

## اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف کافئین بر سطوح پلاسمایی IL-2 و IL-4 موش‌های صحرایی نر دیابتی

مریم سید حیدری<sup>۱</sup>، عباس صادقی<sup>۲\*</sup>، علی همتی عقیف<sup>۲</sup>

### چکیده

**مقدمه:** سایتوکاین‌ها از عوامل مرتبط با سیستم ایمنی هستند. تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی در بیماران دیابتی افزایش می‌یابد و با انجام تمرینات شدید ورزشی نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد. پژوهش حاضر به بررسی پاسخ شاخص پیش التهابی اینترلوکین ۲ (IL-2) و شاخص ضدالتهابی اینترلوکین ۴ (IL-4) به یک دوره تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف کافئین در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (STZ) می‌پردازد.

**روش‌ها:** در یک مطالعه حیوانی بالینی-مداخله‌ای ۵۰ سر موش صحرایی نر به ۵ گروه مساوی کنترل (C)، دیابت (D)، دیابت با مکمل (D+Ca)، دیابت با تمرین (D+T)، دیابت با مکمل و تمرین (D+Ca+T) تقسیم شدند. برنامه‌ی تمرین شامل ۸ هفته و هفته‌ای ۵ جلسه (۶ تا ۱۲ و هله‌ی ۲ دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد سرعت ماکسیمم) بود که هر هفته پنج روز ۷۰ mg/kg کافئین به صورت هیدراته تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی، فاکتورهای ایمنونولوژیک سرم شامل IL-2 و IL-4 اندازه‌گیری شدند. تحلیل آماری متغیرها با آزمون‌های One-way و ANOVA و Tukey در سطح معناداری ( $P < 0.05$ ) انجام گردید.

**یافته‌ها:** نتایج تحقیق نشان داد که گروه D+Ca به‌طور معناداری دارای کمترین میانگین غلظت IL-2 نسبت به گروه D بود ( $P = 0/001$ ). IL-4 بیشترین غلظت را در دو گروه D+Ca و D+Ca+T داشت ( $P = 0/001$ ). ولی این تفاوت‌ها در دو بین گروه D+Ca+T و D+T نسبت به هم معنادار نبود ( $P = 0/67$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد کافئین بر بهبود وضعیت IL-2 و IL-4 در رت‌های مبتلا به دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین نقشی مؤثر دارد ولی تمرینات HIIT در این مورد مؤثر نیست.

**واژگان کلیدی:** تمرین تناوبی شدید، کافئین، دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین، اینترلوکین ۲، اینترلوکین ۴

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

۲- گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم اجتماعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

\***نشانی:** قزوین، بلوار شهید سردار سلیمانی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، دانشکده‌ی علوم اجتماعی، گروه علوم ورزشی، کدپستی ۳۴۱۴۸۹۶۸۱۸، تلفن: ۰۲۸۳۳۹۰۱۷۸۲، نمابر: ۰۲۸۳۳۷۸۰۰۸۴، پست الکترونیک: sadeghi@soc.ikiu.ac.ir

## مقدمه

طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، تعداد افراد دیابتی از ۱۸۰ میلیون نفر در سال ۱۹۸۰ به ۴۲۲ میلیون نفر در سال ۲۰۱۴ افزایش یافته و هم‌اکنون ۱۰ درصد از جمعیت جهان به این بیماری مبتلا هستند [۱]. تحقیقات نشان داده‌اند که حضور سطوحی از التهاب سیستمیک، مستقل از کنترل قند خون، به ایجاد عوارض بیماری دیابت، مخصوصاً بیماری قلبی-عروقی کمک می‌کند [۲]. برای اولین بار در اوایل دهه‌ی ۱۹۹۰ بود که التهاب را به‌عنوان عامل اصلی مقاومت به انسولین و ابتلا به دیابت شناسایی کردند [۳]. درک ما از نقش سلول T در پاتوژنز دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین (STZ)<sup>۱</sup> در سال‌های اخیر به‌سرعت در حال رشد است. طبق مطالعات، سلول‌های Th1 و Th2 در تنظیم پروتئین التهابی و آزاد شدن مقدار زیادی از سایتوکاین‌ها نقش مهمی دارند [۴]. اینترلوکین‌ها گروه بزرگی از سایتوکاین‌های تولید شده هستند که در رشد و تمایز ایمنی سلول‌ها در بدن فعالیت دارند. IL-2<sup>۲</sup> به‌عنوان سایتوکاین پیش التهابی توسط سلول‌های Th1 ترشح می‌شود و تحت تأثیر IL-4<sup>۳</sup> است که توسط سلول‌های Th1 بیان می‌شود [۵]. ورزش در بیان IL-2 نقش زیادی دارد و سطح آن در مواجهه با عوامل التهابی در خون افزایش می‌یابد [۶]. سایتوکاین‌های پیش التهابی در آسیب‌رسانی به بافت‌های حساس انسولین و ایجاد مقاومت به انسولین نیز نقش دارند [۷]. سایتوکاین‌های ضدالتهابی پپتیدها یا پروتئین‌هایی هستند که توسط سلول‌های دستگاه ایمنی در پاسخ به التهاب ترشح شده و عامل محدودکننده و معکوس‌کننده فرآیند پیش‌رونده‌ی التهاب هستند [۸]. IL-4 و IL-10 به‌عنوان سایتوکاین ضدالتهابی با پاسخ‌های آلرژیک و مهار بیماری‌های خود ایمنی و حفاظت از حساسیت به انسولین مرتبط هستند [۹] و موجب سرکوب سلول‌های سیستم ایمنی در جهت جلوگیری از تخریب سلول‌های جزایر لانگرهانس توسط سیستم ایمنی می‌شود. می‌توان گفت تولید و ترشح سایتوکاین‌ها در بدن توسط محرک‌های فیزیولوژیکی همچون ورزش تنظیم می‌شود [۱۰]. در واقع مطالعات

