-18 were measured. Also repeated measure ANOVA and the LSD post hoc- test were used to analyzing data at the significant level of $p<0.05$. **Results:** The results showed that acute aerobic exercise with moderate intensity had no significant effect on the expression of NLRP3 ($p=0.20$), TLR4 ($p=0.80$) genes and serum levels of IL-1β ($p=0.15$) and IL-18 ($p=0.25$) cytokines. While acute exercise with severity initiation of the activity of the inflammatory complex, with a significant increase in serum levels of IL-1β, IL-18 and, and expression of NLRP3 and TLR4 genes ($p=0.01$). Also moderate chronic aerobic exercise also significantly reduced the expression of NLRP3, TLR4 genes and serum levels of IL-1β, IL-18 cytokines ($p=0.001$). In the case of high chronic training, significant increases in expression of genes NLRP3, TLR4 and serum levels of IL-1β, IL-18 cytokines were observed ($p=0.0001$). **Conclusion:** It can be concluded that endurance chronic aerobic activity with moderate intensity is effective in decreasing the expression of the inflammasome and inflammation while acute aerobic activity with some intensities had no effect.

Key words: Aerobic exercise, Infalammasome, Inflammation, TLR4 gene expression.

***Corresponding Author, Address: Faculty of Sport Scienees, Guilan University, Rasht, Guilan Provience, Iran;**
Email: iman_abkenar@yahoo.com **DOI: 10.22077/JPSBS.2019.1982.1454**

نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش مقاله پژوهشی
پاییز و زمستان ۱۳۹۹، دوره ۸، شماره ۱۶، ص ۱۳۰-۱۱۶
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۱

اثر شدت های مختلف فعالیت حاد و مزمن هوازی بر مسیر پیام رسان اینفالامازوم NLRP3، TLR4 و سطوح سایتوکاین های التهابی در مردان جوان

ایمان خاکرو آبکنار[1*]، فرهاد رحمانی نیا[2]، جیوانی لومباردی[3]

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۳. استاد بیوشیمی بالینی، انستیتو ارتوپدیک گالاتزی، آزمایشگاه بیوشیمی و بیولوژی مولکولی، میلان، ایتالیا.

چکیده

زمینه و هدف: نتایج مطالعات نشان می دهد که شدت و حجم فعالیت ورزشی هوازی بر سیستم ایمنی پاسخ های متفاوتی دارد. هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر حاد و مزمن تمرینات هوازی با شدت متوسط و بالا بر مسیر پیام رسان اینفالامازوم NLRP3، گیرنده شبه گذرگاهی ۴ (TLR4) و سطوح سایتوکاین های التهابی در مردان جوان بود. **روش تحقیق**: تعداد ۶۰ نفر به طور تصادفی (بر اساس پیشینه تحقیق) به دو گروه تمرین (هر گروه ۲۰ نفر) و در گروه کنترل (۲۰ نفر) تقسیم شدند. پروتکل های تمرینی برای گروه تمرین متوسط از شدت ۵۰ درصد ضربان قلب بیشینه شروع و با افزایش تدریجی با شدت ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه به اتمام رسید. برای گروه بـا شـدت بـالا نیز تمرین با شدت ۷۰ درصد شروع و با شدت ۹۰ درصد ضربان قلب بیشینه به اتمام رسید. با استفاده از روش Real time-Pcr بیان ژن های NLRP3 و TLR4 و با روش الایزا سطوح سرمی IL-1β و IL-18 اندازه گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) با اندازه گیری مکرر و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد و سطح معنی داری آزمون ها p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. **یافتـه ها**: نتایـج نشان داد که تمرین حاد تک جلسه ای هـوازی با شدت متوسط تاثیـر معنی داری بر بیان ژن های TLR4 (p=۰/۸۰) و NLRP3 (p=۰/۲۰) و سطوح سرمی IL-1β (p=۰/۱۵) و IL-18 (p=۰/۲۵) ندارد؛ در حالی که تمرین حاد با شدت بالا با افزایـش معنـی دار سطوح IL-1β و IL-18 و بیان ژن های NLRP3 و TLR4 همـراه است (p<۰/۰۱). همچنین تمرینات مزمن هوازی با شدت متوسط باعث کاهش معنی دار بیان ژن های NLRP3 و TLR4 و سطوح IL-1β و IL-18 شد (p<۰/۰۰۱) و بـر عکس، تمرین مزمن با شدت بالا، افزایش معنی دار در بیان ژن های TLR4 و NLRP3 و سطوح IL-1β و IL-18 را بـه همـراه داشـت (p<۰/۰۰۰۱). **نتیجه گیری**: احتمالاً فعالیت مزمن هوازی با شدت متوسط می تواند در تنظیم کاهشی مسیر اینفالامازوم و التهاب موثر باشد، در صورتی که فعالیت حاد هوازی با شدت های مختلف، تاثیری بر کاهش مسیرهای التهابی ندارد.

واژه های کلیدی: فعالیت هوازی، اینفالامازوم، التهاب، ژن TLR4.

* نویسنده مسئول، آدرس: گیلان، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: iman_abkenar@yahoo.com
DOI: 10.22077/JPSBS.2019.1982.1454

مقدمه

ورزش و فعالیت بدنی دارای آثار مثبت و منفی بر سیستم ایمنی است. گزارش ها حاکی از آن است که تمرین ملایم و منظم، انتشار عفونت را کاهش می دهد؛ در حالی که تمرین بلند مدت شدید، یکی از دلایل سرکوب آنی تعداد زیادی از شاخص‌های سیستم ایمنی با توجه به شدت و مدت ورزش است (اسمیت[1] و دیگران، ۲۰۱۲؛ موندا[2] و دیگران، ۲۰۱۷). محققین معتقدند که ورزش به ویژه فعالیت بدنی شدید، باعث آسیب عضلانی شده و در آزاد کردن مواد گوناگون همانند پروتئین های درون سلولی و سایتوکاین ها نقش مؤثری دارد. فعالیت بدنی ممکن است باعث رخدادهایی همانند تولید رادیکال های آزاد لختگی[3]، آبشارهای انعقادی و نیز التهاب شود (اسلاتری[4] و دیگران، ۲۰۱۵). در جریان التهاب، میانجی های مختلفی از جمله سایتوکاین های پیش التهابی، اینترلوکین یک بتا[5] (IL-1β)، عامل نکروزی تومور آلفا[6] (TNF-α) و اینترلوکین– ۱۸[7] (IL-18) توسط سلول‌های دستگاه ایمنی آزاد می شوند و باعث تشدید پاسخ های ایمنی می گردند. شایان ذکر است که سایتوکاین ها آثار چندگانه و متفاوتی دارند، به طوری که معمولاً در حین فعالیت بدنی، آثار التهابی و در حین دوره ریکاوری، آثار ضدالتهابی دارند (پترسن[8] و دیگران، ۲۰۰۵). مرحله اول تشخیص عامل بیماری زا در اندام موجود زنده و شروع پاسخ های التهابی، توسط گیرنده های بخصوصی آغاز می شود، به نام گیرنده های شناساگر الگوی وابسته به پاتوژن[9] (PAMPs) که در سلول های ارگانیسم زنده دیده می شوند. این گیرنده ها به صورت درون سیتوزولی و خارج سیتوزولی بیان می شوند (ماوراکیس[10] و دیگران، ۲۰۱۵). یکی از مسیرهای پیام رسان موثر در التهاب، فعال شدن گیرنده شبه گذرگاهی[11] (TLR) است که پاسخی التهابی به حضور اسیدهای چرب اشباع می باشد (وار[12] و دیگران، ۲۰۱۴). TLR نوعی از گیرنده های الگوی شناساگر وابسته به پاتوژن[13] (DAMPs) هستند که سیگنال هایی در پاسخ به PAMPs را شروع می‌کنند. مشخص شده است التهاب با فراخوانی بیشتر TLR همراه است که باعث مراحل پس رخدادی و افزایش بیان سایتوکاین های التهابی مثل IL-18، IL-1β و TNF-α از طریق مسیرهای سیگنالی وابسته و غیر وابسته[14] (MYD88) می‌شود و کلیه این عوامل سریالی، منجر به التهاب مزمن سیستمیک و افزایش ریسک پذیری بیماری های عفونی می‌گردند (تکدا[15] و دیگران، ۲۰۰۵).

