

# Effect of endurance training and olive oil supplementation on CD22 and TLR4 factors in obese male ratsy

Masoumeh Sedighi<sup>1</sup>, Jabbar Bashiri<sup>1\*</sup>, AliReza NourAzar<sup>2</sup>, Hamdollah Hadi<sup>3</sup>

1. Department of Physical Education & Sport Sciences, Faculty of Humanities & Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2. Department of Veterinary, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3. Department of Physical Education & Sport Sciences, Amin Police University, Tehran, Iran

(Received: 2020/03/12

Accepted: 2020/09/5)

## Abstract

**Background:** Nowadays, considering the occurrence of various diseases as a result of inflammation, finding a solution for inflammations caused by various factors is very important. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of endurance training and complementation on the levels of CD22 and TLR4 in obese wistar rats.

**Methods and materials:** In an experimental study, 40 Wistar rats of two-month age range, were purchased from Pasteur Institute of Karaj and divided into four groups (each group including 10 animals) of high-fat diet without intervention, endurance training group, only olive supplement, and the olive supplement group with endurance training. Animals in the training groups underwent a two-month endurance training program (%80 maximal oxygen consumption). Also, in the olive oil supplement group, one gram of olive oil per kg body weight was fed daily through oral gavage. ELISA method was used to evaluate serum TLR4 and CD22 levels, Shapiro-Wilk test was used to evaluate the normal distribution of samples, and one-way and two-way ANOVA were run for the purpose of between groups comparisons ( $p < 0.05$ ).

**Results:** The results showed that two months of endurance training alone do not have a significant effect on inflammation (TLR4 ( $P = 0.09$ ), CD22 ( $P = 0.16$ )) in obese male Wistar rats. However, consumption of olive oil alone significantly reduced TLR4 ( $P = 0.009$ ) and CD22 ( $P = 0.008$ ). This is while two months of endurance training with oil consumption had no significant effect on TLR4 ( $P = 0.09$ ) and CD22 ( $P = 0.10$ ).

**Conclusions:** It seems that consumption of olive oil can reduce obesity-induced inflammation (TLR4) to some extent. However, further research is needed to fully reveal this.

**Keywords:** Endurance Training; Olive Oil Supplement; CD22; TLR4; Wistar Rats

\*Corresponding author: Jabbar Bashiri Tabriz

Email: bashiri.jabbar@gmail.com

## تأثیر تمرین استقامتی و مصرف مکمل روغن زیتون بر فاکتورهای CD22 و TLR4 رت‌های نر چاق

معصومه صدیقی<sup>۱</sup>، دکتر جبار بشیری<sup>۱\*</sup>، دکتر علیرضا نورآذر<sup>۲</sup>، دکتر حمداله هادی<sup>۳</sup>

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران  
 ۲. گروه علوم پایه دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران  
 ۳. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه علوم انتظامی امین، تهران، ایران

پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۱۵

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۲

### چکیده:

**سابقه و هدف:** با توجه به بروز بیماری‌های مختلف در اثر التهاب، امروزه یافتن راه‌حل برای التهاب‌های ناشی از عوامل مختلف بسیار مهم است؛ بنابراین هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل‌دهی روغن زیتون بر میزان فاکتورهای CD22 و TLR4 در رت‌های ویستار نر چاق بود. **روش مطالعه:** در پژوهش تجربی، 40 سر رت نژاد ویستار با دامنه سنی دو ماهه از انستیتو پاستور کرج خریداری و به چهار گروه (هر گروه 10 سر) کنترل همراه با رژیم پرچرب بدون مداخله، گروه فقط تمرین استقامتی و گروه فقط مکمل زیتون و گروه مکمل زیتون به همراه تمرین استقامتی تقسیم شدند. حیوان‌های گروه‌های تمرین به مدت دو ماه برنامه تمرین استقامتی (شدت 80 درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) را انجام دادند. در گروه مکمل روغن زیتون، یک گرم روغن زیتون به ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه از طریق گاواژ دهانی به آن‌ها خورانده شد. برای بررسی میزان TLR4 و CD22 سرمی از روش الایزا استفاده شد و در نهایت برای بررسی طبیعی بودن توزیع نمونه‌ها از آزمون شاپیروویلیک و برای مقایسه بین گروهی از آزمون آنالیز واریانس دواراه و تک راهه در سطح معناداری  $p < 0.05$  استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصله نشان داد دو ماه تمرین استقامتی به تنهایی تأثیر معناداری بر التهاب TLR4 ( $P=0.04$ )، CD22 ( $P=0.16$ ) رت‌های ویستار نر چاق نداشت. با این وجود مصرف روغن زیتون به تنهایی سبب کاهش معنادار میزان TLR4 ( $P=0.009$ ) و CD22 ( $P=0.008$ ) شد، در حالی که دو ماه تمرین استقامتی به همراه مصرف روغن بر میزان TLR4 ( $P=0.09$ ) و CD22 ( $P=0.10$ ) تأثیری نداشت. **نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد مصرف روغن زیتون تا حدودی می‌تواند التهاب ناشی از چاقی را کاهش دهد. هر چند برای آشکار شدن کامل به تحقیق‌های بیشتری در این زمینه نیاز هست.