نشان داده‌اند که ورزش باعث افزایش تولید سایتوکاین CD8<sup>+</sup> می‌شود [۱۲، ۱۱]. لنفوسیت‌ها (سلول‌های B و سلول‌های T)، ماکروفاژها، سلول‌های دندریت و سلول‌های NK نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن دارند و سایتوکاین‌های تولیدشده توسط این سلول‌ها در کنترل عملکرد سیستم ایمنی و انتقال سیگنال‌ها، نقش مهمی ایفا می‌کنند [۱۳]. تمرینات تناوبی یکی از پروتکل‌های تمرینات هوازی است که با تنوع بیشتر و خستگی کمتری همراه بوده و معمولاً نتایج مطلوب‌تری را حاصل کرده است [۱۴]. در تحقیقی که از سوی Kim و همکاران (۲۰۱۴) بر روی نمونه‌های حیوانی صورت گرفت، مشاهده شد که شش هفته تمرینات ایتروال منجر به بهبودی بیشتری نسبت به تمرینات هوازی با شدت متوسط در التهاب ناشی از دیابت می‌شود [۱۵]. در تحقیقی که توسط Robinson و همکاران (۲۰۱۵) صورت گرفت به این نتیجه رسیدند که تمرینات کوتاه‌مدت شدید نیز می‌توانند جایگزین مناسبی برای تمرینات هوازی جهت ایجاد تغییرات مثبت در مارکرهای التهابی بیماری دیابت باشند [۱۶]. در همین راستا Ahmadizad و همکاران (۲۰۱۵) به نتیجه‌ای ناهمگون رسیدند و نشان دادند که هر دو نوع تمرینات شدید و با شدت متوسط تأثیر یکسانی بر مارکرهای التهابی TNF- $\alpha$  و IL-6 در افراد دارای اضافه وزن و مقاومت به انسولین دارند [۱۷]. ساوزکارهایی که نشان دهند چگونه ورزش منظم می‌تواند موجب کاهش التهاب مزمن شود، هنوز کاملاً مشخص نیست [۱۸]. نتایج تحقیقات در زمینه‌ی ورزش و سایتوکاین‌های پیش التهابی یکسان نیستند به‌طوری‌که پژوهشگران در مطالعاتشان از کاهش، افزایش و حتی عدم تغییر در سطح IL-2 در بیماران دیابتی وابسته به انسولین گزارش داده‌اند که علت آن می‌تواند تفاوت در وضعیت متابولیسمی یا خود ایمنی افراد باشد [۱۹]. در برخی پژوهش‌ها اجرای فعالیت بدنی منظم هوازی منجر به کاهش معنی‌دار سایتوکاین‌های پیش التهابی [۲۰] و در برخی دیگر از مطالعات عدم‌تغییر معنی‌دار آن‌ها را مشاهده کرده‌اند [۲۱]. شواهد اندکی در خصوص نقش IL-2 به‌عنوان یک سایتوکاین التهابی در بیماران دیابتی وجود دارد اما یافته‌های پژوهش نشان داده‌اند که تولید مقادیر زیاد سایر سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$ ، IL-6، IL-18 و CRP به‌وسیله‌ی بافت چربی در توسعه‌ی مقاومت به انسولین، دیابت و سندرم متابولیک نقش دارد. مطالعات مداخله‌ای

1 Streptozocin

2 Interleukin 2

3 Interleukin 4

غلظت‌هایی موجود در مصرف عادی چای یا قهوه اثرات ضد التهابی و تعدیل‌کننده ایمنی دارد [۲۸]. با این حال، پاسخ سایتوکاین‌ها به کافئین کمتر مورد بررسی قرار گرفته و به‌وضوح مشخص نیست که کافئین را می‌توان به‌عنوان مکمل ضدالتهاب در بهبود دیابت در نظر گرفت یا خیر. همچنین تأثیرات تمرینات تناوبی با شدت بالا بر سطوح سایتوکاین‌های التهابی و ضدالتهابی در بیماران دیابتی کاملاً مشخص نیست و مطالعات موجود در این زمینه اندک و نتایج متناقضی را ارائه کرده‌اند.

بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT)<sup>۱</sup> همراه با مصرف کافئین در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استریتوزوتوسین به مقایسه میزان IL-2 و IL-4 در این بیماری پرداخته است.

## روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع مطالعات حیوانی بالینی-مداخله‌ای و بخشی از یک پروژه‌ی تحقیقاتی علوم ورزشی دانشگاه تبریز در قالب یک طرح پس‌آزمون دوعاملی است. در ضمن، کلیه‌ی مراحل تیمار موش‌های صحرایی و آزمایش‌های تجربی نیز در محل آزمایشگاه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گردید. این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) با کد ثبت سامانه گلستان ۸۸۳۴ در بهمن ماه ۱۳۹۷ و کد (Code: 1397-17682) کمیته‌ی اخلاق این دانشگاه است. در این مطالعه کلیه‌ی موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین مصوب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های پزشکی رعایت شد. در این تحقیق تجربی تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار با سن حدود سه ماه و در محدوده‌ی وزنی ۲۲۵ الی ۳۰۰ گرمی به روش در دسترس از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و به‌طور تصادفی به پنج گروه ۱۰ تایی به شرح زیر دسته‌بندی شدند: ۱- گروه کنترل (C)، ۲- گروه دیابت (D)، ۳- گروه دیابت با مکمل (D+Ca)، ۴- گروه دیابت با تمرین (D+T) و ۵- گروه دیابت با

در زمینه‌ی اپیدمیولوژیک و ورزش، نشان می‌دهد که ورزش منظم، به‌ویژه ورزش‌های هوازی، باعث افزایش سطوح پایه سایتوکاین‌های ضدالتهابی IL-4 و IL-10 می‌شود که نشان‌دهنده‌ی این است که ورزش سایتوکاین‌های ضدالتهابی را تقویت می‌کند [۲۳، ۲۲]. در مطالعه‌ی دیگری که توسط Sugiura و همکاران با بررسی روی تولید سایتوکاین‌های ماکروفاژی و لنفوسیتی موش‌ها صورت گرفت، مشاهده شد که ۸ هفته دویدن تولید IL-4 را متعاقب فعالیت ورزشی بالا می‌برد اما این افزایش از لحاظ آماری معنادار نبود [۲۴]. در مطالعه‌ی Mehri و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی تأثیر ورزش بر پاسخ‌های ایمنی در شرایط مختلف محیطی مشاهده شد که در خلال حتی یک جلسه تمرینات ورزشی شدید، سایتوکاین‌های پیش‌التهابی افزایش یافته و موجب سرکوب و تضعیف عملکرد دستگاه ایمنی می‌شوند [۲۵]. محققان علت این یافته‌های متناقض در رابطه با تأثیر تمرینات ورزشی بر شاخص‌های التهابی و ضدالتهابی را تفاوت در شدت و مدت برنامه‌های تمرینی و ابزارهای اندازه‌گیری می‌دانند که نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه است.