یکی از مهم ترین سایتوکاین های پیش التهابی حاصل از مسیر ذکر شده، IL-1β می باشد که به طور گسترده فرآیندهای التهابی را تحت تاثیر قرار می دهد و کنترل دقیق و تولید آن در سطوح رونویسی و پس از ترجمه مورد نیاز است. عملکرد اصلی IL-1β همانند TNF-α، عمل کردن به عنوان یک واسطه پاسخ التهابی میزبان در برابر عفونت ها و سایر محرک هاست. IL-1β به همراه TNF-α در ایمنی ذاتی و التهاب شرکت می کند. IL-1β همچنین پاسخ های التهابی را تنظیم کرده و در توسعه بازسازی[16] از طریق افزایش بیان متالوپروتئیناز ماتریکس دخالت می کند (میاو[17] و دیگران، ۲۰۰۶). مطالعات اخیر نشان از آن دارند که مجموعه دیگری از گیرنده های الگوی شناساگر وابسته به پاتوژن، گیرنده های NLRs[18] هستند که ممکن است نقش مهمی در تشخیص سیگنال های مرتبط و آغازگر پاسخ های التهابی داشته باشند. بر خلاف TLR ها، NLRs گیرنده های سیتوپلاسمایی هستند که عمده ترین نقش آن ها تشخیص اجزای میکروبی و یا سیگنال های پر خطر می‌باشد. پس از فعال‌سازی، برخی از پروتئین های NLR از جمله NLRP3، سبب فعال شدن کمپلکس اینفلامازوم می شود. که خود فعال شدن کاسپاز-۱[19] را در پی دارد؛ روندی که منجر به ترشح IL-1β و IL-18 می شود (موری[20] و دیگران، ۲۰۱۱). از دیگر سایتوکاین‌های التهابی موثر در مسیر سیگنالینگ اینفالامازوم، IL-18 می‌باشد که به صورت پرو-پروتئین بدون وجود توالی پیام سنتز می شود؛ یعنی فعال سازی و آزادسازی آن توسط

1. Smith
2. Monda
3. Thrombus
4. Slattery
5. Interleukin 1 beta
6. Tumor necrosis factor alpha
7. Interleukin 18
8. Petersen
9. Pathogen-associated molecular pattern
10. Maverakis
11. Toll-like receptor
12. Vaure
13. Damage-associated molecular pattern
14. Independ MYD88 and non-independet MYD88
15. Takeda
16. Remodeling
17. Miao
18. NOD-like receptors
19. Caspase 1
20. Mori

سیستئین پروتئاز کاسپاز –۱ کنترل می گردد. در واقع، کاسپاز -۱ مسئول پردازش و ترشح IL-18 و همچنین ترشح پروتئین های دیگری مثل IL-1B و فاکتور رشد فیبروبلاست-۲ از طریق یک مسیر غیر معمول در ترشح پروتئین است. در کل، کاسپاز-۱ برای فعالیت پاپتوزیس[1] مورد نیاز است (سانسونتی[2] و دیگران، ۲۰۰۰). تحقیقات بالینی نشان داده اند که سطوح بالای پلاسمایی IL-18 و IL-1β با بیماری‌های نقرس، دیابت، آلزایمر و آترواسکلروزیس رابطه معنی داری دارند. از این رو، کاهش فعالیت اینفلامازوم ممکن است در جلوگیری از آسیب هایی که باعث پاسخ التهابی در بیماری های کلیوی، قلبی و ایسکمی می شوند؛ اثرات مفیدی داشته باشد. از سوی دیگر، ویژگی های تقویت کننده[3] اینفلامازوم می تواند در افزایش ایمنی‌زایی مواد شیمی درمانی بکار رود و باعث تقویت اثرات واکسیناسیون و فراخوانی بیشتر سلول های حافظه ایمونولوژیکی و فعالیت بیشتر سیستم ایمنی اکتسابی گردد (لاست[4] و دیگران، ۲۰۰۹). بنابر این نمی‌توان منحصراً کمپلکس اینفلامازوم را مخرب دانست و از آنجا که شدت و حجم فعالیت ورزشی هوازی می تواند پاسخ های متفاوتی بر سیستم ایمنی داشته باشد محققین حوزه ایمونولوژی ورزشی علاقه مند به مطالعه آثار فعالیت کوتاه مدت و بلند مدت تمرینات ورزشی با شدت های مختلف بر سیستم ایمنی می‌باشند. فرناندز[5] و دیگران (۲۰۱۲) نشان داده اند که تمرین تک جلسه ای حاد باعث فعالیت التهابی بیشتر و فراخوانی TLR4 می شود، در صورتی که تمرین مزمن ۶ جلسه ای با شدت مشابه، از فعالیت التهابی کاسته و باعث تنظیم کاهشی TLR4 می گردد. گلیسون[6] و دیگران (۲۰۰۶) اثر تمرین مزمن و حاد با شدت های مختلف بر TLR4 را مطالعه کرده اند، اما رابطه آن با اینفلامازوم و گیرنده های الگوی شناساگر وابسته به پاتوژنز سیتوزولی، بررسی نشده است. مقایسه اثر مزمن تمرینات هوازی و مقاومتی، بر مسیر اینفلامازوم و سرامید[7] در موش های ویستار در مطالعه ماردنه[8] و دیگران (۲۰۱۶) نتایج ضد نقیضی به همراه داشته است؛ بدین صورت که بیان IL-18 بعد از اتمام دوره تمرینات هوازی و مقاومتی، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت؛ اما بیان IL-1β گروه هوازی و مقاومتی نسبت به گروه کنترل، کاهش نشان داد. ضمن آن که بیان اینفلامازوم در گروه تمرین هوازی افزایش و گروه تمرین مقاومتی، کاهش یافت. در مورد آثار تمرین حاد بر بیان TLR4، نتایج مبهم هستند. نتایج مطالعات ترا[9] و دیگران (۲۰۱۲) نشان داد که یک جلسه تمرین برون‌گرا در زنان جوان، منجر به تنظیم افزایشی بیان TLR4 از طریق مسیر پایین دست آن، یعنی JNK[10] می شود. از سوی دیگر، بوث[11] و دیگران (۲۰۱۰) نشان داده اند که تمرین حاد با شدت بالا، منجر به کاهش بیان TLR4 از طریق تنظیم کاهشی مونوسیت ها و ماکروفاژها می شود. لانکستر[12] و دیگران (۲۰۰۵) نیز نشان داده اند که بیان و عملکرد TLR4 به دنبال یک وهله تمرین هوازی طولانی مدت (۱/۵ ساعت تمرین دوچرخه سواری مداوم با ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، کاهش می‌یابد. مک فارلین[13] و دیگران (۲۰۰۶) هیچ تغییر معنی داری در بیان TLR4 سطح سلولی به دنبال یک وهله تمرین مقاومتی (سه نوبت، ۱۳ تکرار با ۸۰ درصد حداکثر یک تکرار بیشینه در ۹ گروه عضلانی) گزارش نکرده اند.