**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی، مکمل روغن زیتون، TLR4، CD22، رت‌های ویستار

### مقدمه:

اختلال تنظیمی در رفتار بیولوژیکی بافت چربی نقش مهمی در شروع رخدادهای التهابی در چاقی و سندروم متابولیکی دارد که با آزادسازی واسطه‌های زیستی مانند پروتئین جاذب مونوسیت‌ها (MCP-1) همراه می‌شود و سبب نفوذ ماکروفاژ در بافت چربی می‌شود. ماکروفاژهای فعال شده ساکن و مهاجر (هر دو) در بافت چربی سبب شروع یک آبشار التهابی و آزادسازی سایتوکاین‌های مختلف التهاب‌زا مانند IL، TNF- $\alpha$  و ... از طریق فعال‌سازی و سیگنالینگ فاکتور هسته‌ای NF-kB می‌شود (۵). عوارض عمده همراه با افزایش چاقی و سندروم متابولیکی عبارت‌اند از: دیابت نوع دو (T2DM)، بیماری قلبی-عروقی (CVD)، بیماری کبد چرب، آپنه انسدادی خواب و برخی از سرطان‌های مرتبط با چاقی (۶). تحقیق‌های جدید نشان از بیان و فعال‌سازی گیرنده‌های ایمنی ذاتی مانند

چاقی یک اپیدمی جهانی محسوب می‌شود و تأثیر آن بر سلامت عمومی به نگرانی اساسی تبدیل شده است. آمار نشان می‌دهد که از هر ۱۰ نفر، ۳ نفر در جهان دارای اضافه‌وزن هستند (۱). چاقی یک ریسک فاکتور عمده برای توسعه سندروم متابولیک و دیگر اختلال‌های مرتبط با سلامتی است (۲، ۳). سندروم متابولیک با ابتلای ۳۵ درصدی از بزرگسالان آمریکایی بیش از ۲۰ سال سن، به منزله مجموعه‌ای از عوامل خطر ساز قلبی، از جمله چاقی شکمی، قند خون، فشارخون و دیس لیپیدمی شامل: تری‌گلیسیرید بالا و یا سطوح پایین کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا است (۴).

نویسنده مسئول: جبار بشیری

پست الکترونیک: bashiri.jabbar@gmail.com

## آشنایی آزمودنی‌ها با دویدن روی نوارگردان و گروه‌بندی آن‌ها:

پس از دو هفته نگهداری آزمودنی‌ها، نمونه‌ها به مدت ۱۴ روز تحت برنامه آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان الکتریکی حیوانی قرار گرفتند. این نوارگردان حیوانی هوشمند دارای پنج کانال جداگانه بود که همه آیت‌های مربوط به آن مانند مقدار شیب (مثبت و منفی)، سرعت و زمان توسط برنامه هوشمند کنترل می‌شد. همچنین این نوارگردان قابلیت برنامه‌ریزی برای ۲۰ برنامه جداگانه و اجرای خودکار آن‌ها را داشت. در این دوره مقدار شوک الکتریکی به میزان ۰/۱ میلی‌ولت ثابت بود. در دوره آشنایی، شیب نوارگردان صفر درصد، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۰-۵ دقیقه در روز بود (۱۶).

موش‌ها پس از مطابقت وزنی به طور تصادفی به پنج گروه: ۱- کنترل پایه (دو ماهه)، ۲- کنترل (شش‌ماهه)، ۳- تمرین استقامتی ۴- تمرین استقامتی و روغن زیتون ۵- روغن زیتون تقسیم‌بندی شدند. گروه کنترل پایه (دو ماهه) به تعداد ۱۰ سر در ابتدای دوره پژوهش برای کنترل متغیرهای پایه و به عنوان گروه مرجع در روش آزمایشگاهی مورد نظر، جراحی و نمونه‌برداری شده و در یخچال آزمایشگاه نگهداری شدند. گروه کنترل (شش‌ماهه) نیز موش‌های صحرایی نر سه ماهه و بیستار به تعداد ۱۰ سر که تا پایان دوره هشت هفته‌ای تحقیق در هیچ‌گونه تمرین ورزشی شرکت نکردند و به صورت آزادانه از غذای استاندارد و آب برخوردار بودند و در پایان دوره در سن شش ماهگی جراحی شدند. گروه روغن زیتون به تعداد ۱۰ سر در طول تحقیق، روغن زیتون را به میزان یک گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن (۰/۰۹ گرم  $\times$  سی‌سی سالیان) از طریق گاواژ دریافت کرده، ولی در تمرین‌های استقامتی شرکت نکردند و در نهایت، گروه‌های تمرین استقامتی و تمرین استقامتی و روغن زیتون نیز شامل ۲۰ سر موش صحرایی نر و بیستار بود که برای پنج روز در هفته (یکشنبه، دوشنبه، سه‌شنبه، پنجشنبه و جمعه) و به مدت هشت هفته در برنامه تمرین استقامتی روی نوارگردان الکتریکی هوشمند حیوانی شرکت کردند.

## تغذیه موش‌های صحرایی:

ابتدا غذای استاندارد موش‌ها محاسبه شده و بر اساس آن رژیم پرچرب استفاده شد. رت‌ها به مدت یک‌ماه تحت رژیم پرچرب قرار گرفتند. بعد از رژیم پرچرب تمرین‌های استقامتی و مکمل‌دهی روغن زیتون آغاز شد. شرایط زیستی حیوان‌ها در گروه کنترل به جز انجام تمرین‌های روزانه در سایر وقت‌ها مشابه گروه تمرین بود.