از سوی دیگر، تلاش پژوهشگران برای کشف داروهای گیاهی در بهبود عوارض دیابت که نسبت به داروهای شیمیایی مؤثرتر و دارای عوارض جانبی کمتری نیز باشند نیز همچنان ادامه دارد، در همین راستا محققان از ترکیب فعالیت بدنی و مداخله‌ی چندین دارو در کنترل علائم دیابت بهره می‌برند. استفاده از قهوه به‌عنوان رایج‌ترین نوشیدنی جهان یکی از این درمان‌ها است. مشخص شده که آثار مفید قهوه از طریق کافئین که فعال‌ترین ترکیب موجود در آن است اعمال می‌شود که در تخفیف علائم و کنترل قند خون مورد توجه قرار گرفته است [۲۶]. کافئین یک آکالوئید متبلور و تلخ با خصوصیتی ذاتاً ضدالتهابی است که به‌دلیل ماهیت قوی‌اش در تغییر متابولیسم انرژی و هموستاز گلوکز، در افراد دیابتی مورد بررسی قرار گرفته است [۲۷]:

مشخص شده که کافئین به‌عنوان مهارکننده آنزیم فسفودی استراز و آنتاگونیست گیرنده‌های آدنوزینی، می‌تواند جنبه‌های متفاوت و متنوع پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی از جمله تولید سایتوکاین‌های التهابی، تولید رادیکال‌های آزاد، تکثیر لنفوسیت‌ها و نیز آپوپتوزیس را تعدیل کند. مطالعات قبلی حاکی از آن است که کافئین حتی در

<sup>1</sup> High Intensity Interval Training (HIIT)

مکمل و تمرین (D+Ca+T). به منظور ایجاد حالت سازش با محیط، جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیکی آزمودنی‌ها در محیط آزمایشگاهی ویژه حیوانات با دارا بودن شرایط: دما  $20 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی  $50 \pm 5$  درصد، با کمترین سروصدا و چرخه‌ی روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته به صورت ۳ تا ۵ عدد موش در هر قفس از جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو قرار گرفتند. در طی این دوره‌ی دو ماهه تمامی حیوانات به آب و غذای استاندارد حیوانی (پلت تهیه‌شده از شرکت خوراک سازان اصفهان) که به صورت دقیق اندازه‌گیری و ثبت شده بود، دسترسی آزاد داشتند.

### روش دیابتی کردن موش‌ها

پس از گذشت دو هفته از شرایط سازگاری موش‌ها با محیط آزمایشگاه، برای القای دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین، طبق روش گروه مطالعاتی Sasidharan و همکاران (۲۰۱۳)، دو هفته مصرف غذای پرچرب (۴۵٪ چربی، ۲۱٪ پروتئین و ۳۴٪ کربوهیدرات) که توسط محققان و با همکاری شرکت خوراک سازان اصفهان تهیه گردید و سپس تزریق درون صفاقی (IP) استرپتوزوسین (شرکت سیگما آلد ریچ، آمریکا) در یک دوز ۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار (PH=۴/۵) بعد از شش ساعت ناشتایی به صورت تک وهله‌ای اعمال شد [۲۹]. یک هفته پس از روش دیابتی کردن، میزان گلوکز نمونه‌ی خونی از ورید دمی حیوان جمع‌آوری و با استفاده از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز بررسی و غلظت گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان موش‌های صحرائی دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین وارد تحقیق شدند. به منظور کنترل وزن، وزن موش‌های صحرائی در ابتدا، وسط و انتهای تحقیق توسط ترازوی دیجیتالی انجام شد.

### تیمار با مکمل کافئین

تحقیقات نشان داده‌اند که منحنی‌های جذب و فراهمی زیستی کافئین براساس غلظت-زمان (AUC) در میان انسان و موش مشابه است. به گونه‌ای که در مدت‌زمان تقریباً یک ساعت پس از مصرف

مقادیر بالای ۱۰ میلی‌گرم در وزن بدن، معمولاً ۹۹٪ از مقادیر مصرفی در طی ۴۵ دقیقه جذب شده و این مقادیر نیز در یک اثر وابسته به دوز است [۳۰]؛ بنابراین، برای ارتقاء سطوح کافئین پلاسمایی در طی فعالیت در تحقیق حاضر نیز، کافئین ۶۰ دقیقه قبل از انجام قرارداد تمرینی تزریق شد طبقه تیمار با کافئین بدین شکل بود که پودر کافئین خالص تهیه‌شده از شرکت آلمانی مرک با شماره مجوز (۲۵۱۸۳۵۹۴۳۵۵۷۱۰۲۰) از سازمان غذا و دارو، ۵ روز در هفته قبل از پروتکل تمرینی با توجه به وزن بدن حیوانات به صورت کافئین هیدراته و تزریق درون صفاقی (IP) صورت گرفت (۱۴ میلی‌گرم کافئین به ازای هر ۲۰۰ گرم از وزن بدن موش محلول در سالین ۰٫۹ درصد NaCl). (۳۱، ۳۲) برای گروه‌های C و D نیز همان مقدار سرم فیزیولوژیک برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان با گروه‌های دریافت‌کننده مکمل تزریق شد.

### پروتکل تمرینی (HIIT)

در ابتدا نمونه‌ها، به‌جز گروه‌های C و D، به مدت هفت روز تحت برنامه‌ی آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی نوارگردان قرار گرفتند. در طی این دوره، شیب نوارگردان صفر درصد، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۵-۱۰ دقیقه در روز بود. همچنین، برای گروه‌های C و D که در هیچ‌گونه برنامه‌ی فعالیتی شرکت نداشتند، برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان با گروه‌های تمرینی، ۵ روز در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوار گردان بی حرکت قرار داده شدند. قبل از اجرای پروتکل، آزمون رسیدن به واماندگی برای محاسبه بیشینه سرعت موش‌ها انجام گرفت. به طوری که سرعت دویدن با ۱۰ متر بر دقیقه شروع شد و تا زمانی که موش‌ها به حالت واماندگی برسند. در هر دو دقیقه یکبار، سرعتی معادل با سه متر بر دقیقه به آن اضافه شد. زمان رسیدن به خستگی با عدم توانایی موش‌ها در دویدن روی نوار گردان با وجود ایجاد شوک الکتریکی مشخص شد روش تمرینی دو گروه تمرینی تحقیق حاضر (D+Ca+T و D+T) که برگرفته از مطالعه‌ی Thomas و همکاران بود و در آن آزمودنی‌ها برای ۵ روز در هفته (شنبه، یکشنبه، سه‌شنبه، چهارشنبه و پنجشنبه) و به مدت ۸ هفته در محدوده‌ی ساعت ۱۶-۱۸ عصر بر روی نوار گردان الکترونیکی هوشمند حیوانی شرکت کردند. روش تمرین HIIT