مطالعات بسیار محدودی در ارتباط با ورزش و اینفالامازوم در سطح جهانی انجام شده است. در همین رابطه، پنا[14] و دیگران (۲۰۱۷) تاثیر ۸ هفته تمرینات مقاومتی را در مردان سالخورده مورد مطالعه قرار داده و کاهش معنی دار عوامل دخیل در پیام‌دهی اینفلامازوم گروه تمرین را نسبت به گروه کنترل مشاهده کرده اند. این محققین همچنین کاهش بیان ژن NLRP3 و سطح سرمی پروتئین کاسپاز-۱ را گزارش نموده اند. نتایج کلی این مطالعه نشان از آن دارد که تمرین مزمن دراز مدت با شدت متوسط، یک عامل مهم در کاهش التهاب و سیگنالینگ اینفلامازوم می باشد و باعث تقویت بیشتر سیستم ایمنی می‌شود. از آنجا که کمپلکس اینفلامازوم یک یافته جدید در تحقیقات پاراکلینیکال است و نقش آن در انواع بیماری ها با سطوح مختلف متغیر و بسیار پر اهمیت می باشد و با توجه به این که پاسخ مسیر پیام رسان اینفلامازوم نسبت به میزان استرس و تنش سلولی متغیر است؛ می تواند در شدت‌های مختلف ورزشی

1. Paptosis
2. Sansonetti
3. Adjuvant
4. Lust
5. Fernandez
6. Gleeson
7. Ceramid
8. Mardene
9. Terra
10. JNK signaling pathway
11. Booth
12. Lancester
13. Mcfarlin
14. Pena

پاسخ‌های متفاوتی به همراه داشته باشد. بنابراین نیاز است مطالعاتی در مورد اثر حاد و مزمن فعالیت بدنی با شدت‌های مختلف، بر اینفلامازوم انجام گیرد. بر همین اساس، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر شدت (متوسط و بالا) فعالیت حاد و مزمن هوازی بر مسیر سیگنالینگ کمپلکس اینفالامازوم NLRP3 و TLR 4 و سطوح سایتوکاین های التهابی در مردان جوان می‌باشد.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع نیمه تجربی بود. نمونه های تحقیق از دانشجویان تربیت بدنی دانشگاه دانسک[1] لهستان انتخاب شدند. کلیه آزمودنی ها با تایید پزشک، هیچ گونه پیشینه بیماری های قلبی- عروقی، دیابت، ابتلا به بیماری های عفونی و شرایط آلرژیک تاثیر گذار بر دستگاه ایمنی نداشتند و پس از آگاهی از ماهیت تحقیق، رضایت کتبی خود را جهت شرکت در این مطالعه اعلام کردند. نمونه گیری به طور تصادفی از نمونه های در دسترس صورت گرفت و ۶۰ نفر از داوطلبان بر اساس پیشینه تحقیق، انتخاب شدند. وزن و قد آزمودنی ها در دو مرحله، پیش از شروع پروتکل تمرینی و پس از تمرین، اندازه‌گیری شد (کاوالکانته[2] و دیگران، ۲۰۱۷). همچنین از کالیپر هارپندن[3] ساخت کشور انگلستان برای اندازه‌گیری ضخامت چربی زیرپوستی و به منظور برآورد درصد چربی، از روش سه نقطه ای (سه سربازو، شکم و فوق خاصره) و معادله جکسون و پولاک[4] استفاده گردید (جکسون[5] و دیگران، ۱۹۷۸) مشخصات فردی شرکت کنندگان در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱. توصیف (میانگین ± انحراف استاندارد) مشخصات فردی گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها / ویژگی‌ها	تمرین با شدت متوسط	تمرین با شدت بالا	کنترل
سن (سال)	۲۲/۸۰±۰/۳۰	۲۲/۰۴±۰/۹۱	۲۲/۸۰±۰/۵۵
قد (سانتی‌متر)	۱۷۵/۸۰±۲/۲۳	۱۷۷/۰۳±۱/۷۴	۱۷۹/۵۰±۲/۱۹
وزن (کیلوگرم)	۷۵/۵۴±۲/۰۶	۷۷/۴۳±۲/۷۵	۷۵/۳۰±۲/۱۳
چربی (درصد)	۱۹/۷۷±۵/۳۶	۱۹/۳۳±۴/۶۷	۱۸/۹۸±۶/۸۷
نمایه توده بدن (کیلوگرم/ مترمربع)	۲۳/۸۰±۲/۶۵	۲۳/۹۸±۲/۷۶	۲۳±۴/۹۱

پروتکل های تمرینی: پس از انتخاب، آزمودنی ها به طور تصادفی به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند. در گروه تمرین ۴۰ آزمودنی شرکت داشتند که به طور تصادفی در دو زیر گروه تمرینی مجزا قرار گرفتند. گروه اول تمرین را با شدت متوسط و گروه دوم تمرینات را با شدت بالا اجرا کردند (هر گروه ۲۰ نفر)، اما گروه کنترل (۲۰ نفر) در هیچ برنامه تمرینی شرکت داده نشدند. بعد از جلسه آشناسازی، آزمودنی ها تمرینات ورزشی را با دو شدت متوسط و بالا طبق پروتکل بر روی ماشین ورزشی نوردیک‌تراک[6] ساخت کشور آمریکا به اجرا در آوردند. در حین انجام فعالیت، ضربان قلب آزمودنی ها توسط ضربان سنج ورزشی مونارک[7] ساخت کشور سوئد کنترل گردید.

برنامه تمرین ورزشی حاد و مزمن ۳ روز پس از خونگیری اولیه آغاز شد. برنامه گروه مزمن شامل ۳ ماه (۱۲ هفته) تمرین هوازی بود؛ جلسه اول تمرینی برنامه تمرین حاد بود و بعد از اتمام

1. Gdansk university
2. Cavalcante
3. Harpenden
4. Jackson & Pollock
5. Jackson
6. Nordic Track
7. Monark

این، جلسه خونگیری انجام گردید. سپس تمرینات مزمن ادامه پیدا کرد و بین جلسات تمرینی، یک روز فاصله قرار داشت، به طوری که هر هفته مشتمل بر ۳ جلسه تمرین بود. در شروع هر جلسه تمرین، آزمودنی ها به مدت ۵ دقیقه به طور سبک خود را گرم کرده و بعد پروتکل تمرین با دو شدت ۵۰ (گروه با شدت متوسط) و ۷۰ (گروه با شدت بالا) درصد حداکثر ضربان قلب را انجام دادند. به مرور شدت تمرین به ۷۰ (در گروه متوسط) و ۹۰ (در گروه بالا) درصد حداکثر ضربان قلب رسید که در طول ۳۰ دقیقه به اجرا درآمد. شدت عملکرد در هر هفته برای رعایت اصل بار اضافی به میزان معین برای هر آزمودنی، افزایش یافت. مراحل اجرای تحقیق در شکل ۱ نشان داده شده است.