رت‌ها به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن روزانه به ۱۰ گرم پلت (غذای استاندارد رت‌ها) نیاز دارند. با این وجود، در این پژوهش رت‌ها به طور آزادانه به غذای پرچرب دست‌ساز محقق به اندازه موردنیاز دسترسی داشتند.

به دلیل موجود نبودن غذای پرچرب آماده مخصوص رت‌ها در ایران، غذای مورد استفاده در این پژوهش طبق نظر متخصصان دام و طیور تهیه شد. ترکیب‌های استفاده شده در تهیه غذای رت‌ها در جدول زیر آمده است. گاواژدهی از طریق دهان به وسیله سرنگ مخصوص به میزان ۵ سی‌سی هر صبح ساعت ۸ به رت‌ها و به مدت یک ماه خورنده می‌شد.

## برنامه تمرین استقامتی:

رت‌های چاق شده در هفته اول به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۲ متر در دقیقه روی تردمیل دویدند و با رعایت اصل اضافه بار تمرینی، هر هفته ۱۵ دقیقه به مدت و ۱ متر بر دقیقه به شدت تمرین اضافه شد تا در هفته هشتم به ۶۰ دقیقه با شدت ۲۹ متر به دقیقه رسید (۱۶).

در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرین، پنج دقیقه گرم کردن و پنج دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه انجام شد.

## جراحی و خونگیری:

همه حیوان‌ها گروه کنترل و تمرین و مکمل روغن زیتون، ۴۸ ساعت پس از

رسپتورهای شبه تول (TLRs) و فاکتور CD۲۲ در سلول‌های مختلف داده‌اند (۷). به نظر می‌رسد TLRs و پروتئین غشایی CD۲۲ با اثر مهار بر سلول‌های B به وضعیت التهاب مزمن چاقی و سندروم متابولیک کمک می‌کند. تحقیق‌ها نشان داده‌اند که افزایش بیان CD۲۲ و TLR۴ در نتیجه محیط التهابی با عوامل خطرزای قلبی-متابولیکی از جمله مقاومت به انسولین، T۲DM و آترواسکلروز همراه است. CD۲۲ یک گیرنده بازدارنده برای لئوسیت‌های B است و در تجمع این لئوسیت‌ها در پلاک‌های پی‌یر در موش نقش دارد (۷). همچنین گیرنده‌های شبه تول (TLRs)، گیرنده‌های بین غشایی شناخت الگو هستند که نقشی بالقوه در شناخت پاتوژن و پاسخ ایمنی ذاتی از طریق فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ التهابی مختلف دارند (۸). التهاب بافت چربی می‌تواند سبب القای وضعیت التهابی سیستمیک یا موضعی در بدن شود به طوری که این التهاب می‌تواند منشأ بسیاری از اختلال‌های متابولیک، دیابت نوع ۲ و بیماری قلبی-عروقی به شمار آید (۹،۱۰). فعالیت ورزشی از طریق آثار ضدالتهابی خود، نتایج سودمندی را در بیماری‌های متابولیکی واسطه‌گری می‌کند (۱۱). با توجه به آثار پیش‌التهابی لیپیدهای مختلف، تأثیر کلیدی ضدالتهابی فعالیت ورزشی، محدود کردن تجمع لیپید (از طریق کاهش توسعه بافت آدیپوز یا کاهش تجمع لیپید در عضله و کبد) است (۱۱). به علاوه، با محدود شدن توسعه بافت آدیپوز، فعالیت ورزشی فراخوانی ماکروفاژهای پیش‌التهابی M۱ و CD۸+ لئوسیت‌های T را کاهش می‌دهد (۱۰). رهاسازی سایتوکین‌ها مثل IL-۶ در عضله فعال و در نتیجه تولید آنتاگونیست گیرنده IL-۱ توسط منوسیت‌ها و ماکروفاژها، می‌تواند بیانگر عمل ضدالتهابی مهم فعالیت ورزشی باشد (۱۱). فعالیت ورزشی، همچنین می‌تواند بیان و فعال‌سازی TLR۴ را در بافت‌های مختلف و انواع سلول‌ها کاهش دهد و این موضوع به توانایی فعالیت ورزشی در حفاظت علیه آثار آسیب‌زای چاقی بر می‌گردد (۱۲).

همچنین در سال‌های اخیر علاقه زیادی به مطالعه روی گیاهان دارویی برای یافتن مکمل‌های ضدکاسایشی و نقش مصرف این ترکیب‌ها در محافظت بدن به وجود آمده است (۱۳). رژیم غذایی بومی مدیترانه غنی از غذاهای گیاهی (سبزیجات، میوه و دانه‌ها) و زیتون‌ها، روغن‌زیتون و چربی‌های جانوری اشباع به مقدار کم است. به تازگی آثار مثبت رژیم‌های غذایی با اسید چرب غیراشباع در درمان بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان موردتوجه قرار گرفته است. روغن زیتون حاوی این اسیدهای چرب غیراشباع است. ترکیب‌های روغن زیتون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدآرتریمی و ضدالتهابی و گشادکنندگی عروقی هستند. از جمله ترکیب‌های موجود در روغن زیتون هیدروکسی‌تایروزول است که دارای چندین خواص بیولوژیکی از جمله فعالیت ضدالتهابی، ضد قارچی، ضدویروسی و ضد باکتریایی است (۱۴، ۱۵).

