

The Effect of High-Intensity Interval Training on Reducing Inducible Nitric Oxide Synthase Gene Expression in Visceral Adipose Tissue of Diabetic Rats Fed a High-Fat Diet

Arezoo Khoshdooni Farahani¹ (M.S.), Malikeh Mohajerani² (M.S.), Sattar Gorgani Firuzjaee^{3*} (Ph.D.)

¹ Master of Science in Biochemistry, School of Biology, Branch of Sciences and Research, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Master of Science in Nutrition, School of Nutritional Sciences, Branch of Sciences and Research, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Associate Professor, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

 [10.18502/payavard.v20i2.22809](https://doi.org/10.18502/payavard.v20i2.22809)

Abstract

Received: 23 Nov. 2025

Accepted: 31 May. 2026

Background and Aim: Considering the role of exercise in controlling Diabetes and its complications and the lack of clarity on the molecular mechanism affecting Diabetes, the aim of the present study was to compare the effectiveness of two types of high- intensity interval training and continuous endurance training on the expression of the inducible nitric oxide synthase gene in visceral adipose tissue of diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 45 Wistar rats (200±10 g) were randomly divided into non-diabetic, diabetic, continuous endurance training and high-intensity interval training groups after induction of Diabetes by a high-fat diet. The exercise program was implemented for ten weeks. A continuous endurance training program was performed, consisting of 30 minutes of running at 50 to 60% of VO₂ max. A high-intensity interval training program was performed as five two-minute intervals of running at 80 to 90% of VO₂ max and one minute of rest at 30 to 35% of VO₂ max. The expression level of the inducible nitric oxide synthase gene in visceral adipose tissue was measured by qReal Time Polymerase Chain Reaction, its expression at the protein level was measured by Western blot, and plasma glucose levels were measured by glucose oxidase.

Result: The results demonstrated that the induction of diabetes led to elevated blood glucose levels and an altered lipid profile (cholesterol and triglycerides) compared to the control group. Furthermore, the exercise intervention resulted in reduced blood glucose and improved lipid profiles in both exercise groups. The HIIT (High-Intensity Interval Training) group showed more effective improvements in plasma glucose and lipid profiles than the CET (Continuous Endurance Training) group. Both the HIIT and CET groups exhibited significant reductions in plasma glucose concentration compared to the diabetic control (DC) group (reductions of 53% and 35%, respectively; P<0.001). Additionally, the magnitude of this reduction was greater in the HIIT group than in the CET group (P<0.001). The high-fat diet induced a 2.7-fold increase in iNOS gene expression (P<0.001). Both exercise interventions resulted in a reduction of iNOS gene expression in the CET and HIIT groups by 40% and 54%, respectively (P<0.05). Notably, a greater reduction in iNOS mRNA expression was observed in the HIIT group compared to the CET group (P<0.05). Western blot analysis of iNOS expression at the protein level revealed that the high-fat diet significantly induced a 2.3-fold increase in iNOS protein expression. Both exercise interventions significantly reduced the diet-induced iNOS expression; furthermore, the HIIT intervention was more potent in reducing iNOS expression. The CET and HIIT interventions resulted in reductions of 42% and 51%, respectively (P<0.05).

Conclusion: It seems that exercise training, especially high-intensity interval training, probably due to higher intensity, may be a more effective intervention for reducing inducible nitric oxide synthase gene expression at the Messenger Ribonucleic Acid and protein levels and reducing blood glucose in diabetic patients, and it can be one of the effective factors in preventing M1/M2 polarization of adipose tissue macrophages.

Keywords: Diabetes, Induced Nitric Oxide Synthase, High-Intensity Interval Training, Continuous Endurance Training

Journal of Payavard Salamat
Vol. 20, No. 2; Jun. 2026: 102-112

اثر تمرین تناوبی با شدت بالا بر کاهش بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در بافت چربی احشایی رت‌های دیابتی با رژیم غذایی پرچرب

آرزو خوشدونی‌فراهانی^۱، ملیکه مهاجرانی^۲، ستار گرگانی‌فیروزجانی^{۳*}

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به نقش ورزش در کنترل دیابت و عوارض آن و مشخص نبودن مکانیسم مولکولی مؤثر بر دیابت، هدف از پژوهش حاضر، مقایسه‌ی اثر بخشی دو نوع تمرین تناوبی شدید و تمرین تداومی با شدت پایین بر بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در بافت چربی احشایی رت‌های دیابتی می‌باشد.