شکل ۱. مراحل شماتیک تمرینات به اجرا درآمده

رویه های پیگیری شده مطابق استانداردهای اخلاقی اعلامیه هلسینکی[1] صورت پذیرفت و توسط کمیته داخلی پژوهش دانشگاه دانسک مورد تأیید قرار گرفت (GD-EU2301). پس از ۳ روز از اتمام تمرینات، خونگیری مجدد از آزمودنی ها اخذ گردید (گلیسون و دیگران، ۲۰۰۶). پیش و پس از اتمام برنامه، نمونه خون در حالت ناشتا گرفته شد تا برای اندازه گیری سطح سرمی سایتوکاین ها مورد استفاده قرار گیرد. نمونه گیری اول از ساعت ۷ تا ۹ صبح بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی و ۲۴ ساعت قبل از شروع تمرینات انجام گرفت. نمونه گیری دوم ۳ روز پس از آخرین جلسه تمرین (به منظور حذف آثار آخرین جلسه تمرین) از آزمودنی ها و در شرایط زمانی و محیطی مشابه با اندازه‌گیری‌های اولیه، اخذ گردید. در هر مرحله ۱۰ میلی لیتر خون از ورید بازویی دست راست در ناحیه آرنج گرفته شد. بعد از این که خونگیری از ورید بازویی به عمل آمد، نمونه ها به لوله های سرمی و لوله های حاوی ماده ضد انعقاد[2] (EDTA) انتقال یافتند. سپس نمونه های بدون ماده ضد انعقاد، برای اندازه گیری سطوح سرمی IL-18 و IL-1β با سانتریفیوژ جداسازی شدند تا برای تجزیه و تحلیل بعدی مورد استفاده قرار گیرد. از خون تام با ماده آغشته به EDTA نیز برای استخراج RNA استفاده گردید. سنجش سطوح سرمی سایتوکاین های التهابی با استفاده از روش کمّی الایزا لومینکس[3] انجام شد. از کیت های M500KCAF0Y BIO RAD و HD42 BIO RAD الایزا طبق مراحل کاتولوگ استفاده شد و سپس در دستگاه الایزاریدر[4] بیو راد[5] ساخت آمریکا با حساسیت در اندازه گیری معادل ۰/۰۶ نانوگرم/ میلی لیتر، صحت آزمایش مورد بررسی و سطوح سایتوکاین (IL-18 و IL-1B) اندازه گیری شد (نمزک[6] و دیگران، ۲۰۰۱)

استخراج RNA و سنتز cDNA: در مرحله نخست، ۱۰۰۰ میکرولیتر از خون تام به میکروتیوب های RNaseDNase Free ریخته شد و ۱۰۰۰ میکرو لیتر نیز محلول بافری لیزکننده سلولی به هر میکروتیوب اضافه گردید و پس از مخلوط کردن، به مدت دو دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور/ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس لایه رویی برداشته شد تا زمانی که یک پلت سفید رنگ در داخل میکروتیوب ظاهر گردد. پس از این مرحله، به مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول جداساز RNX-plus™ Reagent به پلت اضافه شد و سپس بر اساس کاتالوگ این محلول، مراحل به ترتیب انجام شد که عبارتند از: ۱) حدود ۱۰ ثانیه ورتکس و قرار دادن در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه، ۲) اضافه کردن کلروفورم، ۳) میکس کردن به مدت ۱۰ الی ۱۵ ثانیه، ۴) قرار دادن بر روی یخ به مدت ۵ دقیقه، ۵) سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، ۶) برداشتن فاز رویی میکروتیوب و انتقال آن به یک میکروتیوب جدید RNaseDNase Free و اضافه کردن حجم

1. Helsinki
2. Ethylenediaminetetra-acetic acid
3. ELISA– Luminex
4. Elisa reader
5. BIO RAD USA
6. Nemzek

برابری از ایزوپروپانول[1]، ۷) میکس کردن و قرار دادن بر روی یخ به مدت ۲۰ دقیقه، ۸) سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه، ۹) حذف مایع رویی و اضافه کردن ۱۰۰۰ میکرو لیتر اتانول[2] ۷۵ درصد، ورتکس‌پلت به مدت ۱۰ دقیقه و سانتریفیوژ با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰) حذف مایع رویی و خشک کردن پلت به مدت چندین دقیقه. ۱۱) میکس کردن پلت در ۵۰ میکرو لیتر آب مقطر و قرار دادن در حمام گرم ۶۰ درجه به مدت ۱۵ دقیقه. به این ترتیب RNA استخراج گردید و برای سنجش میزان غلظت و خلوص آن از دستگاه Spectrophotometer NanoDrop ND-1000 (bio rad USA) استفاده گردید. سپس برای هر نمونه یک میکرو لیتر از RNA را به میکرو تیوب های مخصوص کیت سنتز cDNA اضافه گردید و با استفاده از دستگاه PCR (bio rad usa) بر اساس کاتالوگ کیت آن در چرخه دمایی مذکور cDNA ها ساخته شدند. (کاوازاکی[3]، ۱۹۹۰).

روش RT-PCR: واکنش ها بر مبنای استفاده از رنگ SYBR®Green انجام شد. برای ارزیابی توالی اختصاصی ژن بتا اکتین به عنوان ژن رفرانس / ژن خدمتکار به همراه سیکل دمایی آنها به صورت تکراری انجام گرفت. پرایمرهای اختصاصی ژن TLR4 و NLRP3 و همچنین بتا اکتین[4] به عنوان رفرانس با استفاده از نرم افزار Genscript طراحی شد و با استفاده از نرم‌افزارهای OligoAnalyzer ارزیابی شدند. سپس برای تهیه پرایمرها، پودرهای لیوفیلیزه آنها از BIO RAD (USA) تهیه گردید. توالی پرایمرهای این سه ژن در جدول ۲ نشان داده شده است. برنامه دمایی مورد استفاده در Real-Time PCR شامل: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان نسبی بیان ژن های مورد نظر نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد. در نهایت، میانگین اعداد CT حاصل از دستگاه گرمایی نمونه های دابل کیت تغییرات در بیان ژن پیش و پس آزمون با در نظر گرفتن گروه کنترل به عنوان مبنا ارزیابی گردید. هنگامی که تغییرات در بیان ژن کمتر از ۱ بود، آنگاه کاهش بیان ژن هدف و اگر تغییرات در بیان ژن بیشتر از عدد ۱ بود، افزایش بیان ژن هدف در نظر گرفته شد. در پایان قبل از آنالیز داده ها منحنی ذوب (melting curve) به دست آمده، بررسی شد تا نقطه اوج مربوط به ژن های مورد نظر و فقدان پرایمر تایید شود. برای اطمینان از محصولات دستگاه گرمایی RT-PCR نمونه‌های بتا اکتین، NLRP3، TLR4 برای وجود DNA روی ژل آگارز[5] با الکتروفورز به نمایش گذاشته شد و سپس به وسیله دستگاه ژلداک[6] با اشعه فرابنفش تصویربرداری صورت گرفت.

جدول ۲. مشخصات توالی پرایمرهای ژن های مورد استفاده

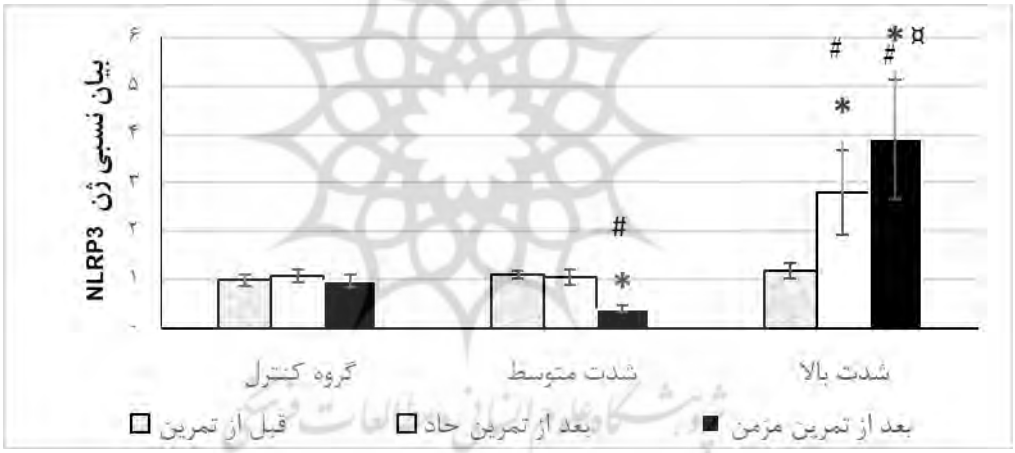
For: 5′- AATCCCTGCATAGAGGTACTTCCTAAT -3′tlr4
Rev: 5′- CTCAGATCTAGGTTCTTGGTTGAATAAG -3′
For: 5′ -TGGACTTCGAGCAAGAGATG -3β-actin
Rev: 5′-GAAGGAAGGCTGGAAGAGTG-3′
For: 5′-ATGAAGATGGCAAGCA CCCG-3′NLRP3
Rev: 5′-CTACCAA GAAGGCTCAAAGACGAC-3′