با توجه به مباحث مورد اشاره و با توجه به اینکه تاکنون در زمینه میزان تأثیر تمرین استقامتی به همراه روغن زیتون بر فاکتور CD۲۲ و TLR۴ تحقیق‌های بسیار اندکی انجام شده است، سوال پژوهش حاضر این است که آیا یک دوره دو ماهه تمرین‌های استقامتی با و بدون مصرف روغن زیتون بر فاکتورهای CD۲۲ و TLR۴ در رت‌های بیستار چاق تأثیر گذار است؟

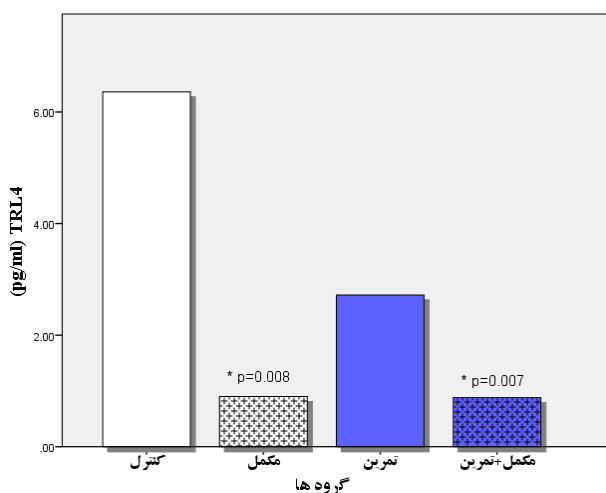
## مواد و روش‌ها:

روش تحقیق از نوع تجربی است که تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل روغن زیتون را بر فاکتورهای TLR۴ و CD۲۲ سرمی در موش‌های نر بیستار چاق می‌سنجد. ۴۰ سر رت نژاد بیستار جوان از انستیتو پاستور کرج خریداری شدند. حیوان‌های مورد آزمایش در این تحقیق در قفس‌های پلی‌کربنات ساخت شرکت انحصاری رازی راد با اندازه تقریبی ۲۱  $\times$  ۳۴  $\times$  ۵۴ سانتی‌متر نگهداری می‌شدند. برای جذب ادرار و مدفوع حیوان‌ها و همچنین راحتی آن‌ها از تراشه و بریده‌های چوب استفاده شد. هر دو روز یک بار، تراشه‌های چوب تعویض و هر هفته یک بار نیز قفس‌ها شست‌وشو و نظافت می‌شد. در مطالعه حاضر و در این دوره (سازگاری با محیط)، در هر قفس پنج سر موش صحرایی نگهداری می‌شد. همچنین برای تهیه جریان هوای حیوان‌خانه، از یک دستگاه تهویه معمولی استفاده شد. این دستگاه در تمام مدت شبانه روز روشن بود.

جدول ۳: نتایج وضعیت سابقه آسیب قلبی و آسیب جدید نمونه مورد بررسی

نتایج تحلیل واریانس		نتایج آزمون تعقیبی توکی	
Sig.	F	مقایسه بین گروهی	اختلاف متوسط (SE± میانگین)
۰/۰۰۸*	۵/۱ ± ۵/۴	کنترل با مکمل	
۰/۰۹	۳/۱ ± ۶/۴	کنترل با تمرین	
۰/۰۰۷*	۵/۱ ± ۵/۴	کنترل با مکمل+تمرین	
۰/۶۰	-۱/۱ ± ۸/۴	مکمل با تمرین	
۱/۰	-۰/۱ ± ۰۲/۴	مکمل با مکمل+تمرین	
۰/۵۹	۱/۱ ± ۸/۴	تمرین با مکمل+تمرین	

\* تفاوت معنادار (P<۰/۰۵)



نمودار ۱. سطوح سرمی TLR4 در گروه‌های بررسی شده پس از اعمال مداخله در رت‌های ویستار نر چاق

(\*معناداری در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵))

سرمی TLR4 رت‌های ویستار نر با رژیم پرچرب تأثیر دارد». برای بررسی این فرضیه از آزمون تحلیل واریانس دوره‌ها استفاده شده که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است. طبق نتایج این جدول، اثر تعاملی بین تمرین و مکمل وجود ندارد، بنابراین می‌توان اثر اصلی اجرای هشت هفته تمرین استقامتی را بررسی کرد. همان‌طور که در جدول ملاحظه می‌شود هشت هفته تمرین استقامتی بر سطوح TLR4 تأثیر معنادار ندارد. بر این اساس فرض دوم پژوهش رد شده و فرض صفر مبنی بر نبود تأثیر هفت هفته تمرین استقامتی بر سطوح سرمی TLR4 پذیرفته می‌شود. فرض سوم پژوهش بیان می‌کند که «هشت هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف مکمل روغن زیتون بر TLR4 سرمی رت‌های ویستار نر چاق تأثیر دارد». در جدول ۳ با توجه نتایج آزمون تعقیبی توکی، تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گروه مکمل+تمرین (P=۰/۰۰۷) مشاهده می‌شود. بنابراین، فرض سوم پژوهش مبنی بر تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف مکمل روغن زیتون پذیرفته شده و فرض صفر رد می‌شود. با این حال تعاملی بین تمرین و مکمل وجود ندارد (جدول ۳).