روش‌بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی ۴۵ سر، رت ویستار (200 ± 10 گرم) به‌صورت تصادفی، پس از القای دیابت توسط رژیم غذایی پرچرب به گروه غیردیابتی، دیابتی، ورزش تداومی با شدت پایین، ورزش تناوبی شدید تقسیم شدند. برنامه تمرینی به مدت ده هفته اجرا شد. برنامه تمرینی تداومی با شدت پایین شامل ۳۰ دقیقه دویدن با VO_{2max} ۵۰ تا ۶۰ درصد انجام گرفت. برنامه تمرینی با شدت بالا به‌صورت پنج تناوب دو دقیقه‌ای دویدن با VO_{2max} ۸۰ تا ۹۰ درصد و یک دقیقه استراحت با VO_{2max} ۳۰ تا ۳۵ درصد انجام یافت. میزان بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در بافت چربی احشایی به‌روش qReal Time Polymerase Chain Reaction و بیان آن در سطح پروتئین توسط وسترن بلات و میزان گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز سنجیده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که القای دیابت سبب افزایش قند خون و پروفایل لیپیدی (کلسترول و تری‌گلیسرید) نسبت به گروه کنترل شده است. همچنین نتایج مداخله ورزشی، نشان‌دهنده‌ی کاهش قند خون و بهبود پروفایل لیپیدی در هر دو گروه ورزشی بود. گروه مداخله ورزشی با شدت شدید (HIIT: High-Intensity Interval Training) نسبت به گروه ورزش تداومی با شدت پایین (CET: Continuous Endurance Training) به‌طور مؤثرتر سبب بهبود گلوکز پلاسمایی و پروفایل لیپیدی شده است. در هر دو گروه HIIT و CET کاهش معناداری در غلظت پلاسمایی گلوکز، نسبت به گروه کنترل دیابتی (DC) وجود داشت (به‌ترتیب ۵۳٪ و ۳۵٪ کاهش) ($P < 0.001$). همچنین میزان این کاهش در گروه HIIT بیش از گروه CET بوده است ($P < 0.001$). گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب سبب القای بیان ژن iNOS به میزان ۲/۷ برابر شده است ($P < 0.001$). هر دو مداخله ورزشی سبب کاهش بیان ژن iNOS در گروه HIIT و CET به‌ترتیب به میزان ۴۰٪ و ۵۴٪ شده است ($P < 0.005$). لازم به ذکر می‌باشد که کاهش بیان بیشتر mRNA ژن iNOS در گروه HIIT نسبت به گروه CET دیده شد ($P < 0.005$). نتایج بررسی بیان ژن iNOS در سطح پروتئین با استفاده از وسترن بلات نشان داد که رژیم غذایی پرچرب به‌شکل معناداری سبب القای ۲/۳ برابری بیان پروتئین iNOS شده است. هر دو شیوه مداخله ورزشی سبب کاهش بیان iNOS القا شده به‌صورت معنی‌دار شده‌اند و علاوه بر این مداخله ورزشی HIIT به‌صورت قوی‌تر و با قدرت بیشتر سبب کاهش بیان iNOS شده است. مداخله‌های ورزشی CET و HIIT به‌ترتیب سبب کاهش به میزان ۴۲٪ و ۵۱٪ شده است ($P < 0.005$). **نتیجه‌گیری:** به‌نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی، به‌خصوص تناوبی شدید احتمالاً به‌سبب شدت بالاتر ممکن است مداخله‌ی مؤثرتری برای کاهش بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در سطح Messenger Ribonucleic Acid و پروتئین و کاهش گلوکز خون در مبتلایان به دیابت باشد و می‌تواند به‌عنوان یکی از فاکتورهای مؤثر مانع از پلاریزاسیون M1/M2 ماکروفاژ بافت چربی گردد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، نیتریک اکسید سنتاز القایی، تمرینات تناوبی شدید، تمرین تداومی با شدت پایین

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۹/۲

پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۳/۱۰

* نویسنده مسئول:

ستار گرگانی‌فیروزجانی؛

دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی
ارزش

Email:

s-gorganif@alumnus.tums.ac.ir

doi 10.18502/payavard.v20i2.22809

۱ کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشکده زیست‌شناسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲ کارشناس ارشد علوم تغذیه، دانشکده علوم تغذیه، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳ دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارزش، تهران، ایران

مقدمه

دیابت یکی از شایع ترین بیماری های مزمن متابولیک در سراسر جهان است که به دلیل نقص در ترشح انسولین و یا گیرنده های آن و مقاومت به انسولین در بافت های مختلف به وجود می آید (۱). افراد مبتلا به دیابت به طور مشخصی در معرض خطر بیشتر ابتلا به بیماری های کرونری قلب، گرفتگی عروق محیطی، سکته و همچنین فشارخون، چاقی و اختلالات لیپیدی هستند (۲-۴). مطالعه ی Kim و Lee نشان می دهد که التهاب با فعال کردن سیستم ایمنی در چاقی، نقش مهمی در پاتوژنز مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ دارد (۵). التهاب خفیف بر بسیاری از اندام ها مثل بافت چربی، پانکراس، کبد، مغز، ماهیچه و روده تأثیر می گذارد، بافت چربی از طریق ترشح آدیپوکین ها، بر متابولیسم این اندام ها تأثیر دارد و نقش مهمی در متابولیسم چربی، ترشح آدیپوکین ها مثل نیتریک اکسید، رزیستین، اینترلوکین و آدیپونکتین ایفا می کند (۶). در بافت چربی سلول های شامل آدیپوسیت ها، فیبروبلاست ها، سلول های اندوتلیال عروقی و سلول های ایمنی وجود دارند (۷). مطالعه ی Martyniak و Masternak نشان داد که تعداد و فنوتیپ انواع سلول های ایمنی در بافت چربی در شرایط چاقی تغییر می کند (۸). مطالعات جدید بر ماکروفاژهای بافت چربی تمرکز یافته که ماکروفاژها از اجزای ضروری سیستم ایمنی هستند و نقش مهمی در التهاب موضعی و سیستمیک و سیستم دفاعی دارند (۹). التهاب بافت چربی به دلیل تغییر وضعیت پلازماسیون ماکروفاژهای با فنوتیپ M2 ضد التهابی به فنوتیپ M1 پیش التهابی، تشدید می گردد؛ به گونه ای که پلازماسیون M1 سلول های کبدی نقش مهمی در انباشت چربی در سلول های کبد و مقاومت به انسولین در پر خوری های مزمن دارد (۱۰). پلازماسیون M1 باعث افزایش بیان واسطه های پیش التهابی مثل CD11C، TNF α و اینترلوکین-۲ و iNOS (نیتریک اکسید سنتاز القایی) می شود. برخلاف آن فنوتیپ ضد التهابی M2 باعث ترشح CD206، آرژیناز-۱ و اینترلوکین-۱۲ می شود (۱۱). نیتریک اکسید (NO) یک مولکول پیام رسان حیاتی است که از ال-آرژنین توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NOS) سنتز می شود. سه ایزوform NOS شامل نیتریک اکسید سنتاز نورونی (nNOS)، نیتریک اکسید سنتاز القایی (iNOS) و نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی (eNOS) می باشند. نیتریک اکسید مشتق شده از نیتریک اکسید سنتاز القایی در ماکروفاژ و سایر سلول های ایمنی از ترکیبات ضروری سیستم دفاعی است (۱۲). نیتریک اکسید سنتاز القایی نقش مهمی در پلازماسیون ماکروفاژ و بسیاری از بیمارهای التهابی دارد (۱۳). علاوه