1.Isopropanol
2. Etanol
3. Kawasaki
4. Beta-actin
5. Agarose gel
6. Gel documentation

روش های آماری: پـس از تـأیید توزیع طبیعی داده‌ها تـوسط آزمون کلموگروف–اسمیرنوف[1] و تایید همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لون[2]، برای بررسی اختلاف میانگین درون گروهی از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) با اندازه گیری مکرر و برای مقایسه زوجی گروه ها با یکدیگر، از آزمون تعقیبی LSD[3] بهره‌برداری شد. تمام عملیات آماری تحقیق توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به اجرا در آمدند و سطح معنی داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

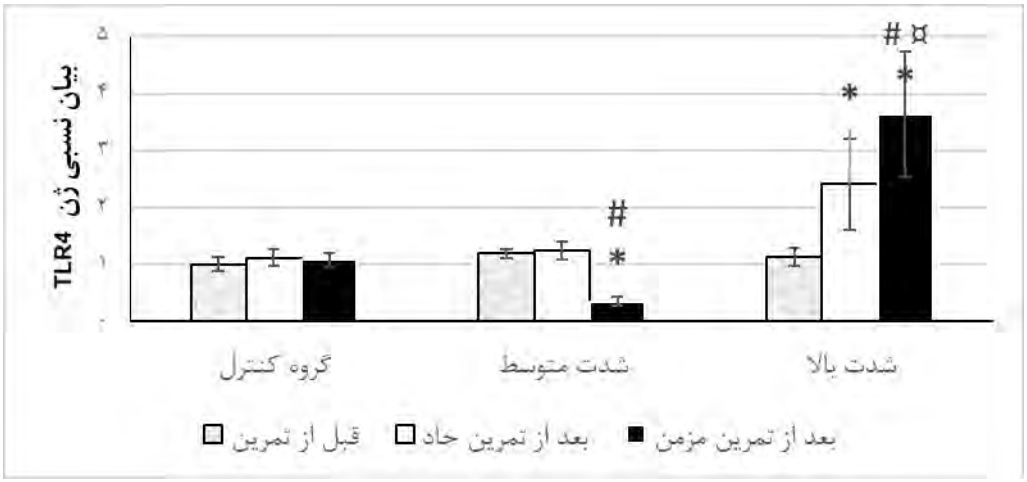
نتایـج آزمـون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر بر اساس اختـلاف میـانگیـن پیـش و پس آزمـون بـه همراه آزمون تعقیبـی LSD نشـان داد کـه بیان ژن TLR4 (p=۰/۸۰) و NLRP3 (p=۰/۲۰) و سطـوح سـرمـی IL-1β (p=۰/۱۵) و IL-18 (p=۰/۲۵) پس از یک جلسه تمرین حاد هـوازی با شدت متوسط نسبت به گروه کنتـرل، تغییر معنی داری ندارد (شکل ۱)؛ در صورتی که یک جلسه تمرین حاد هوازی با شدت بالا بیان ژن های TLR4 و NLRP3 و سطـوح سـرمی IL-18 و IL-1β را بـه طـور معنـی‌داری (p=۰/۰۱) افزایش داد (شکل ۲). همچنیـن پس از ۱۲ هفته تمرین مزمـن هـوازی با شدت متوسط، بیان ژن های TLR4 و NLRP3 و سطـوح سرمـی IL-18 و IL-1β با کـاهـش معنی‌داری (p=۰/۰۰۱) روبـه رو شـد (شکل ۳)؛ اما در همین مدت و تمریـن مزمن با شـدت بالا، بیـان ژن های TLR4، NLRP3 و سطـوح سـرمـی IL-1β و IL-18 بـه طـور معنـی‌داری (p= ۰/۰۰۰۱) افزایش یافتند (شکل ۴).



شکل ۱. مقایسه بیان ژن NLRP3 بین گروه های شرکت کننده در مراحل مختلف تحقیق.

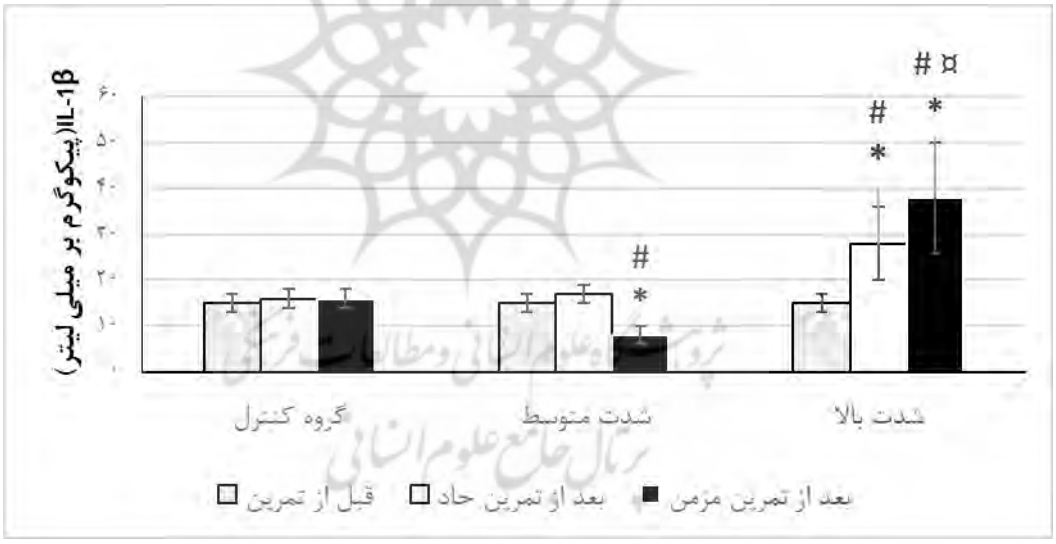
*** نشانه تفاوت معنی دار با قبل از تمرین (حاد و مزمن)؛ # نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در مرحله متناظر؛ ¤ نشانه تفاوت معنی دار با گروه تمرین متوسط و گروه کنترل؛ سطح معنی داری در کلیه موارد $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.**