فرضیه چهارم پژوهش بیان می‌کند که «مصرف مکمل روغن زیتون بر سطوح سرمی CD۲۲ رت‌های ویستار نر چاق تأثیر دارد». برای آزمون این فرضیه از روش تحلیل واریانس دوره‌ها استفاده شد. از این رو پس از اجرای آزمون دوره‌ها برای بررسی وجود تعامل، برای مقایسه گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی جیمز-هاول استفاده می‌شود. نتایج در جداول ۳ ارائه شده است. با توجه به نتایج جدول ۷، اثر تعاملی معنادار نیست، بنابراین می‌توان به بررسی اثرهای اصلی پرداخت. نتایج نشان می‌دهد که تأثیر مصرف مکمل روی غلظت

آخرین جلسه تمرین، طبق برنامه از پیش تعیین شده و با استفاده از شیوه مناسب، بیهوش، کشته و جراحی شدند. در این تحقیق سعی بر آن بود تا حیوان‌های مطالعه شده در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار کشته شوند. بنابراین، ابتدا آزمودنی‌ها توسط روش تنفسی بی‌هوش و پس از آن بخش اعظم خون (حدود ۴-۵ میلی‌لیتر) آن‌ها برای بررسی استفاده شد. برای سنجش میزان فاکتور CD۲۲ و TLR4 سرمی از کیت الایزا شرکت My Bio Source به شماره کاتالوگ MB۵۷۲۲۱۸۲۶ استفاده شد.

### روش‌های تحلیل آماری:

ابتدا ویژگی‌های آزمودنی‌ها و داده‌های تحقیق با استفاده از آمار توصیفی در قالب جدول‌های مربوطه و به صورت میانگین، انحراف استاندارد و درصد تغییرها خلاصه و جمع‌بندی شد. همچنین در بخش استنباطی، ابتدا توزیع هنجار داده‌ها توسط آزمون شاپیروولک و تجانس واریانس به وسیله آزمون لون ارزیابی و تأیید شد. سپس برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های مربوطه در بین گروه‌های مورد نظر از آزمون Anova دو طرفه و سپس تعقیبی توکی یا جیمزهاول استفاده شد. در ضمن تمامی محاسبه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS۲۱ و در سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد.

### نتایج:

نتایج حاصل از آمار توصیفی این تحقیق به تفکیک گروه‌های آزمایشی و کنترل در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است.

جدول ۱. آمار توصیفی مربوط به سطوح سرمی TLR4 رت‌های نر چاق در گروه‌های کنترل و آزمایشی

گروه	میانگین (pg/ml)	خطای استاندارد (SE)	حداقل (pg/ml)	حداکثر (pg/ml)
کنترل (n=۱۰)	۶/۳۶	۱/۷۹	۰/۱۰	۱۱/۳۰
مکمل (n=۱۰)	۰/۹۰	۰/۴۱	۰/۲۰	۲/۵۰
تمرین (n=۱۰)	۲/۷۲	۰/۸۴	۰/۹۰	۵/۴۰

جدول ۱. آمار توصیفی مربوط به سطوح سرمی CD۲۲ رت‌های نر چاق در گروه‌های کنترل و آزمایشی

گروه	میانگین (pg/ml)	خطای استاندارد (SE)	حداقل (pg/ml)	حداکثر (pg/ml)
کنترل (n=۱۰)	۷۳۵/۴۶	۱۷۳/۶۱	۷۵/۳۰	۱۰۹۶/۲۰
مکمل (n=۱۰)	۱۵۱/۴۸	۳۳/۰۱	۵۸/۱۰	۲۵۹/۲۰
تمرین (n=۱۰)	۳۸۱/۴۲	۱۲۵/۷۸	۱۴۲/۸۰	۷۱۶/۰
تمرین+مکمل (n=۱۰)	۱۸۴/۷۸	۲۳/۳۷	۱۲۱/۲۰	۲۴۹/۰

با توجه به نتایج جدول ۳، اثر تعاملی معنادار نیست. بنابراین می‌توان به بررسی اثرهای ساده پرداخت. نتایج نشان می‌دهد که تأثیر مصرف مکمل روی غلظت سرمی TLR4 معنادار است (P=۰/۰۰۲). برای مقایسه تأثیر مصرف مکمل بین گروه‌ها نیاز به استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی (به دلیل همگنی واریانس‌ها و نبود معناداری آزمون لون) است. جدول ۶ نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی را نشان می‌دهد.

بر اساس آزمون تعقیبی توکی تفاوت معناداری بین گروه مکمل و کنترل (P=۰/۰۰۸) مشاهده می‌شود. به عبارت دیگر، فرضیه اول پژوهش مبنی بر تأثیر مصرف مکمل روغن زیتون بر غلظت سرمی TLR4 پذیرفته شده و فرض صفر رد می‌شود. فرضیه دوم پژوهش بیان می‌کند که «هشت هفته تمرین استقامتی بر سطوح



به‌نوبه خود منجر به فعالیت سیگنال درون‌سلولی فاکتور هسته‌ای کاپا و تولید سیتوکین‌ها می‌شود و تحریک دستگاه ایمنی ذاتی را به دنبال دارد (۱۷). در مطالعه Sorigure و همکارانش (۲۰۱۳) مشخص شد که مصرف روغن زیتون آثار مفیدی بر عوامل خطرزای قلبی-عروقی، به‌ویژه در صورت وجود چاقی و بهبود تحمل گلوکز دارد و همچنین می‌تواند بر غلظت سرمی TLR۴ تاثیر معناداری داشته باشد. جلیلی و همکارانش (۱۳۹۴) در مطالعه‌ای دریافتند که مصرف روغن زیتون در دوزهای متفاوت سبب کاهش سطح چربی خونی و محیطی می‌شود (۲۲). یکی از دلایل احتمالی کاهش التهاب پس از مکمل سازی روغن زیتون، برخورداری این مکمل از اسید اولئیک است که می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و سبب کاهش التهاب شود (۲۳).

