

تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن PPAR γ و میزان TG کبدی در رت‌های مبتلا به بیماری کبد چرب

محمدحسین باقری^۱، اکبر اعظمیان جزئی^۲، ابراهیم بنی‌طالبی^۳، محمدحسین نصر اصفهانی^۴

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران (نویسنده مسئول)
۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. استاد جنین‌شناسی، پژوهشکده زیست فناوری رویان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۰۹

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن PPAR γ و محتوای تری‌گلیسیرید کبدی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی انجام شد. در این پژوهش تجربی ۳۰ سر رت نر و بیستار به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: گروه اول (۲۰ سر)، ۱۶ هفته غذای پرچرب با هدف بروز کبد چرب مصرف کرد و گروه دوم (کنترل) (۱۰ سر) در این مدت غذای استاندارد مصرف کرد. پس از تأیید کبد چرب به‌وسیله اندازه‌گیری سطح سرمی آنزیم ALT در گروه اول و تقسیم تصادفی آن‌ها به دو گروه NAFLD و NAFLD+HIIT (هر گروه ۱۰ سر)، گروه NAFLD+HIIT تمرین فزاینده‌ای براساس درصدی از حداکثر سرعت را (۷۵ تا ۹۰ درصد) به‌مدت هشت هفته انجام داد و گروه‌های NAFLD و کنترل تنها رژیم غذایی قبل خود را مصرف کردند و در هیچ تمرین ورزشی شرکت نکردند. در پایان هشت هفته تمرین، میزان بیان ژن PPAR γ و محتوای کبدی تری‌گلیسیرید اندازه‌گیری شد. یافته‌ها نشان داد میزان بیان ژن PPAR γ در گروه NAFLD+HIIT در مقایسه با گروه NAFLD به‌طور معناداری افزایش یافت ($P = 0.001$). همچنین میزان تری‌گلیسیرید کبدی گروه NAFLD+HIIT کاهش معناداری داشت ($P = 0.001$). میانگین وزن رت‌ها در گروه NAFLD+HIIT نیز تغییر معناداری نداشت ($P = 0.054$)، اما میانگین وزن گروه کنترل و NAFLD در طی این دوره افزایش معناداری پیدا کرد ($P = 0.001$). به‌نظر می‌رسد تمرین‌های تناوبی شدید با افزایش بیان PPAR γ و تأثیر بر تنظیم بیان ژن‌های مؤثر در متابولیسم چربی، به‌طور مستقل از کاهش وزن باعث کاهش تری‌گلیسیرید کبدی و بهبود بیماری کبد چرب می‌شوند.

واژگان کلیدی: بیماری کبد چرب، تمرین تناوبی شدید، گیرنده فعال تکثیر پرواکسیزوم گاما، تری‌گلیسیرید کبدی.

1. Email: bagherim632@gmail.com
2. Email: azamianakbar@yahoo.com
3. Email: banitalebi.e@gmail.com
4. Email: mh_nasr@med.mui.ac.ir

مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی^۱ (NFLD) اصلی ترین بیماری کبدی محسوب می شود؛ به طوری که امروزه ۲۰ درصد تا ۴۰ درصد از جمعیت جهان به درجات متفاوت به این بیماری مبتلا هستند (۱). کبد به عنوان بزرگترین اندام جامد درون بدن از سلول‌های مختلفی تشکیل شده است. هپاتوسیت‌ها^۲ اصلی ترین سلول کبدی هستند که در اغلب فرایندهای متابولیک، دفع سموم و سنتز پروتئین‌ها نقش دارند (۲). وجود بیش از حد قطرات چربی^۳ (LD) در هپاتوسیت‌ها از نشانگان استئاتوز^۴ است (بیش از ۵ درصد از وزن آن) (۳). NAFLD طیف گسترده‌ای از آسیب کبدی شامل استئاتوز ساده یا تجمع تری‌گلیسرید (TG) درون هپاتوسیت تا التهاب کبدی ناشی از رسوب چربی^۵ (NASH)، فیروز و سیروز کبدی را در برمی گیرد که نتیجه اختلال در مکانیسم سنتز و اکسیداتیو اسید چرب^۶ است (۳). مطالعات نشان می‌دهند تنظیم لیپوژنز تحت کنترل شبکه‌ای از گیرنده‌های هسته‌ای (PPARs^۷، SREBPs^۸ و ChREBP^۹) است که با تنظیم بیان آنزیم‌های مؤثر در متابولیسم چربی فعال هستند (۴). گیرنده‌های فعال تکثیر پرواکسیزوم (PPARs) یکی از اعضای بالادستی گیرنده‌های هسته‌ای اند و دارای سه ایزوتایپ α ، γ ، β/δ و PPAR هستند که از طریق رونویسی ژن‌های تحت کنترل خود باعث کنترل دسته‌ای از آنزیم‌ها و پروتئین‌های مؤثر در تنظیم متابولیسم چربی می‌شوند (۵). PPAR α در بافت‌هایی چون هپاتوسیت‌ها که فعالیت متابولیک بسیار زیادی دارند، بیان می‌شود و انتقال FA، بتاکسیداسیون، گلوکونئوژنز و متابولیسم اسید آمینه را کنترل می‌کند (۵). PPAR γ نیز به میزان زیادی در کبد بیان می‌شود و از طریق ایجاد هتروداایمر با گیرنده رتینوئید X (RXR) و تأثیر بر بیان برخی ژن‌ها در شکل‌گیری سندرم متابولیک مؤثر است (۶). براساس مطالعات پیشین، افزایش بیان PPAR γ یکی از نشانگان استئاتوز کبدی است که از طریق فعال‌سازی ژن‌های لیپوژنیک و نوسازی لیپوژنز در آن مؤثر است (۷). به‌تازگی در برخی پژوهش‌ها به تأثیر درمانی آگونیست‌های دارویی PPAR γ بر استئاتوز پرداخته شده است. اثر PPAR γ بر بهبود شاخص‌های کبد چرب به بهبود حساسیت انسولینی در بافت‌های محیطی آدیپوز و عضلات اسکلتی (۸)، افزایش سطح آدیپونکتین

-
1. Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases
 2. Hepatocytes
 3. Lipid Droplet
 4. Steatosis
 5. Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH)
 6. Fatty Acid
 7. Peroxisome Proliferator- Activated Receptor
 8. Sterol Regulatory Element-Binding Transcription Factors
 9. Carbohydrate-Responsive Element-Binding Protein

(۹)، مهار تکثیر و فعال‌سازی سلول‌های اقماری کبد (۱۰)، تغییر فنوتایپ مونوسیت‌های التهابی به نوع ضدالتهابی (۱۱) و کاهش التهاب‌های مرتبط با سلول‌های اندوتلیال کبدی (۱۲) مربوط می‌شود. به لحاظ نظری، مهم‌ترین ارتباط PPAR γ با افزایش حساسیت انسولینی، به برداشت بیشتر اسید چرب در بافت‌های محیطی چون عضلات و بافت چربی مربوط می‌شود که نتیجه نهایی آن، کاهش رهایش اسیدهای چرب از این بافت‌ها و ورود آن به کبد و بهبود بیماری کبد چرب است (۷).

فعالیت بدنی با افزایش هزینه انرژی بدن، به‌طور هم‌زمان باعث تنظیم مثبت فرایندهای بتا‌اکسایش و کاهش لیپوژنز می‌شود (۱۳). چنین تغییراتی موجب تنظیم مجدد متابولیسم کبد از طریق تأثیر بر لیپازهایی چون ATGL^۱ کبدی می‌شود که افزایش بتا‌اکسیداسیون و کاهش ذخایر TG را به‌صورت مستقل از تغییر بیان ژن‌های کبدی یا TG سرمی در پی خواهد داشت (۱۴). به‌طور سنتی، غالب پروتکل‌های تمرینی که برای افزایش لیپولیز طراحی شده‌اند، شامل پیاده‌روی و جاگینگ بوده‌اند که به تمرین در حالت پایدار^۲ یا تمرین استقامتی کم‌شدت^۳ (LIET) شهرت دارند. این‌گونه تمرین‌ها با افزایش بتا‌اکسیداسیون، کاهش وزن چربی و افزایش حساسیت انسولینی باعث ایجاد آبخاری از رویدادهای تنظیمی مؤثر در کاهش ذخایر چربی کبدی می‌شوند که به‌نظر می‌رسد این تغییرات نتیجه غیرمستقیم تغییر در بیان پرواکسی زوم‌ها و سایر گیرنده‌های هسته‌ای است (۱۵). با این حال، انجام دادن طولانی‌مدت این تمرین‌ها به‌دلیل ماهیت تکراریشان به‌مرور می‌تواند باعث کاهش انگیزه و رغبت انجام دادن آن‌ها شود (۱۶). امروزه به شیوه جدیدی از تمرین با عنوان «تمرین تناوبی شدید»^۴ (HIIT) توجه شده است که افراد غیرفعال و دارای اضافه‌وزن نیز می‌توانند آن را انجام دهند و مشخص شده است که این شیوه جدید تمرین قادر به تغییر ترکیب بدن و کاهش وزن نیز است (۱۶). مشخصه اصلی این‌گونه تمرین‌ها، حجم کم آن‌ها به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین متغیرهای تمرین است که علاوه بر صرفه‌جویی در زمان، در بهبود آمادگی جسمانی و ارتقای سلامت نیز مؤثرند. تفاوت بارز تمرینات HIIT با تمرینات کم‌شدت در میزان کاتکولامین و لاکتات تولیدشده در طی این‌گونه فعالیت‌هاست و سازوکارهای متعدد تعدیل آن‌ها نیز می‌توانند در تفاوت سازگاری‌های ایجادشده مؤثر باشند (۱۷).

به‌نظر می‌رسد استفاده از تمرین‌های تناوبی شدید افزایش بیان پرکسی زوم‌های هسته‌ای آلفا و گاما موجب افزایش بتا‌اکسیداسیون و کاهش تولید ROS از طریق کاهش پروکسیداسیون چربی‌ها^۵ و فعالیت کمتر سلول‌های اقماری^۶ در کبد می‌شود (۱۸) که نتیجه بلندمدت چنین سازگاری‌هایی

1. Adipose Triglyceride Lipase
2. Steady State
3. Endurance Training
4. High Intensity Interval Training
5. Lipid Peroxidation
6. Hepatic Stellate Cell

کاهش سلول‌های آسیب‌زنده به میتوکندری همچون $HMGB1^1$ است (۱۸). HIIT علاوه بر مصرف چربی‌ها در حین و پس از آن، باعث تخلیه زیادتر ذخایر گلیکوژن نیز می‌شود (۲۰، ۱۹). در واقع، این‌گونه فعالیت‌ها با افزایش AMPK باعث تحریک بیشتر فسفوریلاسیون و غیرفعال شدن آنزیم‌های مرتبط با لیپوژنز چربی (ACC، FAS، SCD1) و همچنین مسدود شدن SREBP-1 به‌عنوان اصلی‌ترین عامل رونویسی آن‌ها می‌شوند (۱۸) که خود کاهش مقاومت عمومی سلول‌های گوناگون بدن و بهبود شاخص‌های مرتبط با آن را در پی خواهد داشت (۲۱).

مصرف اکسیژن بیشتر پس از فعالیت $EPOC^2$ (و رهایش بیشتر عامل آزادسازی کورتیکوتروپین^۳ (CRF) در مقایسه با تمرین‌های سنتی هوازی از دیگر مزایای مهم این‌گونه تمرین‌هاست که به ترتیب به مصرف بیشتر انرژی و کاهش طولانی‌تر اشتها می‌انجامد (۲۲). از طرفی، در پی استفاده از این‌گونه تمرین‌ها، میزان درخور توجهی مایوکاین در عضلات تولید می‌شود و پس از رهایش در خون به بافت‌های هدف می‌رسد. مایوکاین‌ها به‌عنوان زبان مشترک بین بافت‌های مختلف در بدن باعث ایجاد تعامل مفید بین عضلات و کبد می‌شوند (۲۳).

با توجه به شیوع گسترده بیماری کبد چرب و نقش $PPAR\gamma$ در کنترل بیان آنزیم‌های مؤثر در متابولیسم چربی کبدی، توجه به مداخلات غیردارویی که باعث تغییر بیان این گیرنده‌های هسته‌ای در هپاتوسیت‌ها می‌شوند، ضروری به‌نظر می‌رسد. از طرفی، معلوم نیست که آیا تمرین‌های HIIT می‌توانند تأثیر مفیدی بر تغییر میزان بیان پرواکسی زوم‌ها و متعاقب آن بهبود کبد چرب داشته باشد یا خیر؛ بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن $PPAR\gamma$ و محتوای TG درون کبدی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی انجام شد.

روش پژوهش

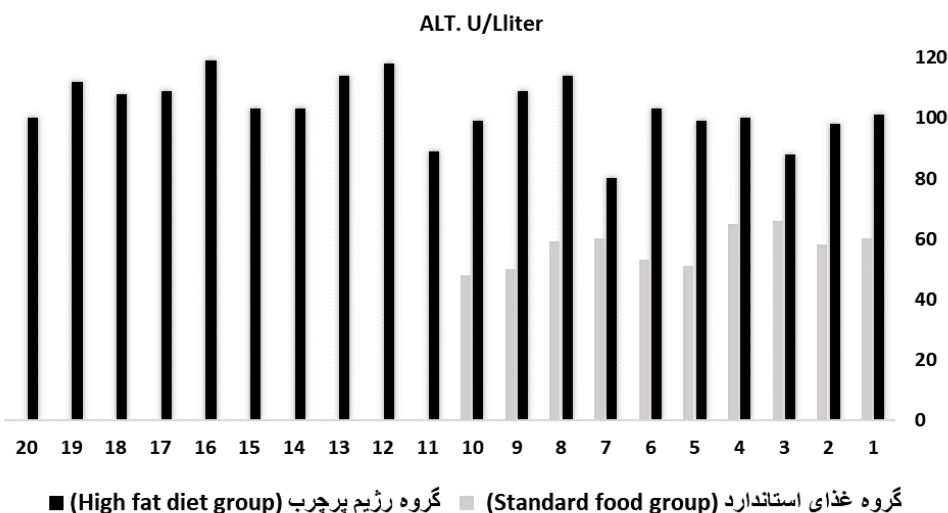
در این پژوهش تجربی، ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن حدود پنج هفته و میانگین وزن $24/6 \pm$ گرم از پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان خریداری شد. پژوهش براساس قوانین و نحوه رفتار با حیوانات انجمن ارزیابی و اعتباربخشی بین‌المللی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی و با دریافت مجوز اخلاق از کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت‌بدنی (با کد ۴۸۰۱۰) و در محل پژوهشکده رویان اصفهان انجام شد (۲۴). همه حیوانات دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند و در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند (۱۲:۱۲ تاریکی و روشنایی، رطوبت ۵۰ درصد، دما ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و تعداد

1. High-Mobility Group Box-1
2. Excess Post-Exercise Oxygen Consumption
3. Corticotrophin-Releasing Factor

پنج رت در هر قفس) (۲۵). پس از گذشت یک هفته، رت‌ها به‌طور تصادفی به گروه کنترل (۱۰ سر) با رژیم غذایی استاندارد (۲۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۱۰ درصد پروتئین) و یک گروه (۲۰ سر) با رژیم غذایی پرچرب (۶۰ درصد چربی شامل ۹۰ درصد چربی فرآوری‌شده حیوانی و ۱۰ درصد روغن دانه سویا، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین) تقسیم شدند. پس از گذشت ۱۶ هفته مصرف رژیم‌های غذایی و تشخیص کبد چرب از طریق سنجش آنزیم ALT^۱ (۲۶، ۲۷) در رت‌هایی که غذای پرچرب مصرف کرده بودند (شکل شماره یک)، رت‌های گروه مبتلا شده به کبد چرب به‌طور تصادفی به دو گروه مساوی ده‌تایی NAFLD و NAFLD+HIIT تقسیم شدند و همچنان غذای پرچرب مصرف کردند. از این زمان، گروه NAFLD+HIIT به‌مدت هشت هفته (پنج جلسه در هفته) در یک پروتکل تمرین ورزشی روی نوارگردان جوندگان (ساخت شرکت تجهیزات گسترامید ایرانیان) شرکت کردند. در این پژوهش، گروه کنترل تنها غذای استاندارد مصرف کرد و همانند گروه NAFLD در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکرد (۲۵). شایان ذکر است که قبل از شروع پروتکل تمرین ورزشی، حیوانات گروه NAFLD+HIIT به‌مدت یک هفته، روزانه ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه برای آشناسازی با نوارگردان و دویدن روی آن تمرین کردند (۱۶). برای تعیین حداکثر سرعت رت‌ها از آزمونی ده‌مرحله‌ای استفاده شد که سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر در ساعت (پنج متر در دقیقه) بود و در مراحل بعدی، در هر ۳ دقیقه ۰/۳ کیلومتر در ساعت به سرعت نوارگردان اضافه شد و سرعتی که در آخرین مرحله حیوان با وجود شوک الکتریکی قادر به دویدن نبود، به‌عنوان حداکثر سرعت دویدن ثبت شد (۲۸). سپس به‌دلیل نزدیکی سرعت بیشینه رت‌ها و همچنین محدودیت اجرای پژوهش، میانگین حداکثر سرعت برای کل گروه در نظر گرفته شد (۲۹). پژوهشگران مطالعه حاضر پروتکل HIIT را براساس پروتکل‌های استفاده‌شده در سه مقاله (۳۱، ۳۰، ۱۶) طراحی، آزمایش و اجرا کردند. این پروتکل شامل سه قسمت گرم‌کردن و سردکردن (پنج دقیقه و با ۳۰ درصد سرعت بیشینه) و تمرین اصلی بود. تمرین اصلی شامل مجموعه‌ای منظم از تمرین دویدن شدید و استراحت فعال بود و به‌ترتیب شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۸۰ درصد در هفته دوم، ۸۵ درصد در هفته سوم و ۹۰ درصد در هفته چهارم تا پایان تمرین بود. وهله‌های استراحت فعال نیز شامل دو دقیقه راه‌رفتن با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه آن‌ها از هفته اول تا پایان هفته سوم بود که به‌دلیل فزاینده‌بودن پروتکل و افزایش شدت دویدن، از ابتدای هفته چهارم تا انتهای دوره معادل، ۲۰ درصد آن در نظر گرفته شد. در انتهای هر جلسه و پس از آخرین فعالیت شدید، رت‌ها به‌جای تمرین در شدت کم، به‌مدت پنج دقیقه با ۳۰ درصد سرعت بیشینه به سردکردن پرداختند. تعداد تکرارها به‌گونه‌ای تنظیم شد که در هفته اول دو وهله تکرار، هفته دوم

1. Alanine Aminotransferase

چهار وهله، هفته سوم شش وهله و از هفته چهارم تا پایان، هشت وهله فعالیت با شدت زیاد تکرار شد (جدول شماره یک).



شکل ۱- تغییرات آنزیم ALT پس از ۱۶ هفته رژیم‌های غذایی استاندارد و پرچرب
Figure 1- ALT Enzyme Changes After 16 Weeks of Standard and High-Fat Diets

جدول ۱- پروتکل تمرینی گروه NAFLD+HIIT

Table 1- NAFLD + HIIT Group Training Protocol

کل مسافت طی شده در هر جلسه (متر) Total distance covered in each session (m)	تعداد وهله‌های تمرین شدید Number of intense training bouts	سرعت (متر/دقیقه) Speed (m/min)	شدت هنگام استراحت Intensity at rest time	شدت تمرین Training intensity	هفته Weeks
246	2	30	30%	75%	1
445	4	32	30%	80%	2
588	6	34	30%	85%	3
748	8	36	20%	90%	4
748	8	36	20%	90%	5
748	8	36	20%	90%	6
748	8	36	20%	90%	7
748	8	36	20%	90%	8

۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه گروه تمرینی و پس از ۱۶ ساعت ناشتایی (۳۲)، همه حیوانات با تزریق سدیم پنتوباریتال (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند (۳۳) و پس از استخراج کبد و شست‌وشوی آن با سالین، تنها لوب راست کبد رت‌ها جداسازی شد (به‌دلیل فشار سهمی متفاوت اکسیژن در بخش‌های مختلف کبد و تأثیر احتمالی آن در نتایج) و سپس شستشو شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد قرار داده شد و تا زمان انجام مراحل آزمایشگاهی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۳۴).

استخراج TG: تقریباً ۰/۵ گرم (۵۰۰ میلی‌گرم) از بافت کبد جدا شد. سپس معادل یک میلی‌لیتر ایزوپروپانول به هر میکروتیوب اضافه شد و با استفاده از سواپ پلاستیکی، بافت کبد داخل میکروتیوب فشرده شد و تا قطعه‌قطعه کردن و متلاشی شدن کامل بافت برای تسهیل هموژیناسیون این کار ادامه پیدا کرد. در ادامه، میکروتیوب‌ها برای جداسازی بافت‌ها به مدت یک دقیقه به وسیله دستگاه هموژنیز و با قدرت ۵۰۰۰ هرتز هموژنیزه شد (HETYCH، مدل UP1000H). پس از آن، میکروتیوب‌ها به مدت پنج دقیقه و با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند تا لایه رویی آن تفکیک‌شده شود. در نهایت، این لایه برای سنجش TG روی دستگاه اتوآنالیزور (مدل BT3000) استفاده شد (۳۵).

استخراج RNA: به این منظور از کیت استخراج ایرایزول RNA، ساخت شرکت زیست‌فناوران رنا در ایران (کد دسترسی RB1001) استفاده شد. ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم بافت فریزشده کبد به هاون استریل منتقل شد و به همراه یک میلی‌لیتر بافر ایرایزول برای ایجاد بافتی همگن کوبیده شد. سپس این محلول به میکروتیوب منتقل شد و ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه شد و به مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه تکان داده شد و پنج دقیقه برای تفکیک لایه رویی که حاوی RNA بود، ثابت نگه داشته شد. این مایع با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰ درصد سرد مخلوط شد و به مدت هشت دقیقه در داخل فریزر با دمای ۲۰- سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس تیوب سانتریفیوژ شد و مایع باقی‌مانده حذف شد و اتانول ۸۰ درصد به لکه‌های سفیدرنگ باقی‌مانده در بدنه و کف تیوب اضافه شد و مجدداً سانتریفیوژ تکرار شد. پس از خارج کردن اتانول و خشک کردن محتوای داخل تیوب (در این مرحله از روش air-dry استفاده شد)، ۲۰ تا ۵۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیرشده، متناسب به آن اضافه شد. سپس پنج میکرولیتر از آن به منظور تأیید کیفیت روی ژل آگارز یک درصد ران شد تا پس از تأیید، از آن در سنتز cDNA استفاده شود.

ساخت cDNA: سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (RB) زیست‌فناوران رنا و مطابق با دستورات این شرکت انجام گرفت (۳۶) (جدول شماره دو).

جدول ۲- مراحل ساخت cDNA

Table 2 - Steps of cDNA Synthesis

مقدار (میکرولیتر) Amount (microliters)	مواد Substances
5	RNA
1	d NTP (10 Mm)
1	الیگو T (100 μM) Oligo T (100 μM)
8	آب دوبار تقطیر استریل Sterile double distilled water
4	بافر (5 X) Buffer (X 5)
1	آنزیم رونوشت بردار معکوس (400 u/μl) Reverse transcriptase enzyme (400 u/μl)
20	حجم کل Total volume

اندازه‌گیری بیان ژن: تعیین بیان mRNA از طریق روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Real-time RT-PCR) انجام شد. برای کسب شرایط دمایی بهینه برای تکثیر، ژن TBP به‌عنوان کنترل سنتز cDNA در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، طبق شرایط و دمایی پیشنهادی شرکت سازنده پرایمر زیست‌فناوران رنا استفاده شد (۳۶). توالی پرایمرها برای ژن PPAR γ و TBP در جدول شماره سه ارائه شده است.

جدول ۳- توالی پرایمرها برای ژن PPAR γ و TBPTable 3. Sequence of Primers for PPAR γ and TBP Genes

Name	Sequence
PPAR γ	F: ACGATCTGCCTGAGGTCTGT
	R: CATCGAGGACATCCAAGACA
TBP	F: CAGCCTTCCACCTTATGCTC
	R: TTGCTGCTGCTGTCTTTGTT

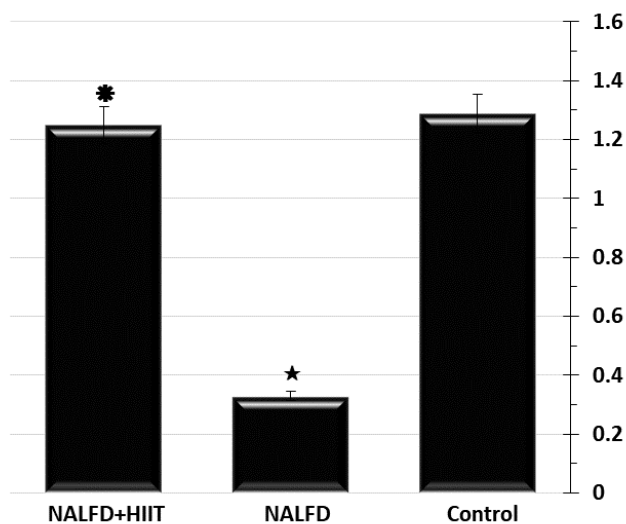
برای تعیین چگونگی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون^۲ استفاده شد. با توجه به طبیعی نبودن توزیع داده‌ها، از آزمون‌های ناپارامتریک کروسکال والیس^۳

1. Shapiro-Wilk Test
2. Levene's Test
3. Kruskal-Wallis Test

و یومن ویتنی^۱ برای آزمون فرضیه‌های پژوهش استفاده شد. همچنین برای مقایسه تغییرات وزن از آزمون تی زوجی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس.^۲ نسخه ۲۲ و سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شد.

نتایج

تحلیل داده‌ها با آزمون کروسکال والیس نشان داد که تفاوت معناداری در میزان بیان ژن PPAR γ بین گروه‌های مختلف این پژوهش وجود دارد ($X^2 = 24.01, P = 0.001$). همچنین آزمون یومن ویتنی نشان داد که میزان بیان ژن PPAR γ در گروه NAFLD در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش یافت ($P = 0.001$) و در گروه NAFLD+HIIT در مقایسه با گروه NAFLD به‌طور معناداری افزایش پیدا کرد ($P = 0.001$), اما باوجود این افزایش چشمگیر، همچنان میزان آن در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری کمتر بود ($P = 0.001$), (شکل شماره دو).

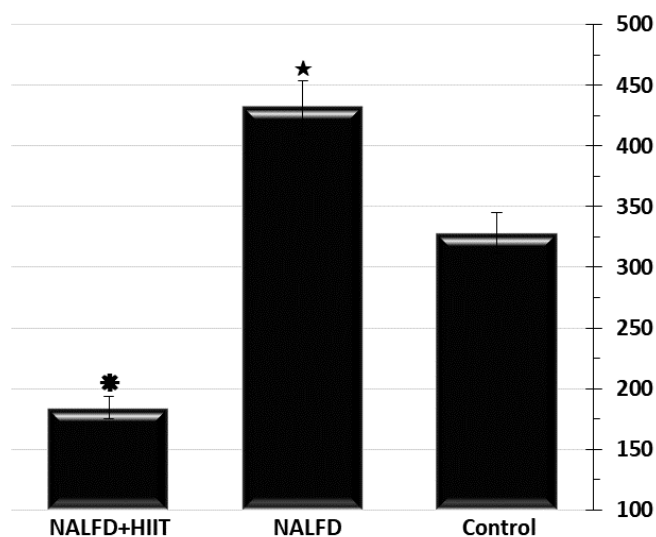


شکل ۲- تغییرات میانگین بیان ژن گیرنده فعال تکثیر پرواکسیزوم گاما (PPAR γ mRNA)
 Figure 2 - Mean Changes in The Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR γ mRNA)

★: کاهش معنادار در مقایسه با گروه کنترل، * :افزایش معنادار در مقایسه با گروه NAFLD

1. Mann-Whitney U-Test
2. SPSS

درباره میزان TG کبدی، تحلیل داده‌ها با آزمون کروسکال والیس نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های مختلف این پژوهش وجود دارد ($X^2 = 32.84, P = 0.001$). براساس نتایج آزمون یومن ویتنی، افزایش معناداری در محتوای TG کبدی گروه NAFLD در مقایسه با کنترل مشاهده شد ($P = 0.001$) و میزان TG کبدی در گروه NAFLD+HIIT در مقایسه با گروه‌های NAFLD ($P = 0.001$) و کنترل ($P = 0.001$) به‌طور معناداری کاهش یافت (شکل شماره سه).



شکل ۳- تغییرات میانگین TG کبدی در گروه‌های مختلف (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

Figure 3 - Changes in Mean Hepatic TG in All Groups (mg/dl)

*: افزایش معنادار در مقایسه با گروه کنترل، * : کاهش معنادار در مقایسه با گروه NAFLD

تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که میانگین وزن رت‌ها در گروه NAFLD+HIIT تغییر معناداری نداشت ($P = 0.054$)، اما میانگین وزن گروه‌های کنترل و NAFLD در طی این دوره افزایش معناداری پیدا کرد ($P = 0.001$).

جدول ۴- مقایسه وزن رت‌ها قبل و بعد از پروتکل تمرینی با استفاده از آزمون تی همبسته

Table 4: Comparison of Rat Weight Before and After Training Using Paired T-Test

P	t	df	Mean \pm SD		گروه‌ها Groups
			پس از تمرین After training	پیش از تمرین Before training	
0.001*	-10.60	9	418.00 \pm 8.76	391.90 \pm 8.73	Control
0.001*	-12.58	9	455.11 \pm 15.97	420.00 \pm 14.88	NAFLD
0.054	-2.25	9	404.78 \pm 11.07	401.00 \pm 12.76	NAFLD+HIIT

* معناداری در مقایسه با قبل از تمرین ($P < 0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر پروتکل تمرینی HIIT بر میزان بیان ژن PPAR γ و محتوای TG در کبد رت‌های دارای بیماری کبد چرب غیرالکلی پرداخته شد. نتایج نشان داد که بیان ژن PPAR γ در کبد رت‌های گروه کنترل و گروه NAFLD+HIIT بسیار بیشتر از گروه NAFLD بود. از طرفی، کمترین میزان رسوب TG در گروه‌های NAFLD+HIIT و کنترل مشاهده شد؛ در حالی که میزان بسیار زیادی از TG درون کبدی در گروه NAFLD که دارای سطح اندک بیان ژن PPAR γ بود، مشاهده شد. همسو با یافته‌های این پژوهش مبنی بر بهبود بیماری کبد چرب در گروه تمرین HIIT که در پی افزایش بیان PPAR γ در کبدشان روی داد، نان و لاجمن^۱ (۳۷) و آنهوا^۲ و همکاران (۳۸) نشان دادند که مصرف داروهای آگونیست PPAR γ باعث بهبود استئاتوز و فیبروز کبدی می‌شود. این پژوهشگران تجزیه FAs در بافت چربی و جلوگیری از فعالیت سلول‌های اقماری کبد را علل احتمالی چنین سازگاری‌ای اعلام کردند. در واقع، افزایش PPAR γ باعث افزایش آدیپوژنز در بافت چربی می‌شود که موجب بهبود حساسیت انسولینی کل بدن و در نتیجه کاهش FAs گردش خون و حرکت آن‌ها به سمت کبد می‌شود (۳۹). از طرفی، مسدود کردن بیان PPAR γ در کبد و بافت چربی باعث ایجاد مقاومت انسولینی در آن‌ها می‌شود (۴۰). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کمترین میزان رسوب TG کبدی در گروه‌های NAFLD+HIIT و کنترل مشاهده شده است که دارای بیشترین میزان بیان PPAR γ نیز بودند؛ بنابراین، به نظر می‌رسد میزان بیان PPAR γ می‌تواند تحت تأثیر تمرین یا رژیم غذایی قرار بگیرد؛ این در حالی است که گروه NAFLD+HIIT در سراسر این دوره از رژیم غذایی پرچرب استفاده کردند و احتمالاً عواملی چون ترشح مایوکاین‌ها و پپتیدهای دخیل در تنظیم اشتها یا سایر عوامل

1. Nan & Lutchman
2. Ahn Hwa

محیطی مانند وضعیت هیپوکسی که همگی با تمرین‌های HIIT مرتبطند، در تعیین محتوای TG کبدی نقش داشته‌اند (۲۲)؛ البته اطلاعات ما درباره این موضوعات بسیار ناچیز است. نتایج این پژوهش مبنی بر کاهش محتوای TG کبدی با پژوهش‌های مین هوآ^۱ (۳۴)، میلارد^۲ و همکاران (۴۱) و هالسورت^۳ و همکاران (۴۲) هم‌راستا بود. تغییرات وزن رت‌ها نیز به‌گونه‌ای بود که افزایش بیان PPAR γ و کاهش TG کبدی در گروه NAFLD+HIIT مستقل از کاهش وزن رخ داده است؛ براین اساس، حتی یک وهله فعالیت ورزشی شدید نیز می‌تواند با ایجاد تغییرات مثبت در مسیرهای متابولیکی، سم‌زدایی و جلوگیری از تجمع TG در کبد تاحدی از شرایط نامطلوب حاصل از رژیم پر چرب بکاهد (۴۳). به‌نظر می‌رسد تمرین‌های HIIT باعث افزایش فسفوریلاسیون و مهار آنزیم‌های لیپوژنری چون استیل کوآ کربوکسیلاز (ACC) توسط فعالیت پروتئین کیناز وابسته به AMP (AMPK) هم‌زمان در عضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد می‌شوند (۱۶). از طرفی، فسفردارشدن AMPK باعث مهار عامل رونویسی SREBP1 در این بافت‌ها می‌شود و باعث تنظیم منفی آنزیم‌های لیپوژنری (FAS، SCD1^۴ و ACC) در کبد و تغییر متابولیسم اسید چرب در آن می‌شود (۱۸). کاهش TG درون کبدی گروه تمرینی را می‌توان با مصرف اکسیژن اضافه پس از تمرینات با شدت بالا که در پی رهایش بیشتر کاتکولامین‌ها و در نتیجه افزایش بیشتر فرایندهای دفع لاکتات در آن‌ها رخ می‌دهد، مرتبط دانست که باعث می‌شود هزینه انرژی مصرفی تا ساعت‌ها پس از تمرین همچنان زیاد باشد (۱۷). از طرفی، شواهد نشان می‌دهند که استفاده از تمرین‌های HIIT باعث تغییر در نوع تار و هیپرتروفی بیشتر تارهای نوع دو (۴۴) و نیز افزایش بیان GLUT4 در این گونه تارها می‌شود که به بروز سازگاری‌های مثبت و کاهش TG در آن‌ها به‌طور مستقل از تغییر در وزن بدن منجر می‌شود (۴۴).

تاکنون سازوکار دقیق افزایش بیان ژن PPAR γ در پی انجام‌دادن تمرین‌های ورزشی مشخص نشده است، ولی می‌توان تاحدودی درباره سازوکار احتمالی آن بحث کرد. خاصیت تنظیم‌کنندگی FAs از طریق PPAR γ اعمال می‌شود؛ بدین صورت که تمرین احتمالاً باعث افزایش برخی لیگاندها و به‌صورت مشخص PPAR γ می‌شود که پس از اتصال به گیرنده‌های کبدی ایکس (LXR)، از طریق پیوند با گیرنده رتینوئید X (RXR) از طریق کمپلکس LXR/RXR فعال می‌شود و بیان ژن‌های کنترل‌کننده متابولیسم چربی و گلوکز را تنظیم می‌کند (۶). تشکیل این کمپلکس باعث افزایش بیان ژن‌هایی چون اسیل کوآدهیدروژناز زنجیره بلند (LCAD)، اسیل کوآدهیدروژناز زنجیره متوسط (MCAC) و

-
1. MinHwa
 2. Maillard
 3. Hallsworth
 4. Stearoyl Coenzyme A Desaturase1

کارنتین پالمیتویل کوآ ترانسفراز-یک (CPT-1) می‌شود و در اکسیداسیون اسیدهای چرب دخیل‌اند (۴۵). با توجه به این موارد، افزایش PPAR γ را می‌توان در چندین حیطة بررسی کرد: ۱- افزایش آن باعث بهبود حساسیت انسولینی در بافت‌های محیطی چون آدیپوز و عضلات اسکلتی می‌شود که به کاهش جریان اسید چرب به سمت کبد منجر خواهد شد (۸)؛ ۲- موجب افزایش سطوح آدیپونکتین می‌شود و از این طریق سبب افزایش بیان PPAR α و اکسیداسیون بیشتر اسید چرب خواهد شد که بهبود حساسیت سلولی و التهابات را به همراه دارد (۹)؛ ۳- باعث کاهش فعالیت سلول‌های اقماری کبد (HSC) خواهد شد (۱۰)؛ ۴- باعث تغییر ماهیت ماکروفاژها (مانند سلول‌های کوپفر) به سمت فنوتایپ ضدالتهابی خود خواهد شد (۱۱)؛ ۵- نقش ضدالتهابی سلول‌های اندوتلیال کبد را تشدید می‌کند (۱۲).

با توجه به سازوکارهای تأثیر پرواکسی زوم‌ها بر تغییر محتوای TG کبدی و بهبود کبد چرب، می‌توان به ارتباط آن‌ها با پروتئین‌های مرتبط با قطره چربی اشاره کرد. ژوو^۱ و همکاران (۴۶) تأثیر آگونیست‌های مختلف PPARs بر پروتئین‌های قطرات چربی کبدی را مطالعه کردند. آن‌ها نشان دادند که هر دو آگونیست α و PPAR γ باعث مهار روند افزایش وزن در رت‌های دارای کبد چرب شدند و شاخص‌های مربوط به تحمل گلوکز و مقاومت انسولینی را نیز بهبود بخشیدند. علاوه بر این، سطوح TG کبدی در هر دو گروه پرواکسی زوم آلفا و گاما دچار کاهش شد. این پژوهشگران به نقش مؤثرتر آگونیست PPAR α در مقایسه با آگونیست PPAR γ در بروز این پاسخ‌ها اشاره کرده‌اند، ولی آن‌ها کاهش شاخص‌های مرتبط با کبد چرب را با کاهش میزان پروتئین FSP27^۲ و LSDP5^۳ در هر دو گروه تجربی مرتبط دانستند؛ به طوری که مصرف آگونیست‌های γ و PPAR α به ترتیب باعث کاهش ۵۱ و ۲۹ درصدی میزان این پروتئین‌ها شد. پژوهش‌هایی نیز وجود دارد که به اثر PPAR γ و اهداف این گیرنده هسته‌ای در بروز یا افزایش کبد چرب اشاره کرده‌اند (۴۷)، ولی بیشتر پژوهشگران افزایش بیان PPAR γ در کبد را از دلایل بهبود استئاتوز، التهاب و فیبروز در آن می‌دانند و حتی مسدود کردن بیان PPAR γ را موجب تشدید NAFLD دانسته‌اند (۴۸)؛ با این حال، از مهم‌ترین دلایل ناهم‌سوی بودن افزایش PPAR γ و محتوای TG کبدی را می‌توان این‌گونه توجیه کرد: نخستین دلیل این است که در این مطالعات از آگونیست PPAR γ و مصرف رژیم پرچرب غالباً به همراه هم استفاده شده است که هم‌زمان هر دو عامل به صورت جداگانه می‌توانند باعث افزایش PPAR γ و TG کبدی شوند (۴۹)؛ بنابراین، القای بیان FSP27 توسط PPAR γ ممکن است اساساً در پی رژیم غذایی پرچرب باشد تا

1. Zhu
2. Fat-Specific Protein 27
3. Lipid Storage Droplet Protein 5

استفاده از آگونیست‌های PPAR γ در حیوانات؛ دلیل دوم، به ارتباط مثبت بین محتوای TG کبدی و بیان FSP27 در موش‌هایی که با القای رژیم غذایی پرچرب چاق شده بودند، مربوط می‌شود و تنها دلیل اختلاف بین FSP27، درجه چاقی است (۵۰)؛ سومین دلیل احتمالی به استفاده از نمونه‌ها و نژادهای گوناگون موش مربوط می‌شود که می‌تواند به پاسخ‌های مختلف درمانی منجر شود (۴۶). با توجه به نتایج این پژوهش مبنی بر وجود ارتباط معکوس بین افزایش بیان PPAR γ با محتوای TG کبدی، به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های تأثیر پرواکسیزوم‌ها به تأثیر غیرمستقیم آن‌ها بر تنظیم پروتئین‌های مرتبط با LD برمی‌گردد که در مسیرهای بعدی باعث افزایش بتااکسیداسیون و کاهش TG کبدی خواهد شد (۵۱)؛ زیرا، مشخص شده است که افزایش FSP27 β (ایزوفرم اصلی در کبد) توسط افزایش فعالیت عامل رونویسی حلقوی CREBH-AMP در کبد رخ می‌دهد (۵۲) و پروموتور CREBH دارای جایگاه عملکردی PPPE است که در تعامل با PPARs قرار دارد (۵۳). تعامل فیزیکی CREBH با PPARs باعث تنظیم ژن‌های گوناگون درگیر در اکسیداسیون اسید چرب و تجمع چربی در کبد می‌شود (۵۴). از طرفی، پیش از این نقش درمانی افزایش بیان PPAR γ در کاهش تکثیر سلول‌های اقماری کبد موش‌هایی که دارای NASH (۵۵) و موش‌های دارای فیبروز، مشخص شده است (۵۶). علاوه بر مسیرهای ایجاد تغییر در متابولیسم چربی و بهبود کبد چرب که غالباً در اثر تغییر در بیان آنزیم‌ها و پروتئین‌های درگیر در سوخت‌وساز چربی رخ می‌دهند، برخی از اثرهای PPAR γ در بهبود کبد چرب می‌تواند در نتیجه عمل آن بر سایر بافت‌ها و مسیرها باشد.

یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که تغییر سبک زندگی با هدف افزایش هزینه انرژی قادر به کاهش ذخایر TG درون هپاتوسیت‌هاست؛ براین اساس، هشت هفته تمرین‌های HIIT، از طریق افزایش درخور توجه بیان ژن PPAR γ و تنظیم بسیاری از پروتئین‌ها و آنزیم‌های پایین‌دستی دخیل در لیپوژنز و بتااکسیداسیون، باعث کاهش چشمگیر TG کبدی در رت‌های مبتلا به کبد چرب و بهبود این بیماری شد. بسیاری از مکانیسم‌های درگیر در این مسیرها همچنان ناشناخته است، ولی مشخص شد که تأثیر این گونه تمرین‌ها به‌طور مستقل از کاهش وزن بدن رخ می‌دهد. با توجه به مدت زمان طولانی فرایند بروز NAFLD، بررسی‌نشدن نقش عوامل ثانویه در بروز این بیماری می‌تواند محدودیت پژوهش حاضر محسوب شود.

پیام مقاله: تمرین‌های تناوبی شدید به‌طور مستقل از کاهش وزن می‌تواند میزان تری‌گلیسیرید کبدی را کاهش دهد و در نتیجه، بیماری کبد چرب را بهبود بخشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی با گرایش بیوشیمی و متابولیسم ورزشی در دانشگاه شهرکرد است. بدین وسیله از همکاری پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان سپاس‌گزاری می‌شود.

منابع

1. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2015;10(10):0140908.
2. Okumura T. Role of lipid droplet proteins in liver steatosis. *J Physiol Biochem*. 2011;67(4):629-36.
3. Reue K. A thematic review series: lipid droplet storage and metabolism: from yeast to man. *J Lipid Res*. 2011;52(11):1865-8.
4. Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Progress in Lipid Research*. 2009;48(1):1-26.
5. Gimm T, Wiese M, Teschemacher B, Deggerich A, Schödel J, Knaup KX, et al. Hypoxia-inducible protein 2 is a novel lipid droplet protein and a specific target gene of hypoxia-inducible factor-1. *The FASEB Journal*. 2010;24(11):4443-58.
6. Uchimura K, Nakamuta M, Enjoji M, Irie T, Sugimoto R, Muta T, et al. Activation of retinoic X receptor and peroxisome proliferator-activated receptor- γ inhibits nitric oxide and tumor necrosis factor- α production in rat Kupffer cells. *Hepatology*. 2001;33(1):91-9.
7. Wu T, Gao X, Chen M, Van Dam R. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obesity Reviews*. 2009;10(3):313-23.
8. Lalloyer F, Staels B. Fibrates, glitazones, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2010;30(5):894-9.
9. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, et al. PPAR γ ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*. 2001;50(9):2094-9.
10. Wang X, Huang G, Mei S, Qian J, Ji J, Zhang J. Over-expression of C/EBP- α induces apoptosis in cultured rat hepatic stellate cells depending on p53 and peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2009;380(2):286-91.
11. Bouhrel MA, Derudas B, Rigamonti E, Dièvert R, Brozek J, Haulon S, et al. PPAR γ activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties. *Cell Metabolism*. 2007;6(2):137-43.
12. Kanda T, Brown JD, Orasanu G, Vogel S, Gonzalez FJ, Sartoretto J, et al. PPAR γ in the endothelium regulates metabolic responses to high-fat diet in mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 2008;119(1): 110-24.

13. Murase T, Haramizu S, Shimotoyodome A, Nagasawa A, Tokimitsu I. Green tea extract improves endurance capacity and increases muscle lipid oxidation in mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2005;288(3):708-15.
14. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
15. Linden MA, Sheldon RD, Meers GM, Ortinau LC, Morris EM, Booth FW, et al. Aerobic exercise training in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease related fibrosis. *The Journal of Physiology*. 2016;594(18):5271-84.
16. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Molecular Metabolism*. 2015;4(12):903-15.
17. Nevill M, Holmyard D, Hall G, Allsop P, Van Oosterhout A, Burrin J, et al. Growth hormone responses to treadmill sprinting in sprint-and endurance-trained athletes. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 1996;72(5-6):460-7.
18. Van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, Tsung A, Huang H. The Effects of physical exercise on fatty liver disease. *Gene Expression*. 2018;18(2):89-101.
19. Oh S, So R, Shida T, Matsuo T, Kim B, Akiyama K, et al. High-intensity aerobic exercise improves both hepatic fat content and stiffness in sedentary obese men with nonalcoholic fatty liver disease. *Scientific Reports*. 2017;7:43029.
20. Saris W, Schrauwen P. Substrate oxidation differences between high-and low-intensity exercise are compensated over 24 hours in obese men. *International Journal of Obesity*. 2004;28(6):759-65.
21. Van der Heijden GJ, Wang ZJ, Chu ZD, Sauer PJ, Haymond MW, Rodriguez LM, et al. A 12-week aerobic exercise program reduces hepatic fat accumulation and insulin resistance in obese, Hispanic adolescents. *Obesity*. 2010;18(2):384-90.
22. Laforgia J, Withers RT, Gore CJ. Effects of exercise intensity and duration on the excess post-exercise oxygen consumption. *Journal of Sports Sciences*. 2006;24(12):1247-64.
23. Karstoft K, Pedersen BK. Skeletal muscle as a gene regulatory endocrine organ. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2016;19(4):270-5.
24. Mobasher M, Sasani P, Al-e-Davood SJ, Aramesh K, Larijani B. Revision of the guideline for ethical use of animals. *Journal of Medical Ethics and History of Medicine*. 2012;5(1):70-111. (In Persian).
25. Cho J, Koh Y, Han J, Kim D, Kim T, Kang H. Adiponectin mediates the additive effects of combining daily exercise with caloric restriction for treatment of non-alcoholic fatty liver. *International Journal of Obesity*. 2016;40(11):1760.
26. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *The American Journal of Gastroenterology*. 2003;98(5):960-7.
27. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician*. 2005;71(6):1105-10.

28. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2007;21(3):751-6.
29. Rezaei R, Nurshahi M, Bigdeli M, Khodaghohi F, haghparast A. Effect of eight weeks continuous and HIIT exercises on VEGF-A and VEGFR-2 levels in stratum, hippocampus and cortex of wistar rat brain. *Physiology of Exercise and Physical Activity*. 2015;8(2):1213-21. (In Persian).
30. Rahimi M, Shekarforoush S, Asgari AR, Khoshbaten A, Rajabi H, Bazgir B, et al. The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. *EXCLI Journal*. 2015;14:237-46.
31. Smith-Ryan AE, Melvin MN, Wingfield HL. High-intensity interval training: Modulating interval duration in overweight/obese men. *The Physician and Sports Medicine*. 2015;43(2):107-13.
32. Mattijssen F, Georgiadi A, Andasarie T, Szalowska E, Zota A, Krones-Herzig A, et al. Hypoxia-inducible lipid droplet-associated (HILPDA) is a novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) target involved in hepatic triglyceride secretion. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(28):19279-93.
33. Shen Y, Xu X, Yue K, Xu G. Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23(5):1000-6.
34. Suk M, Shin Y. Effect of high-intensity exercise and high-fat diet on lipid metabolism in the liver of rats. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*. 2015;19(4):289.
35. Löfgren L, Forsberg G-B, Ståhlman M. The BUMe method: a new rapid and simple chloroform-free method for total lipid extraction of animal tissue. *Scientific Reports*. 2016;6(1).
36. Sohrabipour S, Sharifi MR, Talebi A, Sharifi M, Soltani N. GABA dramatically improves glucose tolerance in streptozotocin-induced diabetic rats fed with high-fat diet. *European Journal of Pharmacology*. 2018;826:75-84.
37. Nan Y-M, Fu N, Wu W-J, Liang B-L, Wang R-Q, Zhao S-X, et al. Rosiglitazone prevents nutritional fibrosis and steatohepatitis in mice. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2009;44(3):358-65.
38. Ahn HY, Kim HH, Hwang J-Y, Park C, Cho BY, Park YJ. Effects of pioglitazone on nonalcoholic fatty liver disease in the absence of constitutive androstane receptor expression. *PPAR Research*. 2018; Article ID 9568269, 10 pages.
39. Dutchak PA, Katafuchi T, Bookout AL, Choi JH, Ruth TY, Mangelsdorf DJ, et al. Fibroblast growth factor-21 regulates PPAR γ activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell*. 2012;148(3):556-67.
40. He W, Barak Y, Hevener A, Olson P, Liao D, Le J, et al. Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor γ knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(26):15712-7.
41. Maillard F, Pereira B, Boisseau N. Effect of high-intensity interval training on total, abdominal and visceral fat mass: A meta-analysis. *Sports Medicine*. 2018;48(2):269-88.
42. Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, Cassidy S, Anstee QM, Day CP, et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac

- function in non-alcoholic fatty liver disease: A randomised controlled trial. *Clinical Science*. 2015;129:1097-105.
43. Charbonneau A, Melancon A, Lavoie C, Lavoie J-M. Alterations in hepatic glucagon receptor density and in Gs α and Gi α 2 protein content with diet-induced hepatic steatosis: effects of acute exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2005;289(1):8-14.
 44. Verdijk LB, Gleeson BG, Jonkers RA, Meijer K, Savelberg HH, Dendale P, et al. Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2009;64(3):332-9.
 45. Zheng H, Li S, Ma L, Cheng L, Deng C, Chen Z, et al. A novel agonist of PPAR- γ based on barbituric acid alleviates the development of non-alcoholic fatty liver disease by regulating adipocytokine expression and preventing insulin resistance. *European Journal of Pharmacology*. 2011;659(2-3):244-51.
 46. Zhu Y-X, Zhang M-L, Zhong Y, Wang C, Jia W-P. Modulation effect of peroxisome proliferator-activated receptor agonists on lipid droplet proteins in liver. *Journal of Diabetes Research*. 2016; Article ID 8315454, 9 pages.
 47. Satoh H, Ide N, Kagawa Y, Maeda T. Hepatic steatosis with relation to increased expression of peroxisome proliferator-activated receptor- γ in insulin resistant mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2013;36(4):616-23.
 48. Nan Y-M, Han F, Kong L-B, Zhao S-X, Wang R-Q, Wu W-J, et al. Adenovirus-mediated peroxisome proliferator activated receptor gamma overexpression prevents nutritional fibrotic steatohepatitis in mice. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2011;46(3):358-69.
 49. Moreno M, Lombardi A, Silvestri E, Senese R, Cioffi F, Goglia F, et al. PPARs: nuclear receptors controlled by, and controlling, nutrient handling through nuclear and cytosolic signaling. *PPAR Research*. 2010; Article ID 435689, 10 pages.
 50. Aibara D, Matsusue K, Matsuo K, Takiguchi S, Gonzalez FJ, Yamano S. Expression of hepatic fat-specific protein 27 depends on the specific etiology of fatty liver. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2013;36(11):1766-72.
 51. Matsusue K. A physiological role for fat specific protein 27/cell death-inducing DFF45-like effector C in adipose and liver. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2010;33(3):346-50.
 52. Xu X, Park JG, So JS, Lee AH. Transcriptional activation of Fsp27 by the liver-enriched transcription factor CREBH promotes lipid droplet growth and hepatic steatosis. *Hepatology*. 2015;61(3):857-69.
 53. Gentile C, Wang D, Pfaffenbach K, Cox R, Wei Y, Pagliassotti MJ. Fatty acids regulate CREBH via transcriptional mechanisms that are dependent on proteasome activity and insulin. *Molecular and cellular biochemistry*. 2010;344(1-2):99-107.
 54. Kim H, Mendez R, Zheng Z, Chang L, Cai J, Zhang R, et al. Liver-enriched transcription factor CREBH interacts with peroxisome proliferator-activated receptor α to regulate metabolic hormone FGF21. *Endocrinology*. 2014;155(3):769-82.
 55. Yu J, Zhang S, Chu ES, Go MY, Lau RH, Zhao J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors gamma reverses hepatic nutritional fibrosis in mice and suppresses

- activation of hepatic stellate cells in vitro. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2010;42(6):948-57.
56. Wang Z, Xu J-P, Zheng Y-C, Chen W, Sun Y-W, Wu Z-Y, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits hepatic fibrosis in rats. Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International. 2011;10(1):64-71.

ارجاع دهی

باقری محمدحسین، اعظمیان جزی اکبر، بنی طالبی ابراهیم، نصر اصفهانی محمدحسین.
تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن PPAR γ و میزان TG کبدی در رت‌های مبتلا به
بیماری کبد چرب. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۳۹۹؛ ۱۲(۴۷): ۳۲-۱۱۳. شناسه دیجیتال:
10.22089/spj.2019.6447.1818

Bagheri M.H, Azamian Jazi A, Bani Talebi E, Nasr-Esfahani M.H. The
Effects of Eight Weeks of High Intensity Interval Training on
Expression of Ppar γ and Liver TG in Rats with Fatty Liver Disease.
Sport Physiology. Fall 2020; 12(47): 113-32. (In Persian).
DOI: 10.22089/spj.2019.6447.1818

The Effects of Eight Weeks of High Intensity Interval Training on Expression of PPAR γ and Liver TG in Rats with Fatty Liver Disease

M. H. Bagheri¹, A. Azamian Jazi², E. Bani Talebi³, M. H. Nasr-Esfahani⁴

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
2. Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran (Corresponding Author)
3. Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
4. Professor of Embryology, Royan Institute for Biotechnology, Isfahan, Iran

Received: 2018/10/09

Accepted: 2019/01/29

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of eight weeks of high intensity interval training (HIIT) on gene expression of PPAR γ and liver TG in rats with nonalcoholic fatty liver disease. In this experimental study, thirty male Wistar rats were randomly divided into two groups. The first group (20 rats), consumed 16 weeks a high-fat diet with the aim of create a fatty liver, and the second group (control), (10 rats), consumed standard diet during this period of time. After confirmation of fatty liver by measuring the serum level of ALT enzyme in the first group, they were randomly divided into two groups of NAFLD and NAFLD+HIIT (each group of 10 rats), the NAFLD+HIIT group performed progressive exercise training for eight weeks, according to percentage of maximum speed (75-90 percent) and the NAFLD and control groups only took their diet and did not participate in any exercise. After eight weeks of exercise training, expression of PPAR γ and TG level were measured. Data analysis showed a significant increase in PPAR γ expression in the NAFLD+HIIT group compared to the NAFLD group (P=0.001). Liver triglyceride in NAFLD+HIIT group had a significant decrease (P=0.001). On the other hand, the mean weight of rats in the NAFLD + HIIT group did not change significantly (P= 0.054), but the mean weight of control and NAFLD groups increased significantly during this period (P=0.001). It seems that high intensity interval training by increasing in expression of PPAR γ and its effect on the regulation of the expression of effective genes in fat metabolism, independent of weight loss, can reduce liver TG and improves fatty liver disease.

Keywords: Fatty Liver Disease, High Intensity Interval Training, Peroxisome Proliferator- Activated Receptor Gamma, Liver TG.

-
1. Email: bagherim632@gmail.com
 2. Email: azamianakbar@yahoo.com
 3. Email: banitalebi.e@gmail.com
 4. Email: mh_nasr@med.mui.ac.ir