1. Kolmogorov – Smirnov
2. Leven
3. Least significant difference



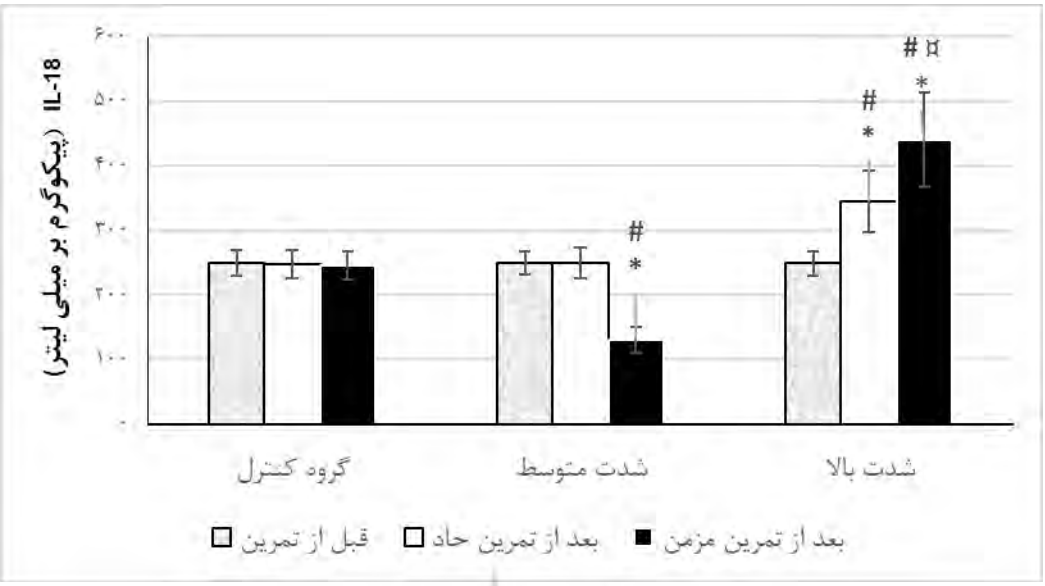
شکل ۲. مقایسه بیان ژن TLR4 بین گروه های شرکت کننده در مراحل مختلف تحقیق.

***نشانه تفاوت معنی دار با قبل از تمرین (حاد و مزمن)؛ # نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در مرحله متناظر؛ ¤ نشانه تفاوت معنی دار با گروه تمرین متوسط و گروه کنترل؛ سطح معنی داری در کلیه موارد ۰/۰۵ >p در نظر گرفته شده است.**



شکل ۳. مقایسه سطوح سرمی IL-1β بین گروه های شرکت کننده در مراحل مختلف تحقیق.

***نشانه تفاوت معنی دار با قبل از تمرین (حاد و مزمن)؛ # نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در مرحله متناظر؛ ¤ نشانه تفاوت معنی دار با گروه ه تمرین متوسط و گروه کنترل؛ سطح معنی داری در کلیه موارد ۰/۰۵ >p در نظر گرفته شده است.**



شکل ۴. مقایسه سطوح سرمی IL-18 بین گروه های شرکت کننده در مراحل مختلف تحقیق.
***نشانه تفاوت معنی دار با قبل از تمرین (حاد و مزمن)؛ # نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در مرحله متناظر؛ ¤ نشانه تفاوت معنی دار با گروه ه تمرین متوسط و گروه کنترل؛ سطح معنی داری در کلیه موارد ۰/۰۵ >p در نظر گرفته شده است.**

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین حاد هوازی با شدت متوسط تاثیر معنی داری بر بیان ژن های TLR4 و NLRP3 و سطوح سرمی سایتوکاین های IL-1β و IL-18 ندارد و باعث فعال شدن مسیر پیام رسان اینفالامازوم نمی شود. در صورتی که تمرین حاد با شدت بالا، با افزایش معنی دار سطوح سرمی سایتوکاین های التهابی IL-18 و IL-1β و بیان ژن های TLR4 و NLRP3 همراه است. به علاوه، تحقیق حاضر نشان داد که تمرینات هوازی مزمن ۱۲ هفته ای با شدت متوسط، باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن های TLR4 و NLRP3 و سطوح سرمی سایتوکاین‌های التهابی IL-1β و IL-18 می شود و بر عکس، تمرین هوازی مزمن ۱۲ هفته ای با شدت بالا، با افزایش معنی دار این شاخص ها همراه است. در مطالعاتی که به بررسی تاثیر تمرینات هوازی مزمن و حاد با شدت های مختلف بر مسیرهای التهابی و پیام رسان اینفالامازوم پرداخته شده است، گلیسون و دیگران (۲۰۰۶) همسو با نتایج تحقیق حاضر نشان داده اند که تمرینات حاد هوازی با شدت بالا، سبب افزایش در بیان ژن TLR4 شده و باعث افزایش سطوح سرمی و نیز بیان ژن پروتئینی سایتوکاین های التهابی مثل CRP، IL-1β، IL-10، IL-6 و TNF-α می شوند. این نوع از فعالیت وزشی می تواند باعث افزایش بیان سایتوکاین های التهابی و فراخوانی مسیرهای التهابی از جمله کمپلکس اینفالامازوم شود، زیرا که اینفالامازوم یک واکنش‌گر التهابی درون سیتوزولی است و فعالیت حاد با شدت بالا، یکی از محرک های این مسیر است. به علاوه، مزیت این تحقیق سنجش مسیر اینفالامازوم بوده که در تحقیقات قبلی وجود نداشته است. مک فارلین و دیگران (۲۰۰۶) هیچ تغییری در بیان TLR4 سطح سلولی به دنبال یک وهله تمرین مقاومتی (۳ ست، ۱۰ تکرار با ۸۰ درصد حداکثر یک تکرار) گزارش نکرده اند. همچنین، مک فارلین و دیگران (۲۰۰۴) در تحقیقی دیگر گزارش کرده اند که ورزش مقاومتی حاد بر بیان TLR4 و TLR2

مونوسیت‌های خون زنان مسن بی‌تأثیر است. به‌نظر می‌رسد تغییر بیان TLR4 پس از ورزش حاد، به روش تمرین و شرایط محیطی یا گروه‌های مورد مطالعه بستگی دارد. در تحقیق حاضر تمرین هوازی با شدت بالا به افزایشی اندک در TLR4 منجر شد، تغییری که به لحاظ آماری معنی دار بود. دلیل پاسخ ایجاد شده در بیان ژن TLR4 به ورزش، احتمالاً به مدت و شدت تمرین هوازی ارتباط دارد (لی[1]، ۲۰۱۱؛ وو[2] و دیگران، ۲۰۱۴). در مطالعه حاضر تمرین حاد هوازی با شدت متوسط تاثیر معنی‌داری در کاهش یا افزایش بیان ژن های TLR4 و NLRP3 و سطوح سرمی IL-1β و IL-18 نداشت و اختلافی بین گروه تمرین و کنترل مشاهده نشد. اندک تحقیقات انجام شده نشان می دهند که تمرین حاد یا با کاهش مسیر پیام دهی TLR4 همراه است و یا تاثیر معنی داری بر این مسیر ندارد (روزا[3] و دیگران، ۲۰۱۱؛ زبیندنفونسیا[4] و دیگران، ۲۰۱۲). مایه[5] و دیگران (۲۰۱۳) نشان داده اند که یک دوره تمرین بر روی نوارگردان پس از ایسکمی مغز، به تنظیم کاهشی بیان TLR4، TLR2 و MYD88 در بافت مغز موش‌ها منجر شده و ریکاوری موش‌ها بهبود می یابد. این محققین شواهدی دال بر سازوکارهای شروع پاسخ‌های التهابی ارائه داده اند که برخی از مسیرهای پاسخ التهابی به ورزش شامل مسیر اسید آراشیدونیک/ سیکلواکسیژناز، مسیر عامل هسته ای کاپابی[6] (NF-$_K$B) و مسیر TLR را شامل می‌شود. احتمالا محرک‌های خارجی و داخلی از جمله ویروس‌ها و باکتری‌های عفونی، رادیکال‌های آزاد و سایتوکاین‌ها می‌توانند NF-$_K$B را فعال و انتقال آن را به هسته برای رونویسی میانجی‌های پیش‌التهابی مانند سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها، مولکول‌های چسبان و پروتئین کینازها را تسهیل کنند. فعال شدن NF-$_K$B و پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، سبب تولید میانجی های پیش التهابی مانند IL-10، IL-16، IL-18، IL-1β و چندین اینترفرون و نیتریک اکساید می‌شود (ما[7] و دیگران، ۲۰۱۳). الیویرا[8] و دیگران (۲۰۰۱) نشان داده اند که تمرینات ورزشی طولانی مدت با کاهش بیان گیرندهٔ TLR4 در بافت‌های کبد، عضله و چربی همراه است و در نهایت، به بهبود وضعیت التهابی و مقاومت انسولین منجر می‌شود. به‌نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی هوازی منجر به تعدیل TLR ها منجر می‌شوند. شایان ذکر است در مطالعه حاضر تمرین هوازی مزمن با شدت متوسط، به کاهش شایان توجه در بیان TLR4 منجر شد.