براین مطالعه ی Dallaire و همکاران نشان داد که بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در چاقی افزایش یافته و نقش مهمی در پاتوژنز مقاومت به انسولین و عدم تحمل گلوکز در موش ها دارد (۱۴). مهار نیتریک اکسید سنتاز القایی نقش درمانی در بیماری هایی که با التهاب در ارتباطند، خواهد داشت (۱۵). از سوی دیگر، مطالعات اخیر بیانگر اهمیت تمرینات ورزشی بر کنترل التهاب بافت چربی تمرکز یافته و نشان داده شد که بعد از ۶ هفته تمرین ورزشی در رت های تغذیه شده با رژیم پرکالری، تحمل گلوکز بهبود یافت (۱۶). در مطالعه ی Chen و Yang نشان داده شد که تمرینات ورزشی باعث کاهش بیان پروتئین ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در خرگوش ها شد (۱۷). اخیراً مطالعه ی Fex و همکاران نشان داده است که تمرینات ورزشی تناوبی با شدت بالا باعث بهبود حساسیت به انسولین و سندرم متابولیک می شود (۱۸). با توجه به نقش تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT: High-Intensity Interval Training) در کنترل هایپرگلیسمی و عدم بررسی اثر آن بر میزان تغییر بیان ژن iNOS در مقایسه با روش تداومی با شدت پایین در ایران و جهان و همچنین بررسی محدود اثر این دو نوع ورزش بر سطح سرمی گلوکز در افراد دیابتی، این سوال مطرح می شود که این شیوه تمرینی جدید در مقایسه با روش تداومی با شدت پایین به چه میزان می تواند باعث تغییر در بیان ژن iNOS و همچنین سطح سرمی گلوکز شود. هدف این مطالعه، پاسخ گویی به این سؤال است.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی بوده که به شیوه ی میدانی و آزمایشگاهی انجام شد. مطالعه بر روی ۴۵ سررت نژاد ویستار (تهیه شده از حیوان خانه انستیتو رازی) با میانگین وزن 200 ± 10 گرم انجام شد؛ حجم نمونه با استفاده از نرم افزار GPower نسخه ۳،۱،۹،۷ (Faul، ۲۰۲۰)، محاسبه گردید. رعایت اصول اخلاق در پژوهش و مفاد مندرج در پروپوزال مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب از نظر کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی ارتش تأیید گردید. حیوانات در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی ارتش در قفس های جداگانه از جنس پلی اتیلن شفاف، در شرایط استاندارد حیوان های آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی گراد؛ رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، سیکل روشنایی-تاریکی (۱۲:۱۲) نگهداری شدند. بعد از یک هفته سازگاری با محیط، رت ها به ۲ گروه کنترل (۳/۵۹ کیلوکالری به ازای هر گرم وزن بدن) و گروه رژیم غذایی پر کالری (۴/۳۵ کیلوکالری

به‌ازای هر گرم وزن بدن) تهیه شده از انسیتورازی کرج با فرمولاسیون چربی حیوانی ۳۰ درصد، فروکتوز ۲۵ درصد و غذای پایه حیوانات ۴۵ درصد بود) به مدت ۱۶ هفته تقسیم شدند (۲۰ و ۱۹). پس از اتمام هفته‌ی ۱۶، ۲ رت از گروه کنترل و ۴ رت از گروه رژیم غذایی پرکالری (دیابت) به‌صورت تصادفی برای تأیید دیابت انتخاب شدند. برای تأیید دیابت، میزان قند خون و برای تأیید القاء، کبد چرب به‌عنوان یکی از عوارض دیابت آنزیم‌های کبدی اندازه‌گیری شد و قند خون بیشتر از 250 mg/dl تأییدکننده‌ی دیابت بوده است (۲۱). رت‌های دیابتی هیچ‌گونه درمان با انسولین در طول دوره پژوهش نداشتند.

آشناسازی رت‌ها با پروتکل ورزشی، یک هفته پس از القای دیابت با پنج

جلسه تمرین در یک هفته انجام شد؛ در روز اول تمرین، رت‌ها با نهایت دقت و آرامش روی تردمیل قرار گرفتند و با سرعت بسیار پایین و یکنواخت شروع به تمرین کردند و جهت آشنایی با پروتکل ورزشی مورد نظر با سرعت‌های کم‌تر از تمرین تناوبی استفاده شد تا رت‌ها به نوع تمرین عادت کنند و با پروتکل آشنا شوند. هفته‌ی بعد از آشنایی، تمرین اصلی به مدت ده هفته شروع شده و به پایان رسید. گروه کنترل غیردیابت (NDC) و گروه کنترل دیابتی (DC) در هیچ‌گونه برنامه‌ی فعالیت ورزشی شرکت نکرده ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی‌حرکت قرار داده شدند.

جدول ۱: پروتکل تمرین تداومی

سرد کردن	تمرین اصلی	گرم کردن	روش مداخله‌ی ورزشی
۵	۳۰	۵	زمان تمرین (دقیقه)
۳۰-۴۰	۵۰-۶۰	۳۰-۴۰	شدت تمرین (% of $\text{VO}_2 \text{ max}$)

گروه تداومی با شدت پایین (CET: Continuous Endurance Training): رت‌های

این گروه به‌مدت ۱۰ هفته پروتکل ورزشی تداومی مطابق جدول ۱ را انجام دادند (۲۲).

جدول ۲: پروتکل تمرین تناوبی

سرد کردن	تمرین اصلی		گرم کردن	روش مداخله‌ی ورزشی
	استراحت	تمرین تناوبی شدید (۵ تکرار)		
۵	۱	۲	۵	زمان تمرین (دقیقه)
۳۰-۴۰	۳۰-۳۵	۸۵-۹۰	۳۰-۴۰	شدت تمرین (% of $\text{VO}_2 \text{ max}$)

گروه ورزش تناوبی شدید (HIIT): رت‌های این گروه به مدت ۱۰ هفته

پروتکل ورزشی تناوبی شدید را مطابق جدول ۲ انجام دادند.

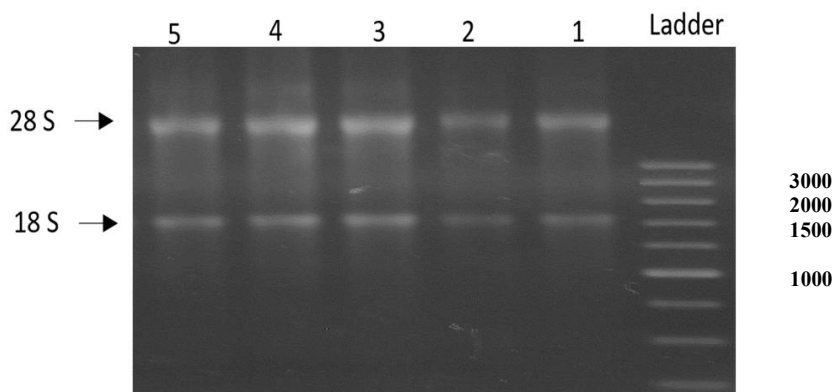
هر گروه، پروتکل مربوط به خود را پنج روز در هفته به مدت شش هفته انجام دادند؛ روز ششم هر هفته حداکثر اکسیژن مصرفی ($\text{VO}_2 \text{ max}$) اندازه‌گیری شد؛ هر هفته یک روز برای استراحت در نظر گرفته شد.

پروتکل ویژه‌ی ارزیابی توان هوازی رت‌ها (محاسبه‌ی حداکثر اکسیژن مصرفی) یا ($\text{VO}_2 \text{ max}$) با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گازهای تنفسی و با توجه به پژوهش‌های انجام شده‌ی اخیر، به‌صورت غیرمستقیم ولی با دقت زیاد به شرح زیر استفاده گردید (۲۳). بعد از پنج دقیقه گرم شدن رت‌ها با سرعت ۱/۸ متر بر دقیقه سرعت نوارگردان هر دو دقیقه

یک بار به میزان ۱/۸ متر بر دقیقه افزایش یافت؛ حداکثر سرعت بیشینه زمانی بود که رت‌ها حداقل ۱/۳ دقیقه نتوانستند با یک سرعت ثابت بدوند و بلافاصله پس از آن با افزایش سرعت، قادر به دویدن نبودند. رسیدن به سرعت بیشینه با غلظت لاکتات بالاتر از شش میلی مول در لیتر و نسبت تنفسی VO_2/VCO_2 معادل ۱/۵ است (۲۴ و ۲۵). ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ورزشی، رت‌ها به وسیله‌ی تزریق درون صفاقی کتامین 90 mg/kg و زایلازین 10 mg/kg بیهوش شدند (۲۶). سپس از قلب آن‌ها خونگیری به‌عمل آمده، بافت چربی آن‌ها جدا شده و جهت آنالیز بیان ژن در ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. با توجه به طولانی شدن مدت مطالعه و القای دیابت تعدادی از رت‌ها از مطالعه خارج شدند و در نهایت در هر گروه ۸ رت بررسی گردیدند.

است (شکل ۱). RNA استخراج شده توسط کیت کایژن mmulv به cDNA تبدیل شده است. برای بیان ژن با استفاده از پرایمرهای ژن GAPDH و iNOS و دستگاه Real time مدل ABI استفاده شد.

برای آنالیز بیان ژن با استفاده از Real-Time-PCR، ۵۰ تا ۷۰ گرم از بافت چربی احشایی در تریزول هموزن شده است و RNA تام سلولی استخراج شده و با استفاده از ژل آگارز و دستگاه نانودراپ مورد تأیید کمی و کیفی قرار گرفته



شکل ۱: بررسی کیفیت RNA استخراج شده از نمونه‌های مختلف

سطوح سرمی قند، تری گلیسرید و کلسترول با استفاده از کیت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالیزر سلکترا در آزمایشگاه تشخیص طبی اندازه‌گیری شده است. برای آنالیز توصیفی، میانگین و انحراف معیار استفاده شده است. برای بررسی توزیع نرمال آزمون Kolmogorov-Smirnov (KS) و برای بررسی واریانس تست leven انجام شد. پس از تأیید توزیع نرمال تفاوت بین گروه‌ها با کمک آنالیز ANOVA و تست LSD انجام شد. سطح معناداری برای همه‌ی تست‌های آماری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. آنالیز آماری به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها

روز بعد از آخرین جلسه تمرین ورزشی، پس از ناشتایی (۴ ساعت) از قلب حیوان خون گرفته شد و فاکتورهای سرمی به روش شیمیایی سنجیده شد. نتایج نشان داد که القای دیابت سبب افزایش قند خون و پروفایل لیپیدی (کلسترول و تری گلیسرید) نسبت به گروه کنترل شده است. همچنین نتایج مداخله ورزشی، نشان‌دهنده‌ی کاهش قند خون و بهبود پروفایل لیپیدی در هر دو گروه ورزشی بود. به‌طور قابل توجه گروه HIIT نسبت به گروه CET به‌طور مؤثرتر سبب بهبود گلوکز پلاسمایی و پروفایل لیپیدی شده است. در هر دو گروه HIIT و CET کاهش معناداری در غلظت پلاسمایی گلوکز، نسبت به گروه کنترل دیابتی (DC) وجود داشت (به ترتیب ۵۳٪ و ۳۵٪ کاهش) ($P < 0/001$). همچنین میزان این کاهش در گروه HIIT بیش از گروه CET بوده است ($P < 0/001$).

الکتروفورز نمونه‌های RNA استخراج شده روی ژل آگارز ۲٪ وجود دو باند را که متعلق به RNA های ریبوزومی است نشان می‌دهد. این دو باند به ترتیب متعلق به rRNA 18S و 28S می‌باشند. مشاهده‌ی این دو باند بر روی ژل مشخص‌کننده کیفیت قابل قبول RNA است. شماره ۱ و ۲: نمونه‌های گروه کنترل؛ ۳: گروه دیابتی؛ ۴: گروه HIIT؛ ۵: CET (الکتروفورز RNA نمونه‌های استخراج شده).

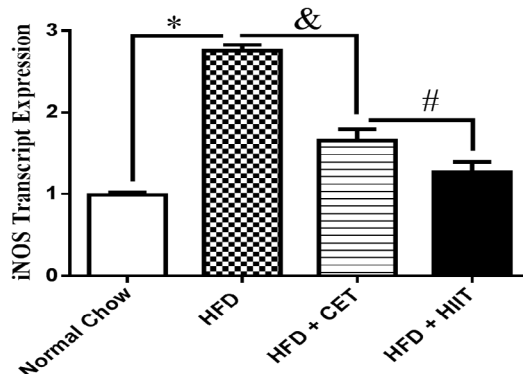
به منظور بررسی بیان ژن در سطح پروتئین (روش وسترن بلات)، میزان ۷۰ تا ۱۰۰ میلی گرم از بافت چربی در محیط RIPA اصلاح شده (50 mm Tris-HCl, pH 7.4, 1% Triton X-100, and 0.2% sodium deoxycholate, 0.2% SDS, 1 mm Na-EDTA, and 1 mm PMSF) به همراه PMSF مهارکننده‌ی پروتئاز، هموزن شده و پروتئین تام استخراج گشت. میزان پروتئین تام سلولی به روش برادفورد اندازه‌گیری شده و میزان ۳۰ میکروگرم آن برای بررسی میزان پروتئین‌های iNOS و بتا اکتین به کمک تکنیک SDS-PAGE تفکیک شده و به غشای PVDF منتقل شد، با BSA بلاک شده و به وسیله آنتی‌بادی اولیه iNOS از کمپانی Cell signaling (D6B6S) و آنتی‌بادی اولیه بتا اکتین کمپانی Abcam (۴۹۷۰) و آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوش کونزوگه شده با HRP انکوبه شد. جهت ظهور باند پروتئین از کیت ECL شرکت آمرشام استفاده شده است. باند تشکیل شده به کمک نرم‌افزار Image J آنالیز گردید.

جدول ۳: آنالیز مارکرهای بیوشیمیایی سرم

متغیرها	Mean±SE ^c	Mean±SE ^b	Mean±SE ^a	NC	P-value
قند خون ناشتا (میلی گرم / دسی لیتر)	۱۴۵/۷۱±۴۴/۵۹	۱۹۹/۱۲±۴۰/۲۸	۳۰۵/۵±۲۵/۲۴	۱۱۹/۵±۲۲/۵۷	۰/۰۰۱>
کلسترول تام (میلی گرم / دسی لیتر)	۱۱۱/۰۰±۴/۰۰	۱۲۸/۰۰±۳/۰۰	۱۶۹/۰۰±۳/۰۰	۱۱۳/۰۰±۱۱/۰۰	۰/۰۰۱>
تری گلیسرید تام (میلی گرم / دسی لیتر)	۱۲۱/۰۰±۸/۰۰	۱۳۵/۰۰±۶/۰۰	۲۱۱/۰۰±۱۵/۰۰	۹۸/۰۰±۹/۰۰	۰/۰۰۱>
وزن نهایی بدن (گرم)	۳۶۱±۱۴	۳۶۸±۱۵	۳۴۳±۱۹	۴۶۸±۱۱	۰/۰۰۰۱>

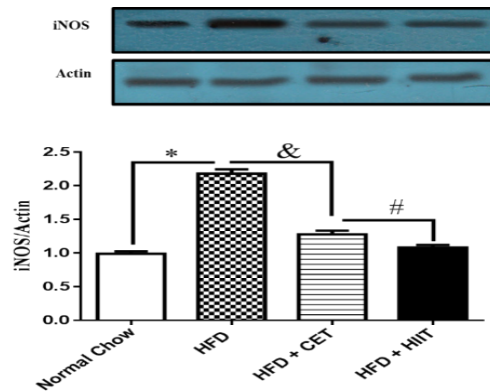
a: تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه NC، b: تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه DC، c: تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه HIIT (n=۸)، NC: کنترل غیردیابتی (n=۸)، DC: کنترل دیابتی (n=۸)، CET: ورزش استقامتی مداوم (n=۸)، HIIT: ورزش تناوبی با شدت بالا (n=۸)

متغیرهای کمی به صورت میانگین ± انحراف استاندارد SE ارائه شد. تفاوت میان گروه‌ها توسط تست One-Way ANOVA و Turkey multiple comparison تعیین گردید. تمرینات ورزشی باعث کاهش بیان ژن iNOS در رت‌های با رژیم غذایی پرچرب شد. بررسی بیان ژن iNOS در سطح mRNA با استفاده از Real Time PCR نشان داده است که گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب سبب القای بیان ژن iNOS به میزان ۲/۷ برابر شده است (P<۰/۰۰۱).



شکل ۲: اثر تمرینات ورزشی بر بیان ژن iNOS. NC: گروه کنترل، HFD: گروه دیابتی با رژیم پرچرب، CET: گروه تمرین مداوم، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید. داده‌ها از سه آزمایش مستقل به دست آمده که به صورت میانگین ± فخطی استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. *P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل؛ &: مقایسه گروه CET در مقایسه با گروه دیابت؛ #: مقایسه گروه HIIT با CET.

هر دو مداخله‌ی ورزشی سبب کاهش بیان ژن iNOS در گروه CET و HIIT به ترتیب به میزان ۴۰٪ و ۵۴٪ شده است (P<۰/۰۵). علاوه بر این مقایسه‌ی بین گروه CET و HIIT، بیانگر کاهش بیشتر بیان mRNA ژن iNOS در گروه HIIT نسبت به گروه CET می‌باشد (P<۰/۰۵). در مجموع، نتایج مطالعه شواهدی فراهم آورده که بیانگر تأیید مثبت مداخله‌ی ورزشی بر بیان ژن iNOS است (شکل ۲). همچنین نتایج بررسی بیان ژن iNOS در سطح پروتئین با استفاده از وسترن بلات نشان داد که رژیم غذایی پرچرب به شکل معناداری سبب القای ۲/۳ برابری بیان پروتئین iNOS شده است.



شکل ۳: اثر تمرینات ورزشی بر بیان ژن iNOS در سطح پروتئین. NC: گروه کنترل، HFD: گروه دیابتی با رژیم پرچرب، CET: گروه تمرین تداومی، HIIT: گروه تمرین تناوبی شدید. داده‌ها از سه آزمایش مستقل به دست آمده که به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. * $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل، & مقایسه گروه CET با گروه دیابت، # مقایسه گروه HIIT با CET.

عملکرد اتوکرین/پاراکرین نقش داشته که سبب تداخل در سیگنالینگ انسولین در بافت‌های محیطی و القای ناکارایی سلول‌های بتا و نهایتاً مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو می‌شوند (۳۴).

به‌طور قابل توجه تعدادی از مطالعات در ارتباط با تأثیر تمرینات ورزشی بر تغییر فنوتیپ ماکروفاژها در بافت چربی انجام شده است. به‌عنوان مثال Oliveria و همکاران گزارش کردند که ورزش شنا به مدت ۳ ساعت با تناوب استراحت ۴۵ دقیقه‌ای باعث تغییر فنوتیپ ماکروفاژ از التهابی به ضدالتهابی در بافت چربی در رت‌های تغذیه شده با رژیم پرچرب می‌گردد (۳۵). همچنین فعالیت ورزشی باعث پلاریزاسیون ماکروفاژ به فنوتیپ ضدالتهابی و بهبود وضعیت التهاب و ترشح انسولین در بافت چربی می‌شود (۳۶). در تأیید نتایج و همسو با دیگر مطالعات، مطالعه‌ی قرقانی و همکاران نشان داد که تمرینات ورزشی شدید باعث بهبود تجمع چربی در کبد رت‌های دیابتی با رژیم پرچرب شده است (۳۷).

مطالعه‌ی صورت گرفته در مدل حیوانی توسط Tavassoli و همکاران نشان داد که بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در ارتباط با افزایش بیان آرژیناز می‌باشد که با نیتریک اکسید سنتاز القایی برای آرژنین رقابت می‌کند (۳۸). مطالعه‌ی Krol و Kepinska نشان داد که بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی با بیماری‌های التهابی در ارتباط است (۳۹). شواهد نشان می‌دهد که القای iNOS در کبد سبب مقاومت به انسولین از طریق اختلال در سیگنالینگ انسولین با سه مکانیسم مستقل می‌گردد: ۱- از طریق القای سرین فسفریلاسیون مهار پروتئین‌های پایین دست گیرنده‌ی انسولین (IRSs)، ۲- کاهش تیروزین فسفریلاسیون زیر واحد بتای گیرنده‌ی انسولین (IRβ) و سوبسترهای یک و دو گیرنده‌ی انسولین (IRS-1 و IRS-2)

هر دو شیوه‌ی مداخله ورزشی سبب کاهش بیان iNOS القا شده به صورت معنی‌دار شده‌اند و علاوه بر این مداخله ورزشی HIIT به صورت قوی‌تر و با قدرت بیشتر سبب کاهش بیان iNOS شده است. مداخله‌های ورزشی CET و HIIT به ترتیب سبب کاهش به میزان ۴۲٪ و ۵۱٪ شده است ($P < 0.05$) (شکل ۳).

بحث

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که رژیم پرچرب باعث افزایش گلوکز خون، کلسترول، تری‌گلیسرید و مقاومت به انسولین می‌شود؛ درحالی‌که مداخله‌ی ورزشی باعث اصلاح آن گردید. نتایج پیش‌رو همسو با مطالعات قبلی است که نشان دادند فعالیت ورزشی باعث کاهش قند خون ناشتا و سایر فاکتورهای بیوشیمیایی می‌شود (۲۸ و ۲۷). تمرین تناوبی با شدت بالا باعث کاهش گلوکز خون بعد از وعده غذایی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌گردد (۲۹). مطالعه‌ی که توسط Lan و همکاران انجام شد نیز نشان داد که شیوه‌ی ورزشی با شدت بالا باعث بهبود گلوکز و مقاومت به انسولین در بافت عضلانی در بیماران دیابتی می‌شود (۳۰). ۲ هفته تمرینات ورزشی با شدت بالا باعث تغییرات مفید در پروفایل‌های التهابی و پروتئوم بافت چربی مردان چاق و یا اضافه‌وزن شد (۳۱) که به‌طور غیرمستقیم نتایج مطالعه‌ی حاضر را حمایت می‌کند. التهاب خفیف مزمن و فعال‌سازی سیستم ایمنی در پاتوزن دیابت نوع ۲ و مقاومت به انسولین مرتبط با چاقی نقش دارد (۳۲). در واقع ماکروفاژها و سایر سلول‌های ایمنی در بافت چربی در پاسخ به عوامل خارجی از حالت ضدالتهابی به پیش‌التهابی تغییر فنوتیپ می‌دهند (۳۳). این ماکروفاژها در تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی دارای

و ۳- مهار مستقیم فعالیت AKt از طریق کاهش تیروزین فسفریلاسیون. شواهد آزمایشگاهی بیانگر نقش iNOS در کاهش حساسیت به انسولین کبدی با القای هر سه مسیر بالا می‌باشد (۴۱ و ۴۰). برای اولین بار Lee و همکاران نشان داده‌اند که القای iNOS به صورت غیر وابسته به Akt در مدل حیوانی مقاوم به انسولین و غیر چاق شده که مسئول انقباض عروق در آن‌ها می‌باشد و پیشنهادکننده‌ی استفاده از iNOS به عنوان راهکار درمانی برای بیماران مبتلا به دیابت نوع دو است (۴۲). همچنین شواهد بیانگر نقش مهارتی نیتریک اکسید سنتاز القایی در درمان بیماری‌های التهابی است (۴۳). به طور قابل توجه همسو با نتایج مطالعه‌ی حاضر، تمرینات ورزشی باعث کاهش بیان نیتریک اکسید سنتاز القایی در رژیم غذایی با کلسترول بالا شده است (۴۴). محدودیت‌های این مطالعه شامل عدم بررسی سایر شاخص‌های التهاب مانند اینترلوکین ۶ و TNF آلفا بود و از نقاط قوت این مطالعه می‌توان به مدل حیوانی استاندارد و پروتکل دقیق تمرین ورزشی تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت پایین اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، شواهد زیادی اثرات مفید تمرینات ورزشی بر کنترل دیابت را نشان داده ولی مکانیسم دقیق مولکولی آن به درستی مشخص نشده است؛

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تمرینات ورزشی با شدت بالا با وجود زمان کمتر، اثر بیشتری بر کاهش نیتریک اکسید سنتاز القایی، گلوکز و کنترل دیابت نسبت به فعالیت ورزشی تداومی با شدت پایین دارد که می‌تواند به دلیل شدت بالاتر آن باشد و می‌تواند تأییدکننده‌ی یکی از مکانیسم‌های اثر مداخلات ورزشی در فرایند ماکروفاژ پلاریزاسیون به نفع M2 باشد که سبب کاهش اثرات و عوارض مقاومت به انسولین می‌گردد. از طرفی مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان نقش مستقیم بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در پلاریزاسیون ماکروفاژ را نشان داده و اثرات آن را بر بهبود علائم دیابت مطالعه نمود. پیشنهاد می‌شود که مطالعه با بررسی مکانیسم‌های مولکولی علاوه بر بر مدل حیوانی، با در نظر گرفتن ملاحظات اخلاقی در مدل انسانی نیز انجام شود.

تشکر و قدردانی

ضمن تشکر و قدردانی از استاد محترم سرکار خانم دکتر مریم دلفان، این پژوهش حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیوشیمی با عنوان «اثر تمرین تناوبی با شدت بالا بر کاهش بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز القایی در بافت چربی احشایی رت‌های دیابتی با رژیم غذایی پرچرب» با شماره پایان‌نامه ۸۵۰۵۵۹۸۴۸ و کد اخلاق IR.AJAUMS.REC.1400.287 بوده است.

References

1. Duncan BB, Magliano DJ & Boyko EJ. IDF Diabetes atlas 11th edition 2025: Global prevalence and projections for 2050. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2025; 41(1): 7-9.
2. Leon BM & Maddox TM. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World Journal of Diabetes* 2015; 6(13): 1246-58.
3. Siam NH, Snigdha NN, Tabasumma N & Parvin I. Diabetes mellitus and cardiovascular disease: Exploring epidemiology, pathophysiology, and treatment strategies. *Reviews in Cardiovascular Medicine* 2024; 25(12): 1-30.
4. Schofield JD, Liu Y, Rao-Balakrishna P, Malik RA & Soran H. Diabetes dyslipidemia. *Diabetes Therapy* 2016; 7(2): 203-19.
5. Kim J & Lee J. Role of obesity-induced inflammation in the development of insulin resistance and type 2 Diabetes: History of the research and remaining questions. *Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 2021; 26(1): 1-13.
6. Burhans MS, Hagman DK, Kuzma JN, Schmidt KA & Kratz M. Contribution of adipose tissue inflammation to the development of type 2 Diabetes mellitus. *Comprehensive Physiology* 2018; 9(1): 1-58.
7. Chait A & Den-Hartigh LJ. Adipose tissue distribution, inflammation and its metabolic consequences, including Diabetes and cardiovascular disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 2020; 7(22): 1-41.
8. Martyniak K & Masternak MM. Changes in adipose tissue cellular composition during obesity and aging as a cause of metabolic dysregulation. *Experimental Gerontology* 2017; 94(1): 59-63.

9. Liang W, Qi Y, Yi H, Mao C, Meng Q, Wang H, et al. The roles of adipose tissue macrophages in human disease. *Frontiers in Immunology* 2022; 13(908749): 1-13.
10. Rausch J, Horne KE & Marquez L. The effects of adipose tissue dysregulation on type 2 Diabetes mellitus. *Biomedicines* 2025; 13(7): 1-16.
11. Sica A, Erreni M, Allavena P & Porta C. Macrophage polarization in pathology. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2015; 72(21): 4111-26.
12. Palmieri EM, Mc-Ginity C, Wink DA & Mc-Vicar DW. Nitric oxide in macrophage Immunometabolism: Hiding in plain sight. *Metabolites* 2020; 10(11): 1-34.
13. Farahani A, Farahani A, Kashfi K & Ghasemi A. Inducible nitric oxide synthase (iNOS): More than an inducible enzyme? Rethinking the classification of NOS isoforms. *Pharmacological Research* 2025; 216(107781): 1-41.
14. Dallaire P, Bellmann K, Laplante M, Gelinas S, Centeno-Baez C, Penfornis P, et al. Obese mice lacking inducible nitric oxide synthase are sensitized to the metabolic actions of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonism. *Diabetes* 2008; 57(8): 1999-2011.
15. Kim ME & Lee JS. Advances in the regulation of inflammatory mediators in nitric oxide synthase: Implications for disease modulation and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences* 2025; 26(3): 1-19.
16. Bradley RL, Jeon JY, Liu FF & Maratos-Flier E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. *AJP Endocrinology and Metabolism* 2008; 295(3): E586-94.
17. Yang AL & Chen HI. Chronic exercise reduces adhesion molecules/iNOS expression and partially reverses vascular responsiveness in hypercholesterolemic rabbit aortae. *Atherosclerosis* 2003; 169(1): 11-7.
18. Fex A, Leduc-Gaudet JP, Filion ME, Karelis AD & Aubertin-Leheudre M. Effect of elliptical high intensity interval training on metabolic risk factor in pre- and type 2 Diabetes patients: A pilot study. *Journal of Physical Activity and Health* 2015; 12(7): 942-6.
19. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL & Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 Diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological Research* 2005; 52(4): 313-20.
20. De-Almeida-Torres RJ, Moreto F, Luchini A, De-Almeida-Torres RJ, Longo SP, Pinho RA, et al. Carnosine supplementation and retinal oxidative parameters in a high-calorie diet rat model. *BMC Ophthalmology* 2023; 23(502): 1-12.
21. Ning W, Peng X, Zhang X, Basit A, Ovatlarnporn C & Olatunji OJ. Revealing the potential hypoglycaemic, hepatorenal and pancreatic protective effects of sugarcane bagasse extract in fructose/streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Agriculture and Food Research* 2025; 20(1): 101769.
22. Solouki S, Gorgani-Firuzjaee S, Jafary H & Delfan M. Efficacy of high-intensity interval and continuous endurance trainings on cecal microbiota metabolites and inflammatory factors in diabetic rats induced by high-fat diet. *PLoS One* 2024; 19(4): 1-22.
23. Koutlianos N, Dimitros E, Metaxas T, Cansiz M, Deligiannis A & Kouidi E. Indirect estimation of VO_2 max in athletes by ACSM's equation: Valid or not? *Hippokratia* 2013; 17(2): 136-40.
24. Gobatto CA, De-Mello MA, Sibuya CY, De-Azevedo JR, Dos-Santos LA & Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology* 2001; 130(1): 21-7.
25. Cunha RR, De-Carvalho-Cunha VN, Segundo PR, Moreira SR, Kokubun E, Campbell CSG, et al. Determination of the lactate threshold and maximal blood lactate steady state intensity in aged rats. *Cell Biochemistry and Function* 2009; 27(6): 351-7.

26. Navarro KL, Huss M, Smith JC, Sharp P, Marx JO & Pacharinsak C. Mouse anesthesia: The art and science. *Ilar Journal* (Academic Journal Published by Oxford University Press) 2021; 62(1-2): 238-73.
27. Grace A, Chan E, Giallauria F, Graham PL & Smart NA. Clinical outcomes and glycaemic responses to different aerobic exercise training intensities in type II Diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cardiovascular Diabetology* 2017; 16(37): 1-10.
28. Stanford KI, Middelbeek RJW, Townsend KL, Lee MY, Takahashi H, So K, et al. A novel role for subcutaneous adipose tissue in exercise-induced improvements in glucose homeostasis. *Diabetes* 2015; 64(6): 2002-14.
29. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW, Dempsey PC, et al. Physical activity/exercise and Diabetes: A position statement of the American Diabetes association. *Diabetes Care* 2016; 39(11): 2065-79.
30. Lan Y, Wang Y, Wu R & Lv P. Optimizing exercise for type 2 Diabetes management: Comparative insights from aerobic, resistance, interval and combined training protocols. *Metabolites* 2025; 15(11): 1-21.
31. Leggate M, Carter WG, Evans MJC, Vennard RA, Sribala-Sundaram S & Nimmo MA. Determination of inflammatory and prominent proteomic changes in plasma and adipose tissue after high-intensity intermittent training in overweight and obese males. *The Journal of Applied Physiology* 2012; 112(8): 1353-0.
32. Okdahl T, Wegeberg AM, Pociot F, Brock B, Storling J & Brock C. Low-grade inflammation in type 2 Diabetes: A cross-sectional study from a Danish Diabetes outpatient clinic. *BMJ Open* 2022; 12(12): 1-10.
33. Hinojosa-Vera KF, Hemakumar C, Bilachi RS, Ramirez DC & Gomez-Mejiba SE. Macrophage phenotypic switch and obesity-associated metabolic risk: Mechanisms and targets. *Oxid Med Cell Longev* 2025; 2025(6710641): 1-17.
34. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ & Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 Diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2014; 105(2): 141-50.
35. Oliveira AG, Araujo TG, Carvalho BM, Guadagnini D, Rocha GZ, Bagarolli RA, et al. Acute exercise induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization in diet-induced obese rats. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21(12): 2545-56.
36. Callegari IOM, Rocha GZ & Oliveira AG. Physical exercise, health, and disease treatment: The role of macrophages. *Frontiers in Physiology* 2023; 14(1061353): 1-12.
37. Ghareghani P, Shanaki M, Ahmadi S, Khoshdel AR, Rezvan N, Meshkani R, et al. Aerobic endurance training improves nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) features via miR-33 dependent autophagy induction in high fat diet fed mice. *Obesity Research and Clinical Practice* 2018; 12(S 2): 80-9.
38. Tavasoli F, Liu M, Machuca T, Bonato R, Grant DR, Cypel M, et al. Increased arginase expression and decreased nitric oxide in pig donor lungs after normothermic ex vivo lung perfusion. *Biomolecules* 2020; 10(2): 1-12.
39. Krol M & Kepinska M. Human nitric oxide synthase—its functions, polymorphisms, and inhibitors in the context of inflammation, Diabetes and Cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 2020; 22(56): 1-18.
40. Mir MM, Jeelani M, Alharthi MH, Rizvi SF, Sohail SK, Wani JI, et al. Unraveling the mystery of insulin resistance: From principle mechanistic insights and consequences to therapeutic interventions. *International Journal of Molecular Sciences* 2025; 26(6): 1-49.
41. Wang Y, Guo Y, Xu Y, Wang W, Zhuang S, Wang R, et al. HIIT ameliorates inflammation and lipid metabolism by regulating macrophage polarization and mitochondrial dynamics in the liver of type 2 Diabetes mellitus mice. *Metabolites* 2022; 13(1): 1-19.

42. Lee JH, Palaia T & Ragolia L. Impaired insulin-mediated vasorelaxation in diabetic Goto-Kakizaki rats is caused by impaired Akt phosphorylation. *The American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2009; 296(2): C327-38.
43. Senderovic A & Galijasevic S. The role of inducible nitric oxide synthase in assessing the functional level of coronary artery lesions in chronic coronary syndrome. *Cardiology Research* 2024; 15(5): 330-9.
44. Semeraro MD, Almer G, Kaiser M, Zelzer S, Meinitzer A, Scharnagl H, et al. The effects of long-term moderate exercise and Western-type diet on oxidative/nitrosative stress, serum lipids, and cytokines in female Sprague Dawley rats. *European Journal of Nutrition* 2022; 61(1): 255-68.