یک دقیقه‌ای استراحت فعال که شامل دویدن‌های ادامه‌دار روی نوار گردان با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بود که میان وهله‌های فعالیتی اعمال شد (جدول ۱). به‌منظور تحریک موش‌ها برای دویدن نیز از محرک الکتریکی با ولتاژ کم که در قسمت عقبی نوار گردان تعبیه‌شده بود استفاده شد [۳۳].

شامل سه مرحله‌ی گرم کردن، بدنه‌ی اصلی تمرین و سرد کردن بود. تمرینات در مرحله‌ی گرم و سرد کردن به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه (برابر با شدت ۴۰-۳۰٪ VO<sub>2</sub>max) برای موش‌ها در نظر گرفته شد. بدنه‌ی اصلی تمرین نیز برابر با شدت ۹۰-۸۵٪ سرعت بیشینه در ۶ تا ۱۲ وهله (هر هفته یک نوبت به وهله‌های فعالیتی حیوانات اضافه شد) بود. به‌علاوه، تناوب‌های

جدول ۱- برنامه‌ی تمرین تناوبی شدید (HIIT)

سرعت برگشت به حالت اولیه فعال (M.MIN)	سرعت دویدن (M.MIN)	تکرارهای دویدن ۲ دقیقه‌ای (M.MIN)	هفته
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۶	اول
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۷	دوم
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۸	سوم
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۹	چهارم
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۱۰	پنجم
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۱۱	ششم
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۱۲	هفتم
۱۰	max speed/۸۵-۹۰	۱۲	هشتم

### نمونه‌گیری خونی و آنالیز آزمایشگاهی

تمامی موش‌های صحرایی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی و پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) به روش بدون درد توسط متخصصین کارآموده بی‌هوش و جراحی شدند. سپس با سرنگ و به میزان کافی از بطن چپ قلب آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خون به‌منظور تهیه سرم با دستگاه سانتریفیوژ به‌مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم آن‌ها جدا شد. جهت سنجش IL-2 و IL-4، کیت‌های الایزای مخصوص (Systems ELISA kits, USA) R&D با مشخصات: Catalog Number: DY502 (15 plates) Rat IL-2، و (Systems ELISA kits, USA) R&D با مشخصات: Catalog Number: DY504 (15 plates) Rat IL-4 خریداری و اندازه‌گیری‌ها با توجه به دستورالعمل درج شده در بروشور، انجام شد.

### یافته‌ها

ابتدا به‌منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها و تجانس واریانس‌های گروه‌های تحقیق به‌ترتیب از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف و آزمون لون استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها و تجانس واریانس‌های گروه‌های تحقیق به‌منظور بررسی اثر متغیر مستقل بر متغیرهای وابسته از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی متغیرها استفاده شد. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۴ در سطح معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) انجام شد. در جدول ۲ میانگین IL-2 و IL-4 به‌همراه نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بعد از هشت هفته تمرین و مصرف کافئین در گروه‌های پنج‌گانه تحقیق ارائه شده است. نتایج حاصل از تحلیل واریانس (جدول ۳) نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار متغیرهای تحقیق است. برای تعیین منشأ تفاوت، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

جدول ۲- وزن اولیه (قبل از مداخله) و وزن ثانویه (بعد از مداخله و قبل از قربانی کردن) و میزان گلوکز ناشتا گروه های مختلف تحقیق

کنترل	دیابتی	دیابت+کافئین	دیابت+تمرین	دیابت+تمرین+کافئین
۲۹۹/۱۲±۱۵/۸۸	۳۰۸/۸۵±۲۷/۶۱	۳۰۱/۸۵±۲۷/۱۵	۲۹۲/۰۰±۵۴/۳۰	۲۹۹/۱۴±۶۲/۲۱
۳۲۹/۲۵±۲۴/۰۴	۲۹۶/۱۴±۱۸/۴۹	۳۱۲/۸۵±۳۹/۰۳	۲۷۹/۴۲±۸۳/۵۹	۳۱۲/۲۸±۱۹/۶۶
۸۰/۶±۵/۲۳	۳۷۳/۹۰±۸۹/۷۸	۱۴۱/۸۰±۵۰/۱۸	۲۳۵/۸۰±۴۸/۹۵	۱۵۰/۶۰±۲۹/۴۵

\*اعداد به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شده اند، (P<0.05)

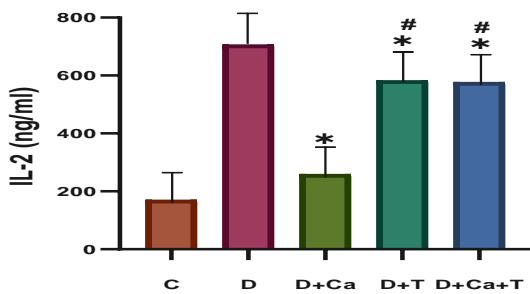
با توجه به نتایج تحلیل واریانس یک طرفه (جدول) مصرف کافئین و انجام تمرینات تناوبی شدید، در آزاد شدن IL-2 و IL-4 در موش های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین نقش مهمی دارد. دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین منجر به افزایش معنی دار غلظت IL-2 و کاهش معنی دار IL-4 شده است. با توجه به شکل ۱ و نتایج آزمون تعقیبی توکی، شاخص IL-2 در گروه های دیابتی نسبت به گروه C افزایش معناداری داشته اند (P<0.05). کمترین میزان افزایش این شاخص در گروه D+Ca مشاهده شد (P=۰/۰۰۱). بین دو گروه D+T با گروه D+Ca+T نیز تفاوت معناداری مشاهده نشده است (P=۰/۹۸). براساس نتایج و با توجه به شکل ۲، IL-4 در دو گروه D+Ca افزایش معنی دار (P=۰/۰۰۱) و D+Ca+T، نسبت به گروه D (P=۰/۰۳) افزایش معنادار داشته است اما این افزایش در گروه D+T معنادار نبود (P=۰/۶۷).