از سوی دیگر، گزارش ها نشان از آن دارند که ورزش مزمن با شدت بالا، خود عامل افزایش التهاب و خطر ابتلا به عفونت مجاری فوقانی تنفسی[9] (URTI) می باشد. گلیسون و دیگران (۲۰۰۶) تاثیر مزمن ۸ هفته تمرین هوازی با شدت بالا را بر روی مردان بررسی کرده و افزایش بیان TLR4 و سایتوکاین‌های التهابی را مشاهده کرده اند. همچنین در دیگر مطالعات، فلین[10] و دیگران (۲۰۰۳) تاثیر دراز مدت (۱۰ هفته) برنامه مقاومتی با شدت متوسط را بر سطوح TLR4 در زنان میانسال بررسی کرده و کاهش معنی دار سطوح TLR4 را بدست آورده‌اند. استوارت[11] و دیگران (۲۰۰۵) اثر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی و هوازی با شدت متوسط بر بیان TLR4 در مردان را مقایسه کرده و کاهش معنی دار این شاخص پس از تمرینات هوازی و مقاومتی را نشان داده اند. همچنین مقایسه بین‌گروهی نتایج، حاکی از تفاوت معنی‌دار تر فعالیت مزمن هوازی نسبت به فعالیت مقاومتی در کاهش فاکتورهای التهابی بود. مکفارلین و دیگران (۲۰۰۴) نیز تاثیر تمرینات مزمن هوازی با دو شدت بالا و متوسط را بر سطوح TLR4 در زنان سالمند مطالعه نموده و نشان داده اند که تمرین با شدت بالا، با افزایش بیان TLR4 و سایتوکاین های التهابی و بر عکس، تمرین با شدت متوسط، با کاهش معنی دار این عوامل همراه است. در تحقیق حاضر نیز تاثیر تمرین با شدت بالا و شدت متوسط، مشابه با گزارش های ذکر شده است. کاوالکانته و دیگران (۲۰۱۷) در یک تحقیق مروری، نتایج تمام مطالعات انجام شده در ارتباط با فعالیت ورزشی و TLR4 را بررسی کرده و نشان داده اند که در ۴۰ درصد

1. Lee
2. Wu
3. Rosa
4. Zbinden-Foncea
5. Maye
6. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
7. Ma
8. Oliveira
9. Upper respiratory tract infection
10. Flynn
11. Stewart

مطالعات، بیان TLR4 پس از تمرین حاد هوازی، با کاهش همراه بوده است؛ در صورتی که در ۴۰ درصد تحقیقات، افزایش بیان TLR4 مشاهده شده است. همچنین در ۲۵ درصد مطالعات، افزایش بیان TLR4 و در ۵۸ درصد آن ها، کاهش بیان TLR4 پس از تمرینات مزمن هوازی، گزارش شده است.

مطالعات بسیار محدودی در زمینه تاثیر فعالیت بدنی بر سیستم اینفالامازوم انجام شده است. در این راستا، پنا و دیگران (۲۰۱۷) تاثیر ۸ هفته تمرینات مقاومتی را مردان سالخورده مورد مطالعه قرار داده و کاهش معنی دار مسیر پیام دهی اینفالامازوم؛ کاهش بیان ژن NLRP3 و سطح سرمی پروتئین کاسپاز-۱ را گزارش کرده اند. مقایسه اثر مزمن تمرینات هوازی و مقاومتی بر مسیر اینفالامازوم و سرامید در موش های ویستار در مطالعه ماردنه و دیگران (۲۰۱۶) نتایج ضد نقیضی به همراه داشته است، به طوری که بیان IL-18 بعد از اتمام دوره تمرینات هوازی و مقاومتی، افزایش یافت؛ ولی میزان IL-1β پس از هر دو تمرین کاهش پیدا کرد. این در حالی بود که بیان اینفالامازوم پس از تمرین هوازی افزایش و به دنبال تمرین مقاومتی، کاهش پیدا کرد. لی و دیگران (۲۰۱۶) نشان داده اند که تمرین حاد با شدت بالا، موجب افزایش استرس اکسیداتیو در میتوکندری شده و با افزایش بیان مسیر اینفالامازوم همراه است. آن ها افزایش بیان اینفالامازوم را به عنوان پاسخی دفاعی برای میتوفاژی میتوکندری های آسیب دیده ضروری دانستند (لی و دیگران، ۲۰۱۶). سازوکارهای احتمالی برای توضیح اثرات تمرینات هوازی بر سیستم اینفالامازوم و مسیر التهابی TLR4 را می توان به تقویت سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی، تنظیم منفی در بیان مسیرهای التهابی از جمله پیام رسان اینفالامازوم و کاهش بیان ژن NLRP3 و TLR4 و نیز سایتوکاین های پیش التهابی مثل IL-1β و IL-18 نسبت داد (گردن[1] و دیگران، ۲۰۱۸). ضمن آن که نتایج ناهمسوی مطالعات پیشین و تحقیق حاضر را می توان به محدودیت های مطالعه حاضر از قبیل عدم اطلاع دقیق از یکسان بودن سطح آمادگی جسمانی آزمودنی ها، تفاوت آزمودنی‌ها در تحمل و ادراک درد عضلانی، ویژگی های فیزیولوژیکی و روان شناختی آزمودنی ها، عادت و سازگاری آزمودنی‌ها نسبت به انجام تمرینات هوازی؛ نسبت داد.

نتیجه‌گیری: سازوکارهای دقیق در کاهش تنظیمی اینفالامازوم به فعالیت ورزشی مشخص نیست. نتایج این مطالعه نشان می دهد که برخی از شاخص های التهابی می توانند پس از تمرینات ورزشی، به ویژه فعالیت استقامتی کاهش یابند. در واقع، در بیشتر بیماری ها و شرایط التهابی، اینفالامازوم تنظیم افزایشی داشته و ورزش با شدت مناسب می تواند آن را کاهش دهد. در این مطالعه، پاسخ مسیر پیام رسان کمپلکس اینفالامازوم به فعالیت حاد و مزمن فعالیت هوازی با دو شدت متوسط و بالا نشان داده شد؛ با این حال پیشنهاد می شود مطالعاتی دیگر برای تعیین بهترین شدت و حجم فعالیت های ورزشی برای تنظیم کاهشی اینفالامازوم و التهاب، در آینده به اجرا درآید.

قدردانی و تشکر

نویسندگان این مقاله از مساعدت دانشگاه علوم ورزشی دانسک لهستان و انستیتو گالاتزی[2] میلان ایتالیا برای جمع آوری اطلاعات و همچنین همکاری آزمودنی های پژوهش حاضر که با صبر و حوصله، محقق را در فرآیند پژوهش یاری رساندند، قدردانی می نمایند.

1. Gordon
2. IRCCS Galeazzi orthopedic institute

منابع

Booth, S., Florida-James, G. D., McFarlin, B. K., Spielmann, G., O'Connor, D. P., & Simpson, R. J. (2010). The impact of acute strenuous exercise on TLR2, TLR4 and HLA. DR expression on human blood monocytes induced by autologous serum. *European Journal of Applied Physiology*, *110***(6), 1259-1268.**

Cavalcante, P. A. M., Gregnani, M. F., Henrique, J. S., Ornellas, F. H., & Araújo, R. C. (2017). Aerobic but not resistance exercise can induce inflammatory pathways via toll-like 2 and 4: a systematic review. *Sports Medicine-Open, 3***(1), 42**.