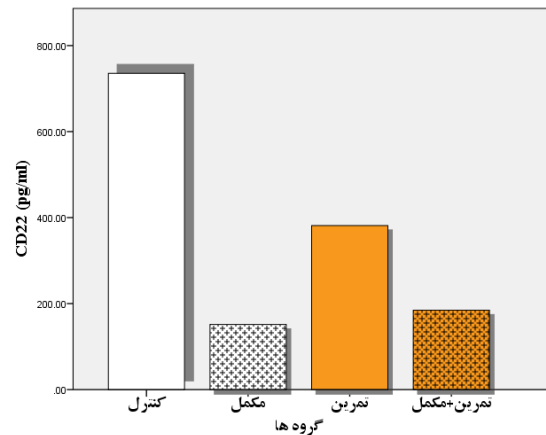
همچنین نتایج نشان داد که ۸ هفته تمرین استقامتی بر سطوح TLR۴ و CD۲۲ تاثیر معنادار ندارد. یافته‌های مطالعه حاضر با یافته‌های Booth و همکاران (۲۰۱۰) (۲۴)، و Lancaster و همکاران (۲۰۱۴) (۱۲) ناهمسو است. لان کاستر و همکاران بیان کردند که تمرین‌های ورزشی می‌تواند سطوح در گردش لیگاند‌های TLR (که در بیماری‌های متابولیک افزایش پیدا می‌کنند) را کاهش دهد (۱۲). ناتان و همکاران نشان دادند که سه هفته تمرین ورزشی (به‌صورت ۵ بار در هفته، دویدن روی نوار گردان با سرعت  $30 \text{ m/min}$  به مدت ۳۰ دقیقه در روز) سبب کاهش التهاب مغزی به‌واسطه کاهش معنادار بیان و میزان پروتئین TLR۴ درت‌های نر دچار سکنه مغزی شده است (۲۵). Zeng و همکاران نشان دادند که به دنبال تمرین ورزشی هوازی (۱۲ هفته و ۵ بار در هفته دویدن روی نوار گردان با سرعت  $13 \text{ m/min}$  به مدت ۶۰ دقیقه در روز) مقادیر TLR۴ و NF-KB در موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب کاهش داشته است (۱۴). نتایج پژوهش Booth و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشانگر آن بود که یک ساعت پس از این ورزش هوازی شدید بیان TLR۴ و TRL۲ در مونسیت‌ها افزایش یافته است. این نتیجه آن‌ها را به فرضیه‌شان که فعالیت‌های ورزشی استقامتی و شدید ممکن است از طریق تغییر در بیان گیرنده‌های TLR۴ موجود در سلول‌های خونی سبب تغییرهای موقتی در ایمنی ورزشکاران شود، نزدیک‌تر کرد (۲۴). همچنین نتایج پژوهش اولویورا و همکاران (۲۰۱۶) (۲۶)، زگمن و همکاران (۲۰۱۱) (۱۳) نیز نشان داد فعالیت ورزشی مقادیر پروتئین TLR۴ را کاهش می‌دهد.

فعالیت ورزشی یک جزء مهم از روش‌های کسب سلامت و یک شیوه جدایی‌ناپذیر برای کنترل چاقی است. انجمن دیابت آمریکا برای افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ پیشنهاد می‌کند که تمرین‌های هوازی را حداقل ۱۲۰ دقیقه با شدت متوسط یا حداقل ۹۰ دقیقه تمرین‌های هوازی با شدت بالا در هفته انجام دهند، بیشتر افراد هنوز معتقدند که برای بالا بردن سلامتی قلبی-عروقی و برای کاهش وزن بهترین حالت تمرین و ورزش همان تمرین‌های تداومی با شدت متوسط است که نیازمند صرف زمان زیادی هستند. به هرحال، کمبود زمان و کاهش قند خون که در تمرین‌های تداومی دیده می‌شود از موانع بهبود سطوح TLR۴ در نمونه مورد مطالعه است (۲۶).

همچنین نتایج نشان داد تاثیر مصرف مکمل زیتون روی غلظت سرمی CD۲۲ معنادار نیست. این پروتئین یک مولکول تنظیم‌کننده است که وظیفه‌اش جلوگیری از بیش‌فعالی دستگاه ایمنی و بروز بیماری‌های خود ایمنی است (۲۷). پژوهش‌ها نشان داده‌اند مداخله‌های سبک زندگی از قبیل فعالیت‌های ورزشی در مدیریت سطوح CD۲۲ تاثیر ندارد. شیوه‌های گوناگون ورزش آثار متفاوتی بر کنترل این مولفه دارند. تمرین استقامتی یا هوازی به عنوان بهترین روش، سبب کاهش غلظت تستوسترون و افزایش غلظت کورتیزول می‌شود و در مدیریت سطوح CD۲۲ تاثیر معناداری ندارد (۲۷).

نقش این پروتئین در بدن که از آن به عنوان یک ماده حیاتی یاد می‌شود واضح و روشن است و تاثیر آن در رشد و اعمال حیاتی بدن بسیار مهم است، به خصوص برای ورزشکاران. از لحاظ فیزیولوژیک،

سرمی CD۲۲ معنادار است ( $P=0.003$ ). با این حال برای مقایسه و تصمیم‌گیری دقیق‌تر تاثیر مصرف مکمل بین گروه‌ها نیاز به استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی جیمز-هاول (به دلیل نبود همگنی واریانس‌ها و معناداری آزمون لون ( $P=0.02$ )) است. جدول ۸ نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی جیمز-هاول را نشان می‌دهد.



نمودار ۲. سطوح سرمی CD۲۲ در گروه‌های بررسی شده پس از اعمال مداخله در رت‌های ویستار نر چاق

بر اساس آزمون تعقیبی جیمز-هاول تفاوت معناداری بین گروه مکمل و کنترل مشاهده نمی‌شود (نمودار ۲). به عبارت دیگر فرضیه اول پژوهش مبنی بر تاثیر مصرف مکمل روغن زیتون بر غلظت سرمی CD۲۲ رد شده و فرض صفر پذیرفته می‌شود.

فرضیه پنجم پژوهش بیان می‌کند که «هشت هفته تمرین استقامتی بر سطوح سرمی CD۲۲ رت‌های ویستار نر چاق تاثیر دارد». برای بررسی این فرضیه از آزمون تحلیل واریانس دوره‌ها استفاده شده که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است. طبق نتایج این جدول اثر تعاملی بین تمرین و مکمل وجود ندارد، بنابراین می‌توان اثر اصلی اجزای هشت هفته تمرین استقامتی را بررسی کرد. همان‌طور که در جدول ۸ ملاحظه می‌شود، هشت هفته تمرین استقامتی بر سطوح CD۲۲ تاثیر معنادار ندارد. بر این اساس، فرض پنجم پژوهش رد شده و فرض صفر پذیرفته می‌شود.

فرضیه ششم پژوهش بیان می‌کند که «هشت هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف روغن زیتون بر سطوح سرمی CD۲۲ رت‌های ویستار نر چاق تاثیر دارد». در جدول ۸ با توجه نتایج آزمون تعقیبی جیمز-هاول، تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گروه مکمل+تمرین مشاهده نمی‌شود. بنابراین، فرض ششم پژوهش مبنی بر تاثیر هشت هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف مکمل روغن زیتون رد شده و فرض صفر پذیرفته می‌شود.

## بحث:

نتایج نشان داد تاثیر مصرف مکمل زیتون روی غلظت سرمی TLR۴ معنادار است. نتایج حاصله با مطالعه‌های ربیعی و همکاران (۱۳۹۲) (۱۹) و مقدم‌نیا و همکاران (۱۳۹۵) (۱۷) ناهمسو و با مطالعه‌های Tutino و همکاران (۲۰۱۲) (۲۰)، de Bock و همکاران (۲۰۱۳) (۲۱) همسو است. یکی از مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار بر سلامتی، تغذیه است. الگوی مصرف مواد غذایی نقش مهمی در ایجاد بیماری‌ها یا پیشگیری از آن‌ها دارد. روغن‌ها یکی از اجزای اصلی رژیم غذایی هستند که مصرف صحیح آن‌ها می‌تواند در پیشگیری از برخی بیماری‌ها مفید واقع شود. یکی از این مواد، روغن زیتون است. ترکیب‌های روغن زیتون دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی، ضدآریتمی و ضدالتهابی و گشادکنندگی عروقی هستند (۱۴). روغن زیتون سبب بهبود تنظیم گلوکز، افزایش تری‌گلیسیرید سرم و کاهش سطوح لیپوپروتئین با تراکم بالا (HDL) سرم می‌شود. فعال شدن این پروتئین

هیدروکسی تایروزول است که دارای چندین خواص بیولوژیکی از جمله فعالیت ضدالتهابی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد باکتریایی است (۱۸). با توجه به نتایج، پیشنهاد می‌شود برای افزایش غلظت TLR۴ از مکمل روغن زیتون استفاده شود. همچنین پیشنهاد می‌شود تمرین استقامتی به همراه مصرف مکمل روغن زیتون برای تاثیرگذاری بر میزان TLR۴ استفاده شود. همچنین با توجه به این که در مطالعه حاضر، با وجود کاهش مشاهده شده در متغیرهای مورد مطالعه پس از دوره تمرینی، این متغیرها هنوز نسبت به گروه کنترل در سطح بالاتری قرار داشتند، توصیه می‌شود طول دوره، شدت و حتی نوع تمرین هوایی بر میزان کاهش این متغیرها بررسی شود. به نظر می‌رسد مورد مذکور در نتایج حاصل از تمرین‌های ورزشی تاثیرگذار باشد. از طرفی با توجه به محدودیت‌های پژوهش حاضر نظیر نبود امکان آزمایش‌های وسترن بلات و آزمایش‌های موازی روی نمونه‌های سرم خون، پیشنهاد می‌شود در آینده مطالعه‌های مشابهی با در نظر گرفتن آزمایش‌های مذکور انجام گیرد.

### منابع:

1. Štimac D, Majanović SK, Belančić A. Endoscopic Treatment of Obesity: From Past to Future. *Digestive Diseases*. 2020;38(2):1-13.
2. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019;15(5):288.
3. Rada I, Deldicque L, Francaux M, Zbinden-Foncea H. Toll like receptor expression induced by exercise in obesity and metabolic syndrome: A systematic review. *Exercise immunology review*. 2018;24.
4. Jialal I, Kaur H, Devaraj S. Toll-like receptor status in obesity and metabolic syndrome: a translational perspective. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(1):39-48.
5. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. *Harrison's principles of internal medicine*, 19e. 2015.
6. Könnner AC, Brüning JC. Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2011;22(1):16-23.
7. Lee M, Kiefel H, LaJevic MD, Macauley MS, Kawashima H, O'Hara E, et al. Transcriptional programs of lymphoid tissue capillary and high endothelium reveal control mechanisms for lymphocyte homing. *Nature immunology*. 2014;15(10):982.
8. Feng Y, Chao W. Toll-like receptors and myocardial inflammation. *International journal of inflammation*. 2011;2011.
9. Fresno M, Alvarez R, Cuesta N. Toll-like receptors, inflammation, metabolism and obesity. *Archives of physiology and biochemistry*. 2011;117(3):151-64.
10. Kugelberg E. Pattern recognition receptors: curbing gut inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2014;14(9):583.
11. Rostamizadeh M, Elmieh A, Rahmani nia F. The Effect of Aerobic and Resistance Exercises on Serum Osteocalcin levels, Insulin Resistance and Pancreas Beta Cell Function in Overweight Men: A Clinical Trial. *JRUMS*. 2019; 18 (1) :55-70. [Full Text in Persian]
12. Lancaster GI, Febbraio MA. The immunomodulating role of exercise in metabolic disease. *Trends in immunology*. 2014;35(6):262-9.
13. Pakmehr M, Jahantighe Haghighi M, Taheri Tizabi S. A Review on Medicinal Plants Used in Treatment of Obesity and Overweight. *jiitm*. 2017; 8 (3) :323-334. [Full Text in Persian]
14. Owen R, Mier W, Giacosa A, Hull W, Spiegelhalder B, Bartsch H. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration

and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*. 2000;38(8):647-59.

15. Covas M-I, Ruiz-Gutiérrez V, De La Torre R, Kafatos A, Lamuela-Raventós RM, Osada J, et al. Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans. *Nutrition Reviews*. 2006;64(suppl\_4):S20-S30.

16. Ahmadi N, Farsi S, Azarbayjani MA. The Effect of High Intensity Interval Training and Endurance Training on the cAMP Gene Expression and Glycerol in the Heart Tissue of Obese Rats. *International Journal of Applied Exercise Physiology*. 2019; 8(1): 159-169.

17. Moghadamnia D, Mokhtari M, Khatamsaz S. Effects of olive oil on kidney, lipid and liver function in male rat. *MEDICAL SCIENCES*. 2016; 26 (3) :157-165. [Full Text in Persian]

18. Farràs M, Castañer O, Martín-Peláez S, Hernández Á, Schröder H, Subirana I, et al. Complementary phenol-enriched olive oil improves HDL characteristics in hypercholesterolemic subjects. A randomized, double-blind, crossover, controlled trial. *The VOHF study. Molecular nutrition & food research*. 2015;59(9):1758-70.

19. Rabiei Z, Bigdeli M, Mohagheghi F. Effect of dietary virgin olive oil on infarct volume and brain ceramide, cerebroside and phosphatidylcholine levels in rat stroke model. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2013;15. [Full Text in Persian]

20. Tutino V, Caruso MG, Messa C, Perri E, Notarnicola M. Antiproliferative, antioxidant and anti-inflammatory effects of hydroxytyrosol on human hepatoma HepG2 and Hep3B cell lines. *Anticancer research*. 2012;32(12):5371-7.

21. de Bock M, Derraik JG, Brennan CM, Biggs JB, Morgan PE, Hodgkinson SC, et al. Olive (*Olea europaea* L.) leaf polyphenols improve insulin sensitivity in middle-aged overweight men: a randomized, placebo-controlled, crossover trial. *PLoS one*. 2013;8(3).

22. Owen R, Haubner R, Würtele G, Hull W, Spiegelhalder B, Bartsch H. Olives and olive oil in cancer prevention. *European Journal of Cancer Prevention*. 2004;13(4):319-26.

23. Tartibian B, Parse R, Baghaiee B. Effect of olive oil on IL-6, TNF- $\alpha$  and cortisol hormone levels in active girls after one session of an exhaustive exercise: a brief report. *Tehran Univ Med J*. 2013; 71 (6) :404-409. [Full Text in Persian]

24. Booth S, Florida-James GD, McFarlin BK, Spielmann G, O'Connor DP, Simpson RJ. 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.* 2010;110(6):1259-68.
25. Lansford KA, Shill DD, Dicks AB, Marshburn MP, Southern WM, Jenkins NT. Effect of acute exercise on circulating angiogenic cell and microparticle populations. *Experimental physiology.* 2016;101(1):155-67.
26. Ma Y, He M, Qiang L. Exercise therapy downregulates the over-expression of TLR4, TLR2, MyD88 and NF- $\kappa$ B after cerebral ischemia in rats. *International journal of molecular sciences.* 2013;14(2):3718-33.
27. Hatta Y, Tsuchiya N, Matsushita M, Shiota M, Hagiwara K, Tokunaga K. Identification of the gene variations in human CD22. *Immunogenetics.* 1999;49(4):280-6.
28. Crocker PR, Clark E, Filbin M, Gordon S, Jones Y, Kehrl J, et al. Siglecs: a family of sialic-acid binding lectins. *Glycobiology.* 1998;8(2):v.