با توجه به نتایج تحلیل واریانس یک طرفه (جدول) مصرف کافئین و انجام تمرینات تناوبی شدید، در آزاد شدن IL-2 و IL-4 در موش های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین نقش مهمی دارد. دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین منجر به افزایش معنی دار غلظت IL-2 و کاهش معنی دار IL-4 شده است. با توجه به شکل ۱ و نتایج آزمون تعقیبی توکی، شاخص IL-2 در گروه های دیابتی نسبت به گروه C افزایش معناداری داشته اند (P<0.05). کمترین میزان افزایش این شاخص در گروه D+Ca مشاهده شد (P=۰/۰۰۱). بین دو گروه D+T با گروه D+Ca+T نیز تفاوت معناداری مشاهده نشده است (P=۰/۹۸). براساس نتایج و با توجه به شکل ۲، IL-4 در دو گروه D+Ca افزایش معنی دار (P=۰/۰۰۱) و D+Ca+T، نسبت به گروه D (P=۰/۰۳) افزایش معنادار داشته است اما این افزایش در گروه D+T معنادار نبود (P=۰/۶۷).

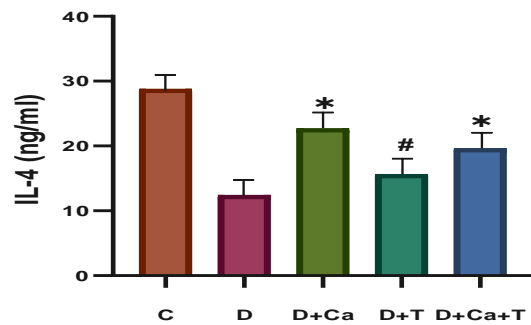
جدول ۳- میانگین مقادیر IL-2 و IL-4 و نتایج تحلیل واریانس یک طرفه در گروه های تحقیق

گروه متغیر	کنترل	دیابت	دیابت+کافئین	دیابت+تمرین	دیابت+تمرین+کافئین	F	P
ایترلوکین ۲ (ng/ml)	۱۷۰/۹۷±۷۵/۶۳	۷۰/۶۷۹±۴۰/۵۴	۲۵۹/۳۶±۳۲/۳۰	۵۸۳/۱۱±۸۷/۴۸	۵۷۷/۰۵±۲۴/۴۷	۱۶۰/۲۳	۰/۰۰۱
ایترلوکین ۴ (ng/ml)	۲۸/۸۱±۱۰/۳۳	۱۲/۴۲±۰/۷۱	۲۲/۷۴±۳/۹۶	۱۵/۶۳±۳/۶۱	۱۹/۶۴±۳/۰۲	۱۳/۹۱	۰/۰۰۱

\*اعداد به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شده اند، (P<0.05)



شکل ۱- مقایسه میانگین IL-2 میان گروه های تحت مطالعه \* معنی داری نسبت به گروه D. # معنی داری نسبت به گروه D+Ca



شکل ۲- مقایسه میانگین IL-4 میان گروه های تحت مطالعه \* معنی داری نسبت به گروه D. # معنی داری نسبت به گروه D+Ca

## بحث

کم (۰/۰۱۹ میلی گرم) متوسط (۰/۱۰۲ میلی گرم) و زیاد (۱/۱۶ میلی گرم)، در مسیرهای التهابی بیماری‌های خود ایمن انجام دادند، دریافتند که سطوح سایتوکاین‌های IL-6, TNF, IL-2, IL-4, MCP-1 و IL-10 در دو گروه با غلظت متوسط و زیاد کافئین در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $P < 0.05$ ) [۳۷]. تاکنون عمدتاً اثرات تعدیل‌کننده‌ی ایمنی کافئین بر اساس اثر مستقیم کافئین بر روی گیرنده‌های آدنوزینی موجود در سطح سلول‌های ایمنی و یا سلول‌های آندوتلیال توجیه شده است [۳۸]. در رابطه با تعامل تمرین تناوبی و مصرف مکمل کافئین مطالعات جامع بسیار محدود است. برخی مطالعات کاهش غلظت سرمی سایتوکاین‌های التهابی ناشی از تمرینات ورزشی و برخی دیگر بی‌تأثیر بودن این تمرینات را گزارش کرده‌اند که به‌نظر می‌رسد شدت تمرینات در آن‌ها بالا نبوده است [۶، ۵]. در تحقیق حاضر مصرف کافئین به‌تنهایی تأثیر چشمگیری در کاهش IL-2 داشت اما تمرین تناوبی شدید نه به‌تنهایی و نه همراه با مصرف کافئین نتوانست اثر معناداری بر کاهش IL-2 بگذارد. همچنین مشاهده شد مصرف کافئین همراه با انجام تمرینات HIIT، در افزایش IL-4 اثرگذار بود اما انجام تمرین به‌تنهایی تأثیری در بهبود این شاخص نداشت.

محققان اعتقاد دارند که تمرین از طریق سه سازوکار عمده یعنی کاهش چربی‌های احشایی، افزایش تولید سایتوکاین‌های ضدالتهابی و کاهش سایتوکاین‌های التهابی در کنترل و تعدیل التهاب نقش دارد. یکی از سازوکارهایی که از طریق آن فعالیت بدنی موجب کاهش التهاب می‌شود کاهش وزن است. کاهش وزن می‌تواند باعث کاهش سایتوکاین‌های برگرفته از بافت چربی شود. می‌توان گفت ورزش‌هایی که بر کاهش وزن اثر مثبتی دارند در کاهش سطوح سایتوکاین‌های التهابی نیز اثرگذار هستند. Monzillo و همکاران اثر کاهش وزن در پاسخ به یک برنامه‌ی تعدیل سبک زندگی را بر سطوح خونی سایتوکاین‌های التهابی در افراد چاق دارای مقاومت به انسولین بررسی کردند و نتیجه گرفتند تغییر قابل توجه در وزن بدن باعث بهبود شاخص حساسیت به انسولین و کاهش IL-6 می‌شود [۳۹]. در پژوهش حاضر نیز می‌توان گفت پروتکل تمرینی به‌کار رفته بر شاخص وزن موش‌ها اثرگذار نبوده و نتوانسته بر کاهش وزن گروه‌های تمرینی نسبت به گروه دیابتی اثر معنادار بگذارد و از این جهت تأثیر گذار نبوده است. همسو با این

در پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر ورزش و مکمل بر شاخص‌های التهابی (IL-2 و IL-4) در موش‌های دیابتی شده با استریتوزوسین از تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مکمل کافئین استفاده شد. در رابطه با اثرات ضدالتهابی کافئین و ترکیبات آن بر سایتوکاین‌های پیش التهابی و ضدالتهابی مطالعات محدود و متناقضی صورت گرفته است. با این حال مطالعه‌ی حاضر نشان داد مصرف (۷۰ mg/kg) کافئین ۵ روز و به‌مدت ۸ هفته تأثیر معناداری در کاهش IL-2 و افزایش IL-4 در موش‌های دیابتی شده با استریتوزوسین داشت. همسو با مطالعه‌ی حاضر، Yamauchi و همکاران که به بررسی اثر قهوه و کافئین بر هایپرگلیسمی و بیان التهاب آدیپوسایتوکین در موش‌های KK-Ay1 دیابتی نوع دو پرداختند، نشان دادند مصرف قهوه موجب بهبود هایپرگلیسمی و حساسیت انسولینی می‌شود و سطح mRNA9 بافت چربی سفید از سایتوکاین‌های التهابی شامل غلظت MCP-1 بافت چربی و غلظت سرمی IL-2 در گروه دریافت‌کننده‌ی قهوه کمتر از گروه کنترل بود که این بهبود حساسیت انسولینی تا حدودی می‌تواند به‌دلیل کاهش بیان سایتوکاین‌های التهابی باشد [۳۴]. مطالعه‌ی Khaleghi و Jafari نیز با پژوهش حاضر همخوانی دارد. در مطالعه Khaleghi مشخص شد انجام تمرینات بسیار آهسته باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های التهابی IL-6 و CRP در ۲۴ ساعت پس از فعالیت می‌شود و مصرف حاد کافئین نتوانست موجب کاهش معنی‌دار این شاخص‌ها در مقایسه با گروه شبه دارو شود [۳۵]. نتایج تحقیق حاضر مبنی بر کاهش شاخص التهابی IL-2 با مطالعه‌ی Nieman و همکاران، همخوانی ندارد. Nieman و همکاران با بررسی تأثیر مصرف ۴۰ گرم چای سبز در روز محتوی ۳۴۴ میلی‌گرم کافئین و ۱۰۰۱ میلی‌گرم فالونول متعاقب انجام ۱۵۰ دقیقه دویدن با شدت ۷۰ درصد اکسیژن بیشینه در ۳ روز متوالی (در ۳۱ فرد تمرین کرده) به این نتیجه رسیدند که تفاوتی در تعداد لکوسیت‌ها، CRP پلاسما، کربونیل پروتئین و IL-6، IL-8، MCP-1 پلاسما مشاهده نشد [۳۶]. با این حال، به‌نظر می‌رسد عوامل مختلفی از جمله نوع ماده‌ی داده شده در این مورد تأثیرگذار باشد، از سوی دیگر، در مطالعه‌ای که ایریس و همکاران (۲۰۱۷) بر تأثیر مصرف کافئین در غلظت‌های

روند ترمیم و بازسازی مهم است [۴۳]. با توجه به این که مستندات کافی در خصوص مناسب‌ترین شدت تمرینات ایتروال جهت بهبود شاخص‌های التهابی مرتبط با دیابت وجود ندارد و این مطالعه نیز تنها مطالعه‌ای است که اثر تمرینات HIIT را همراه با مصرف کافئین در موش‌های دیابتی مورد بررسی قرار داده است لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی اثر شدت‌های مختلف تمرینات ایتروال همراه با مصرف کافئین هم‌زمان مورد بررسی قرار گیرد. همچنین استفاده از دوزهای مختلف کافئین نیز می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری در خصوص اثر کافئین بر این متغیرها حاصل نماید.

### نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که هشت هفته مصرف کافئین از طریق تنظیم مثبت در غلظت سرمی IL-4 و کاهش IL-2، موجب بهبود در پاسخ‌های التهابی در افراد دیابتی می‌گردد. طبق نتایج این تحقیق، مصرف این دوز از کافئین با توجه به کاهش میزان شاخص التهاب در پی استفاده از آن، به بیماران دیابتی، جهت جلوگیری از عوارض ناشی از دیابت و به افراد سالم جهت پیشگیری از ایجاد این بیماری توصیه می‌شود. اگر چه اظهار نظر صریح در این زمینه مستلزم انجام تحقیقات بیش‌تری است.

### سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد خانم مریم سید حیدری مصوب دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) با کد ثبت سامانه گلستان ۸۸۳۴ در بهمن ماه ۱۳۹۷ و کد -1397 (Code: 17682) کمیته‌ی اخلاق دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) است. بدین‌وسیله از کلیه‌ی کسانی که در انجام این پژوهش نویسندگان را یاری نموده‌اند؛ به‌ویژه از کلینیک یاخته پژوهان سارای برای آنالیز نمونه‌ها قدردانی به‌عمل می‌آید.

مطالعه Ranjbar در تحقیق خود که به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی بر غلظت سرمی IL-6 و IL-10 بر روی زنان مبتلا به دیابت نوع دو پرداخته بود، عنوان کرد این برنامه تمرینی اثری بر شاخص‌های التهابی و ضدالتهابی این بیماران ندارد و دلیل آن را عدم کاهش معنی‌دار وزن و چربی بدن دانستند [۴۰]. ویژگی‌های تمرین (طول دوره تمرینی و شدت آن) از جمله عوامل مهم در تأثیرگذاری پاسخ‌های التهابی به ورزش هستند. در بیشتر مطالعاتی که کاهش شاخص‌های التهابی را گزارش کرده‌اند دوره‌ی طولانی‌تری از تمرین اجرا شده است [۴۱]. مطالعه‌ی Ahmadizad و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که هر دو تمرین شدید و با شدت متوسط تأثیر یکسانی بر مارکرها‌ی التهابی (IL-6 و TNF- $\alpha$ ) و مقاومت به انسولین در افراد دارای اضافه‌وزن دارد [۱۷]. همچنین Kazemi در مطالعه‌ی خود نشان داد یک دوره تمرینات تناوبی خیلی شدید روی کودکان دارای اضافه‌وزن منجر به کاهش معنادار سطوح سایتوکاین‌های (IL-6 و TNF- $\alpha$ ) گردید [۴۲]. عدم همسویی نتیجه‌ی پژوهش حاضر با پژوهش‌های فوق ممکن است به‌عوامل دیگری از جمله عوامل مربوط به تغذیه و تأثیر مستقیم آخرین جلسه‌ی تمرین بر نمونه‌های خونی در عدم تغییر معنادار میزان IL-2 و IL-4 در گروه تمرینی مرتبط باشد. Choi و همکاران با بررسی روی عملکرد سیستم ایمنی در طحال موش‌های صحرایی به این نتیجه رسیدند ۱۲ هفته تمرین تناوبی با شدت کم باعث افزایش معنادار IL-4 نسبت به گروه کنترل شد ولی بر شاخص‌های التهابی IFN- $\gamma$  و IL-2 اثر معناداری نداشت [۴۳] که می‌توان گفت با مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد. البته شدت تمرینات تناوبی از عواملی است که احتمالاً اثرات آن را بر فاکتورهای التهابی در این تحقیق تحت تأثیر قرار داده است زیرا ورزش شدید باعث آسیب به عضلات و در نتیجه جدا شدن ساختار و از بین رفتن یکپارچگی فیبر عضلانی و نشست پروتئین عضله می‌شود. در تلاش برای ترمیم هموستاز، چندین فرآیند ترمیم شروع می‌شود که شامل التهاب، ترمیم عضلات و در نهایت بازسازی می‌شود و به‌نظر می‌رسد تعادل بین سایتوکاین‌های پیش و ضد التهابی و سایر مولکول‌های سیگنالینگ برای نتیجه



- Zhu JZ, Dong XY, Liang JJ, Zhang ZQ, Hu XY, Li LK. Effects of diabetes mellitus on semen quality in adult men: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2017; 10(8):11290-303.
- Snell-Bergeon JK, West NA, Mayer-Davis EJ, Liese AD, Marcovina SM, D'Agostino Jr RB, et al. Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010; 95(6):2868-76.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259(5091):87-91.
- Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine* 2015;74(1):5-17.
- Ho IC, Miaw SC. Regulation of IL-4 expression in immunity and diseases. *Regulation of Cytokine Gene Expression in Immunity and Diseases: Springer* 2016; 31-77.
- Kaya O. Effect of a four-week exercise program on the secretion of IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2 and IL-6 cytokines in elite Taekwondo athletes. *Biomedical reports* 2016; 5(3):367-70.
- Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- $\beta$  and NF- $\kappa$ B. *Nature medicine* 2005; 11(2):183.
- Gleeson M. Immune function in sport and exercise: *Elsevier Health Sciences*; 2006.
- Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Goforth MH, Morel CR, Subramanian V, Mukundan L, et al. Macrophage-specific PPAR $\gamma$  controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature* 2007; 447(7148):1116.
- Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, et al. Biology of interleukin-10. *Cytokine & growth factor reviews*. 2010;21(5):3 44-31.
- Passos GS, Poyares D, Santana MG, Teixeira AAdS, Lira FS, Youngstedt SD, et al. Exercise improves immune function, antidepressive response, and sleep quality in patients with chronic primary insomnia. *BioMed research international* 2014;2014.
- McFarlin BK, Flynn MG, Stewart LK, Timmerman KL. Carbohydrate intake during endurance exercise increases natural killer cell responsiveness to IL-2. *Journal of Applied Physiology* 2004;96(1):271-5.
- Tanaka S-i, Inoue S, Isoda F, Waseda M, Ishihara M, Yamakawa T, et al. Impaired immunity in obesity: suppressed but reversible lymphocyte responsiveness. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity* 1993;17(11):631-6.
- Hurst RA. The effects and differences of sprint interval training, endurance training and the training types combined on physiological parameters and exercise performance. 2014.
- Kim JS, Lee YH, Kim JC, Ko YH, Yoon CS, Yi HK. Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biology of sport* 2014; 31(1):73.
- Robinson E, Durrer C, Simtchouk S, Jung ME, Bourne JE, Voth E, et al. Short-term high-intensity interval and moderate-intensity continuous training reduce leukocyte TLR4 in inactive adults at elevated risk of type 2 diabetes. *Journal of applied physiology* 2015; 119(5):508-16.
- Ahmadizad S, Avansar AS, Ebrahim K, Avandi M, Ghasemikaram M. The effects of short-term high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on plasma levels of nesfatin-1 and inflammatory markers. *Hormone molecular biology and clinical investigation* 2015; 21(3):165-73.
- Conroy SM, Courneya KS, Brenner DR, Shaw E, O'Reilly R, Yasui Y, et al. Impact of aerobic exercise on levels of IL-4 and IL-10: results from two randomized intervention trials. *Cancer medicine* 2016; 5(9):2385-97.
- Bastard J-P, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; 85(9):3338-42.
- Zamanpour L, Banitalebi E, Amirhosseini SE. The effect of sprint training and combined aerobic and strength training on some inflammatory markers and insulin resistance in women with diabetes mellitus (T2dm). *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2016;15(5):300-11.
- Bijeh N, Hosseini SA, Hejazi K. The effect of aerobic exercise on serum C-reactive protein and leptin levels in untrained middle-aged women. *Iranian journal of public health* 2012;41(9):36.
- Yakeu G, Butcher L, Isa S, Webb R, Roberts AW, Thomas A, et al. Low-intensity exercise enhances expression of markers of alternative activation in circulating leukocytes: roles of PPAR $\gamma$  and Th2 cytokines. *Atherosclerosis* 2010;212(2):668-73.
- Paalani M, Lee JW, Haddad E, Tonstad S. Determinants of inflammatory markers in a bi-ethnic population. *Ethnicity & disease* 2011;21(2):142.
- Sugiura H, Nishida H, Sugiura H, Mirbod S. Immunomodulatory action of chronic exercise on macrophage and lymphocyte cytokine production in mice. *Acta Physiologica Scandinavica* 2002; 174(3):247-56.
- Mehri AY, Nazem F, Sayari A, Sayevand Z, Karami S, Erfani AF. The effect of exercise on the immune response in different environmental conditions. *Ebnesina* 2014; 16 :3(48): 23-31.

26. Wedick NM, Brennan AM, Sun Q, Hu FB, Mantzoros CS, van Dam RM. Effects of caffeinated and decaffeinated coffee on biological risk factors for type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Nutrition journal* 2011;10(1):93.
27. Zarghami-Khameneh A, Jafari A. The effect of different doses of caffeine and a single bout of resistant-exhaustive exercise on muscle damage indices in male volleyball players. *Kaums Journal (FEYZ)* 2014;18(3):220-8.
28. Prasanthi JR, Dasari B, Marwarha G, Larson T, Chen X, Geiger JD, et al. Caffeine protects against oxidative stress and Alzheimer's disease-like pathology in rabbit hippocampus induced by cholesterol-enriched diet. *Free Radical Biology and Medicine* 2010; 49(7): 1212-20.
29. Sasidharan SR, Joseph JA, Anandakumar S, Venkatesan V, Madhavan A, Nair C, et al. An experimental approach for selecting appropriate rodent diets for research studies on metabolic disorders. *BioMed research international* 2013; 2013.
30. Francis SH, Sekhar KR, Ke H, Corbin JD. Inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterases by methylxanthines and related compounds. *Methylxanthines: Springer*; 2011. p. 93-133.
31. Graham TE. Caffeine and exercise. *Sports medicine* 2001; 31(11): 785-807.
32. Paşaoğlu H, Demir FEO, Yılmaz-Demirtaş C, Hussein A, Paşaoğlu ÖT. The effect of caffeine on oxidative stress in liver and heart tissues of rats. *Turkish Journal Of Medical Sciences* 2017; 665:(4)41;11.
33. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2007; 293(4):E916-E22.
34. Yamauchi R, Kobayashi M, Matsuda Y, Ojika M, Shigeoka S, Yamamoto Y, et al. Coffee and caffeine ameliorate hyperglycemia, fatty liver, and inflammatory adipocytokine expression in spontaneously diabetic KK-Ay mice. *Journal of agricultural and food chemistry* 2010; 58(9):5597-603.
35. Khaleghi Anbardan MM, Jafari A. The effect of acute caffeine supplementation on C-reactive protein and interleukin-6 responses following super-slow resistance training in trained men. *J Neyshabur Univ Med Sci.* 2017; 5(3):25-36.
36. Nieman DC, Gillitt ND, Knab AM, Shanely RA, Pappan KL, Jin F, et al. Influence of a polyphenol-enriched protein powder on exercise-induced inflammation and oxidative stress in athletes: a randomized trial using a metabolomics approach. *PLoS One* 2013; 8(8):e72215.
37. Iris, M., P.-S. Tsou, and A.H. Sawalha, Caffeine downregulates inflammatory pathways involved in autoimmunity. *bioRxiv*, 2017: p. 241539.
38. Senchina, D.S., et al., Alkaloids and athlete immune function: caffeine, theophylline, gingerol, ephedrine, and their congeners. *Exercise immunology review*, 2014. 20.
39. Monzillo, L.U., et al., Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obesity research*, 2003. 11(9): p. 1048-1054.
40. RANJBAR, R., et al., The effect of aerobic interval training on IL-6 and IL-10 serum concentration in women with type II diabetes. 2016.
41. Kobayashi, Y., et al., Intense exercise increases protein oxidation in spleen and liver of mice. *Nutrition and metabolic insights*, 2014. 7: p. NMI.S13668.
42. Kazemi, A., The effect of 8 weeks of hit workouts plasma levels of tnf-a, il-6 and lipid profile in overweight children. 2016.
43. Choi, E.-J., et al., Effect of 12-Week Low-intensity Exercise on Interleukin-2, Interferon-gamma, and Interleukin-4 Cytokine Production in Rat Spleens. *Journal of Men's Health*, 2018. 14(3): p. e14-e19.
44. Gjevestad, G.O., K.B. Holven, and S.M. Ulven, Effects of exercise on gene expression of inflammatory markers in human peripheral blood cells: a systematic review. *Current cardiovascular risk reports*, 2015. 9(7): p. 34.

## EFFECT OF EIGHT-WEEK HIGH INTENSITY INTERVAL TRAINING (HIIT) AND CAFFEINE INTAKE ON SERUM LEVELS OF INTERLEUKIN 2 AND 4 IN MALE DIABETIC WISTAR RATS

Maryam Seyed Heaydari<sup>1</sup>, Abbas Sadeghi<sup>2\*</sup>, Ali Hemati Afif<sup>2</sup>

1. Department of Sport Sciences, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

2. Department of Sport Sciences, Faculty of Social Sciences, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

### ABSTRACT

**Background:** Cytokines are immune related factors. Production of pro inflammatory cytokines in diabetic patients is increased, which is exacerbated by vigorous training. This study investigates the response of serum IL-2 and IL-4 to eight-week high Intensity Interval Training (HIIT) with caffeine intake on inflammatory and anti-inflammatory responses in diabetic rats.

**Methods:** In a clinical-interventional animal study, 50 male rats were randomly assigned to 5 equal groups (control group (C), diabetes group (D), diabetes + caffeine group (D+Ca), diabetes + training group (D+T), diabetes + training + caffeine group (D+Ca+T)) and subjected to 8 weeks of caffeine supplementation (70 mg / kg of caffeine powder was injected five days each week) and 8 weeks of 5 sessions per week with 6 to 12 times, 2-min intervals with intensity of 85-90% of maximal speed. 48 hours after the last training session, immunological factors including IL-2 and IL-4 were measured. Statistical analysis of variables was performed using One-way ANOVA and Tukey tests at the significant level ( $P < 0.05$ ).

**Results:** The results showed that (D+Ca) group had the lowest IL2 in comparison with (D) group ( $P = 0.001$ ). IL-4 had the highest in (D+Ca) and (D+Ca+T) groups ( $P = 0.001$ ). But these differences were not statistically significant between (D+Ca) and (D+Ca+T) groups ( $P = 0.67$ ).

**Conclusion:** It seems that caffeine to play a role in improving the status of IL-2 and IL-4 in streptozotocin-induced diabetes, but HIIT exercises are not effective in this regard.

**Keywords:** High Intensity Interval Training (HIIT), Caffeine, Streptozotocin-induced diabetes, Interleukin-2, Interleukin-4

---

\* Qasem Soleimani Blvd, Imam khomeini international university, Qazvin, Iran, Postal Code: 34148-96818, Phone: +98 (28) 3390 154, Fax: +98 (28) 3378 6579, Email: sadeghi@soc.ikiu.ac.ir