Fernandez-Gonzalo, R., De Paz, J. A., Rodriguez-Miguelez, P., Cuevas, M. J., & González-Gallego, J. (2012). Effects of eccentric exercise on toll-like receptor 4 signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Applied Physiology, 112***(12), 2011-2018.**

Fernandez-Gonzalo, R., De Paz, J. A., Rodriguez-Miguelez, P., Cuevas, M. J., & González-Gallego, J. (2014). TLR4-mediated blunting of inflammatory responses to eccentric exercise in young women. *Mediators of Inflammation, 2014,* **1-11.**

Flynn, M. G., McFarlin, B. K., Phillips, M. D., Stewart, L. K., & Timmerman, K. L. (2003). Toll-like receptor 4 and CD14 mRNA expression are lower in resistive exercise-trained elderly women. *Journal of Applied Physiology, 95***(5), 1833-1842.**

Gleeson, M., McFarlin, B., & Flynn, M. (2006). Exercise and Toll-like receptors. *Exercise Immunology Review, 12***(1), 34-53.**

Jackson, A. S., & Pollock, M. L. (1978). Generalized equations for predicting body density of men. *British Journal of Nutrition, 40***(3), 497-504.**

Lancaster, G. I., Khan, Q., Drysdale, P., Wallace, F., Jeukendrup, A. E., Drayson, M. T., & Gleeson, M. (2005). The physiological regulation of toll-like receptor expression and function in humans. *The Journal of Physiology, 563***(3), 945-955.**

Lee, W. J. (2011). IGF-I exerts an anti-inflammatory effect on skeletal muscle cells through down-regulation of TLR4 signaling. *Immune Network, 11***(4), 223-226.**

Li, H., Miao, W., Ma, J., Xv, Z., Bo, H., Li, J., Ji, L. L. (2016). Acute exercise-induced mitochondrial stress triggers an inflammatory response in the myocardium via NLRP3 inflammasome activation with mitophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016,* **1-11.**

Lust, J. A., Lacy, M. Q., Zeldenrust, S. R., Dispenzieri, A., Gertz, M. A., Witzig, T. E., … & Donovan, K. A. (2009). Induction of a chronic disease state in patients with smoldering or indolent multiple myeloma by targeting interleukin 1β-induced interleukin 6 production and the myeloma proliferative component. *Mayo Clinic Proceedings, 84***(2), 114-122.**

Ma, Y., He, M., & Qiang, L. (2013). Exercise therapy downregulates the overexpression of TLR4, TLR2, MyD88 and NF -κB after cerebral ischemia in rats. *International Journal of Molecular Sciences, 14***(2), 3718-3733.**

Mardare, C., Krüger, K., Liebisch, G., Seimetz, M., Couturier, A., Ringseis, R,. Mooren, F. C. (2016). Endurance and resistance training affect high fat diet-induced increase of ceramides, inflammasome expression, and systemic inflammation in mice. *Journal of Diabetes Research, 2016***(7), 23-444.**

Maverakis, E., Kim, K., Shimoda, M., Gershwin, M. E., Wilken, R., Raychaudhuri, S, Lebrilla, C. B. (2015). Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: a critical review. *Journal of Autoimmunity, 57***(3), 1-13.**

McFarlin, B. K., Flynn, M. G., Campbell, W. W., Craig, B. A., Robinson, J. P., Stewart, L. K., Coen, P. M. (2006). Physical activity status, but not age, influences inflammatory biomarkers and toll-like receptor 4. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, 61***(4), 388-393.**

McFarlin, B. K., Flynn, M. G., Campbell, W. W., Stewart, L. K., & Timmerman, K. L. (2004). TLR4 is lower in resistance-trained older women and related to inflammatory cytokines. *Medicine and science in Sports and Exercise, 36* **(11), 1876-1883.**

Mejías-Peña, Y., Estébanez, B., Rodriguez-Miguelez, P., Fernandez-Gonzalo, R., Almar, M., de Paz, J. A., Cuevas, M. J. (2017). Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects. *Aging (Albany NY), 9***(2), 408.**

Miao, E. A., Alpuche-Aranda, C. M., Dors, M., Clark, A. E., Bader, M. W., Miller, S. I., & Aderem, A. (2006). Cytoplasmic flagellin activates caspase-1 and secretion of interleukin 1β via Ipaf. *Nature Immunology, 7***(6), 569.**

Monda, V., Villano, I., Messina, A., Valenzano, A., Esposito, T., Moscatelli, F., Monda, M. (2017). Exercise modifies the gut microbiota with positive health effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017***(5), 33-131.**

Mori, M. A., Bezy, O., & Kahn, C. R. (2011). Metabolic syndrome: is Nlrp3 inflammasome a trigger or a target of insulin resistance? *Circulation Research, 108***(10), 1160-1162.**

Oliveira, A. G., Carvalho, B. M., Tobar, N., Ropelle, E. R., Pauli, J. R., Bagarolli, R. A., … & Saud, M. J. (2011). Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and toll–like receptor 4 activation and improves insulin signaling in tissues of diet-induced obesity rats. *Diabetes, 60***(3), 784-796.**

Petersen, A. M. W., & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of Applied Physiology, 98***(4), 1154-1162.**

Rosa, J. C., Lira, F. S., Eguchi, R., Pimentel, G. D., Venâncio, D. P., Cunha, C. A., … & Oller do Nascimento, C. M. (2011). Exhaustive exercise increases inflammatory response via toll like receptor-4 and NF-ΚBp65 pathway in rat adipose tissue. *Journal of cellular physiology, 226***(6), 1604-1607.**

Sansonetti, P. J., Phalipon, A., Arondel, J., Thirumalai, K., Banerjee, S., Akira, S., … & Zychlinsky, A. (2000). Caspase -1 activation of IL-1β and IL-18 are essential for Shigella flexneri–induced inflammation. *Immunity, 12***(5), 581-590.**

Slattery, K., Bentley, D., & Coutts, A. J. (2015). The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. *Sports Medicine, 45***(4), 453-471.**

Smith, A. M. A., Patrick, K., Heywood, W., Pitts, M. K., Richters, J., Shelley, J. M., ... & Ryall, R. (2012). Body mass index, sexual difficulties and sexual satisfaction among people in regular heterosexual relationships: a population-based study. *Internal Medicine Journal, 42***(6), 641-651.**

Stewart, L. K., Flynn, M. G., Campbell, W. W., Craig, B. A., Robinson, J. P., McFarlin, B. K., ... & Talbert, E. (2005). Influence of exercise training and age on CD14+ cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. *Brain, Behavior, and Immunity, 19***(5), 389-397.**

Takeda, K., & Akira, S. (2005). Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology, 17***(1), 1-14.**

Terra, R., Silva, S. A. G. D., Pinto, V. S., & Dutra, P. M. L. (2012). Effect of exercise on immune system: response, adaptation and cell signaling. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte, 18***(3), 208-214.**

Wu, X. D., Zeng, K., Liu, W. L., Gao, Y. G., Gong, C. S., Zhang, C. X., & Chen, Y. Q. (2014). Effect of aerobic exercise on miRNA-TLR4 signaling in atherosclerosis. *International Journal of Sports Medicine, 35***(04), 344-350.**

Zbinden-Foncea, H., Raymackers, J.-M., Deldicque, L., Renard, P., & Francaux, M. (2012). TLR2 and TLR4 activate p38 MAPK and JNK during endurance exercise in skeletal muscle. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 44***(8), 1463-1472.**

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی