تأثیر تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین استقامتی کم شدت (LIET) بر بیان ژن PPARγ و میزان TG بافت چربی احشایی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

احمد حیدری شهرضا[1*]، اکبر اعظمیان جزی[2]، ابراهیم بنی طالبی[3]، عباسعلی پالیزبان[4]

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۷/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۱۰/۰۶

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسی زوم گاما (PPARγ) به‌طور گسترده‌ای در بافت چربی بیان می‌شود، که باعث بهبود کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) و تنظیم سیگنالینگ انسولین می‌شود. هدف از این تحقیق تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین استقامتی کم شدت (LIET) بر بیان ژن PPARγ و محتوای تری گلیسیرید (TG) بافت چربی احشایی رت‌های مبتلا به کبد چرب است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش بر روی ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار مبتلا شده به NAFLD انجام شد. موش‌ها به گروه‌های ده‌تایی کنترل سالم(رژیم غذایی استاندارد)، کنترل وHIIT و LIET تقسیم شدند. پس از گذشت ۱۶ هفته مصرف رژیم غذایی مطابق، میزان سرمی آنزیم ALT از گروه‌ها گرفته شد و به‌عنوان یکی از نشانگان اصلی بروز کبد چرب، مشخص کرد که مصرف غذای پرچرب به‌خوبی توانسته است بیماری NAFLD را در گروه تجربی القاء کند و گروه‌های تجربی همچنان غذای پرچرب را تا پایان دوره تمرین مصرف کردند. پروتکل تمرینHIIT شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۸۰درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵درصد در هفته سوم و ۹۰ درصد در هفته چهارم تا پایان تمرین بود. پروتکل تمرینی LIET شامل دویدن با شدت ۴۵درصد حداکثر سرعت بیشینه بود. تمرین گروه LIET نیز بر اساس مسافت طی شده گروه HIIT همسان‌سازی شده بود. در پایان ۸ هفته تمرین، سنجش بیان ژن PPARγ با استفاده از تکنیک Real-time PCR و سنجش TG بر روی دستگاه اتو آنالیزور (مدل BT3000) انجام شد. از آزمون تحلیل واریانس جهت مقایسه بین گروه‌ها با سطح معنی‌داری (P<0.05) استفاده شد.

یافته‌ها: تحلیل داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح میزان بیان ژن PPARγ چربی احشایی بین گروه‌های مختلف وجود نداشت (P=/۰۶۰). اما تفاوت معنی‌داری در میزان محتوایTG بین گروه کنترل و تمرین استقامتی کم شدت (P=0/001) و بین گروه کنترل و تمرین تناوبی شدید (P=0/001) مشاهده شد. همچنین تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG بین تمرین استقامتی کم شدت و تمرین تناوبی شدید (P=0/003) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تمرینات ورزشی همراه با ادامه رژیم غذایی پرچرب موجب عدم تأثیر بر بیان ژن PPARγ بافت چربی احشایی گردید، ولی به نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی مستقل از مسیر PPARγ بر محتوای چربی احشایی در رت‌های مبتلابه کبد چرب تأثیرگذار باشد. از طرفی، کاهش میزان TG بافت احشایی در گروه‌های تمرینی به‌طور مستقل از کاهش وزن رخ می‌دهد.

واژگان کلیدی: کبد چرب، بافت چربی احشایی، تمرین تناوبی شدید، تمرین استقامتی کم شدت، پروتئین گیرنده فعال تکثیر پرواکسیزوم گاما

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی‌ام، شماره دوازدهم، ص ۹۸۰-۹۶۹ ، اسفند ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: ایران، دانشگاه شهرکرد، دانشکده ادبیات و علوم انسانی گروه علوم ورزشی ، شماره تلفن: ۰۹۱۳۳۲۱۰۶۲۴

Email: Ahmad_doctor2008@yahoo.com

مقدمه

ارتباط تنگاتنگ بین چربی احشایی با مؤلفه‌های سندرم متابولیک و برخی بیمارها همچون کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی عروقی وجود دارد (۱). بیماری NAFLD شایع‌ترین و درعین‌حال شکل خاموش بیماری‌های مزمن مرتبط با کبد است، که به دلیل تجمع‌تری گلیسیرید (TG) در بافت

[1] دکتری فیزیولوژی ورزشی عضو هیات علمی دانشگاه پیام نور (نویسنده مسئول)

[2] دانشیار گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، ایران

[3] دانشیار گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، ایران

[4] دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

آدیپوز افراد بدون سابقه مصرف الکل و مصرف غذاهای پر کالریک دیده می‌شود (۲). میزان شیوع این بیماری در بزرگسالان ایرانی بر طبق بررسی انجام‌گرفته توسط امانت و همکاران در سال ۱۳۹۷، ۱۸/۹ درصد گزارش شده است (۳). افزایش چربی احشایی، طیف وسیعی از جراحت‌های کبدی شامل تجمع ساده چربی در کبد (استئاتوز)، استئاتوهپاتیت غیرالکلی، التهاب کبدی که می‌تواند تا فیبروز، سیروز و سرطان کبد پیشرفت کند را در بر می‌گیرد (۴). NAFLD با چاقی به‌ویژه چاقی احشایی و مقاومت انسولینی ارتباط تنگاتنگی دارد و به‌عنوان تظاهر کبدی سندروم متابولیک شناخته شده است (۵، ۶).

شواهد نشان می‌دهد تنظیم لیپوژنز تحت کنترل شبکه‌ای از گیرنده‌های هسته‌ای (PPARs[1]، SREBPs[2] و ChREBP[3]) است که با تنظیم بیان آنزیم‌های مؤثر در متابولیسم چربی فعال هستند. گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسی زوم (PPARs) یکی از اعضای بالادستی گیرنده‌های هسته‌ای است و دارای سه ایزوتایپ PPAR α، PPAR γ و PPAR β/δ هستند (۷). PPARs از طریق رونویسی ژن‌های تحت کنترل خود، باعث کنترل دسته‌ای از آنزیم ها و پروتئین‌های مؤثر در تنظیم متابولیسم چربی می‌شوند. گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی زوم گاما (PPARγ) به میزان زیادی در بافت آدیپوسیت بیان می‌شود. این گیرنده در بسیاری از بیماری‌های انسان ازجمله کبد چرب، دیابت، سرطان و هموستاز لیپیدها و چاقی نقش دارد. از طرفی نقش بسیار مهمی در ایجاد حساسیت انسولینی و همچنین برداشت اسید چرب به درون آدیپوز در این بافت ایفا می‌کند. به نظر می‌رسد اثر خالص چنین فرایندی کاهش رهایش اسید چرب به سمت کبد باشد (۸، ۹). از طرفی نقش PPARγ در پیشرفت استئاتوز به‌عنوان واسطه‌ای برای فعال‌سازی ژن‌های لیپولیتیکی و نوسازی لیپوژنز موضوع بسیاری از پژوهش‌ها را به خود اختصاص داده است (۱۰). اثر PPARγ در بهبود مشخصه‌های NAFLD می‌تواند در پی تأثیر بر مسیرهای مختلف بافت‌های گوناگون موردبررسی قرار گیرد. نخست آنکه افزایش فعالیت PPARγ با بهبود حساسیت انسولینی در بافت‌های محیطی چون آدیپوز و عضلات اسکلتی مرتبط است و از این طریق جریان اسید چرب به کبد را کاهش می‌دهد و باعث افزایش بیان یکی از اعضاء واکنشی رشد فیبروبلاست (FGF21) شده است (۹، ۱۱). از طرفی فعالیت PPARγ موجب افزایش سطوح آدیپونکتین می‌شود که ارتباط آن با افزایش حساسیت انسولینی به‌خوبی مشخص شده است (۱۲). فعال‌سازی PPARγ در بافت چربی احشایی اثرات بالقوه سودمندی بر بیان و ترشح طیف وسیعی از آدیپوکین‌ها، ازجمله آدیپونکتین، رزیستن، لپتین، IL-6، TNF، PAI-1، MCP-1 و آنژیوتانسینوژن را به همراه دارد. فعال شدن PPARγ در ماکروفاژها موجب مهار شدن بیان تعداد ژن‌های التهابی می‌شود (۱۳).

فعالیت ورزشی از طریق کاهش توده چربی احشایی، افزایش لیپولیز و متعاقب آن کاهش رهایش سایتوکاینهای پیش‌التهابی و ایجاد محیط ضدالتهابی در کنترل بیماری‌های مرتبط با التهاب، نظیر NAFLD نقش اساسی دارد (۱۴). غالب پروتکل‌های تمرین به کار گرفته‌شده در تحقیقات صورت گرفته، تمرین در حالت پایدار معطوف شده است (۱۵، ۱۶). به‌طور سنتی، غالب پروتکل‌های تمرینی که برای افزایش لیپولیز طراحی شده‌اند شامل پیاده‌روی و جاگینگ بوده است که به تمرین در حالت پایدار[4] یا تمرین استقامتی[5](ET) شهرت دارد. اینگونه تمرینات با افزایش بتااکسیداسیون، کاهش وزن چربی و افزایش حساسیت انسولینی باعث ایجاد آبشاری از رویدادهای تنظیمی مؤثر در کاهش ذخایر چربی کبدی می‌شوند، که به نظر می‌رسد این تغییرات نتیجه غیر مستقیم تغییر در بیان پرواکسی زوم‌ها و سایر گیرنده‌های هسته‌ای است. با این‌حال، استفاده طولانی مدت این تمرینات به لحاظ ماهیت تکراری آن می‌تواند باعث کاهش انگیزه و رغبت در انجام آن شود (۱۶، ۱۷). امروزه شیوه جدیدی از تمرین، تحت عنوان تمرین اینتروال شدید[6](HIIT) مورد توجه قرار گرفته است که امکان انجام آن توسط افراد غیر فعال و دارای اضافه وزن نیز وجود دارد که می‌تواند در بهبود ترکیب بدنی و کاهش وزن مؤثر باشد (۱۸). شواهد زیادی نشان می‌دهد که تمرینات تناوبی شدید (HIIT)، هم به لحاظ صرفه‌جویی درزمان و هم اثر بخشی بیشتر می‌تواند در اولویت برنامه‌های کاهش وزن و چربی سوزی قرار بگیرد (۱۹). پروتکل‌های HIIT دارای تنوع زیادی است، ولی به‌طور معمول شامل یک وهله تکراری و کوتاه‌مدت تمرین شدید است که بلافاصله پس‌ازآن یک دوره استراحت یا تمرین با شدت کم انجام می‌شود. طول و مدت هر وهله کار شدید یا زمان بازسازی دارای تنوع زیادی است و می‌تواند از ۶ ثانیه تا ۴ دقیقه در نظر گرفته شود (۲۰، ۲۱). میزان انتقال FFA از بافت چربی در حین و پس از تمرینات HIIT افزایش می‌یابد و این فرایند باعث افزایش در دسترس قرار گرفتن FFA در مسیر اکسیداسیون می‌شود (۲۲). همچنین، تمرینات HIIT می‌تواند به کاهش بافت چربی با رویکرد افزایش اکسیداسیون و رهایش بیشتر

[1] Peroxisome Proliferator- Activated Receptor

[2] Sterol regulatory element-binding transcription factors

[3] Carbohydrate-responsive element-binding protein

4 Steady state

5 Endurance Training

6 High Intensity Interval Training

عامل آزادسازی کورتیکوتروپین[7] (CRF) (۲۲) و مصرف اکسیژن بیشتر پس از فعالیت[8] (EPOC) منجر شود (۲۳). هم چنین افزایش سطوح هورمون رشد پس از وهله‌های HIIT نیز ممکن است در افزایش هزینه انرژی و اکسیداسیون بیشتر چربی نقش داشته باشد (۲۴). با توجه به شیوع گسترده بیماری کبد چرب و ارتباط متقابل آن با بافت چربی احشایی و بیماری سندروم متابولیک و همچنین ارتباط میزان بیان گیرنده‌های هسته‌ای در تنظیم بیان آنزیم‌های مؤثر در متابولیسم چربی و بروز درجات مختلف کبد چرب، توجه به نقش تغییر سبک زندگی و به‌ویژه روش‌های نوین فعالیت‌های بدنی در این تغییرات و نیز شناسایی جنبه‌های مختلف سازوکار بروز و درمان این بیماری و همچنین انتخاب موثرترین نوع مداخله ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین با توجه به تنوع تمرینات ورزشی و احتمالاً آثار متفاوت آنها معلوم نیست که آیا سبک‌های گوناگون تمرینی می‌تواند تاثیرات مفیدتری در تغییر میزان بیان پرواکسی زوم‌ها و بهبود کبد چرب داشته باشد یا خیر؟ بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین اینتروال شدید و تمرین استقامتی کم شدت بر بیان ژن PPARγ و محتوای TG بافت چربی احشایی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تجربی، تعداد ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن پنج هفته و وزن ۲۴/۶±۱۵۵/۴ گرم از موسسه رویان اصفهان خریداری شدند. حیوانات در شرایط یکسان دوازده ساعت تاریکی و دوازده ساعت روشنایی، رطوبت ۵۰درصد، دما ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد (تعداد پنج رت در هر قفس) و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند (۴۵). پس از گذشت یک هفته آشنایی رت‌ها با محیط آزمایشگاه، تمامی ۴۰ سر رت به‌طور تصادفی به گروه‌هایشم (n=۱۰) با رژیم غذایی شامل: ۲۳ درصد پروتئین خام، ۳/۵-۴/۵ درصدچربی خام، ۴-۴/۵ درصد فیبر خام، خاکستر حداکثر ۱۰ درصد، کلسیم ۱-۰/۹۵ درصد، فسفر۰/۶۵-۰/۷۰ درصد، نمک ۰/۵-۰/۵۵ درصد، رطوبت حداکثر ۱۰ درصد، لیزین ۱/۱۵ درصد، متیونین ۰/۳۳ درصد، متیونین+سیستئین ۰/۶۳ درصد، ترئونین ۰/۷۲ درصد، تریپتوفان ۰/۲۵ درصد، انرژی ۱۶/۱۶-۱۷ درصد) و گروه تجربی (گروه کنترل و گروه تمرینی) با رژیم غذایی پرچرب شامل: حدود ۶۰ درصد چربی (۹۰درصد چربی فرآوری شده حیوانی و ۱۰درصد روغن دانه سویا که به غذای استاندارد اضافه شد)، ۲۰درصد کربوهیدرات و ۲۰درصد پروتئین) تقسیم شدند (۲۵). پس از گذشت ۱۶ هفته مصرف رژیم غذایی (۴۶) مطابق انتظار، در انتهای دوره ۴ ماهه مصرف غذای پرچرب، میزان سرمی آنزیم ALT از نمونه خونی از انتهای دم رت‌ها گرفته شد و به‌عنوان یکی از نشانگان اصلی بروز کبد چرب، مشخص کرد که مصرف غذای پرچرب به‌خوبی توانسته است بیماری NAFLD را در گروه تجربی القاء کند (جدول شماره ۱). سپس گروه‌های گروه تجربی بصورت تصادفی به سه گروه کنترل، HIIT و LIET تقسیم شدند (n=۳۰) و همچنان غذای پرچرب مصرف کردند. گروه کنترل سالم در کل این پژوهش غذای استاندارد مصرف کردند و همانند گروه کنترل در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکرند. گروه‌های تجربی (HIIT و LIET) به مدت هشت هفته (پنج روز هفته) در پروتکل تمرینی خود شرکت کردند. قبل از شروع پروتکل تمرین، حیوانات به مدت یک هفته و روزانه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای آشنایی بر روی تردمیل تمرین کردند (۲۶). جهت تعیین حداکثر سرعت رت‌ها از آزمونی ۱۰ مرحله‌ای استفاده شد که سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر بر ساعت (پنج متر در دقیقه) بود و در مراحل بعدی، در هرسه دقیقه ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به‌سرعت نوار گردان اضافه می‌شد و سرعتی که در آخرین مرحله، حیوان علی‌رغم وجود شوک الکتریکی قادر به دویدن نبود به‌عنوان حداکثر سرعت دویدن ثبت گردید (۲۶). سپس به جهت نزدیک شدن به‌سرعت بیشینه، میانگین حداکثر سرعت رت‌های گروه‌های مختلف به جهت نزدیکی با یکدیگر ملاک قرار گرفت. هر دو پروتکل تمرین شامل سه قسمت گرم کردن و سرد کردن (پنج دقیقه و با ۳۰ درصد سرعت بیشینه) و تمرین اصلی بود.

جدول (۱): مقایسه سطح سرمی آنزیم ALT (U/liter) در دو گروه غذایی مختلف

گروه	حداقل	حداکثر	S D Mean±	درجه ازادی	t	معنی داری
غذای استاندارد	۵۱/۰۰	۶۷/۰۰	۶۰/۷ ± ۵/۵	۹	۳۴/۵۳	*۰/۰۰۱
غذای پرچرب	۸۷/۰۰	۱۲۱/۰۰	۱۰۵/۱ ±۹/۶	۲۹	۵۶/۳۷	*۰/۰۰۱

7- Corticotrophin-releasing factor

8- Excess post exercise oxygen consumption

*نشانه معنی‌داری نسبت به قبل از تمرین (P<۰/۰۵)

پروتکل‌های تمرین:

پروتکل تمرینHIIT مجموعه‌ای منظم از تمرین شدید و کم شدت بود که به ترتیب شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۸۰درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵درصد در هفته سوم و ۹۰ درصد در هفته چهارم تا پایان تمرین بود. وهله‌های استراحت فعال شامل دو دقیقه با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اول تا پایان هفته سوم و ۲۰ درصد از ابتدای هفته چهارم تا انتهای دوره تمرینات بود. در انتهای هر جلسه و پس از آخرین فعالیت شدید، رت‌ها به‌جای تمرین در شدت پایین، به مدت پنج دقیقه با شدت ۳۰درصد سرعت بیشینه به سرد کردن می‌پرداختند. تعداد تکرارها به‌گونه‌ای تنظیم شد که در هفته اول،دو وهله تکرار؛ هفته دوم، چهار وهله؛ هفته سوم، شش وهله و از هفته چهارم تا پایان، هشت وهله فعالیت با شدت بالا تکرار شد(۲۶). (جدول شماره ۴).

پروتکل تمرینی LIET نیز مطابق با کل زمان طی شده در گروه HIIT در هر هفته بود که این مسافت را با شدت ۴۵درصد حداکثر سرعت بیشینه می‌دویدند. بنابراین، گروهLIET در هر جلسه با سرعت ثابت ۱۸ متر در دقیقه می‌دویدند که در هفته اول ۱۸ دقیقه، هفته دوم ۳۰، هفته سوم ۳۶ و از هفته چهارم به بعد ۴۵ دقیقه این مسافت را طی می‌کردند (جدول۴).

نمونه‌گیری بافت: ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین و حدود ۱۶ ساعت ناشتایی (۲۷)، کلیه حیوانات با تزریق سدیم پنتوباربیتال (۴۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم) بی‌هوش شدند و پس از استخراج بافت چربی احشایی و کبدی و شستشوی آن با سالین قسمتی از آن جدا و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان انجام مراحل آزمایشگاهی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۶). با توجه به برنامه زمان‌بندی تعیین‌شده، برشی در ناحیه شکم انجام شد. پس از استخراج بافت آدیپوز احشایی و جداسازی آن، بافت مربوطه به میکرو تیوپ منتقل و نشانه‌گذاری شد. به‌منظور استخراج RNA، از کیت استخراج ایرایزول RNA، ساخت شرکت زیست فن‌آوران رنا (کد دسترسی RB1001) و طبق دستورالعمل زیر استفاده شد. ابتدا میزان ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم از بافت را در هاون استریل منتقل کرده و به همراه ۱ میلی‌لیتر بافر سائیده تا به شکل محلول همگن تبدیل شود. پس از اتمام این مرحله دو فاز کاملاً قابل‌تفکیک و مشخص قابل مشاهده بود. فاز شفاف رویی که حاوی RNA است را جدا و به داخل تیوپ دیگر منتقل، ۱۰۰۰ میکرو لیتر اتانول ۱۰۰ درصد سرد به آن اضافه و سپس به مدت هشت دقیقه در داخل فریزر ۲۰- قرار داده شد.

در پایان کار، تیوپ از فریزر خارج و مشابه مرحله قبل سانتریفیوژ گردید و مایع اضافی داخل تیوپ پس از سانتریفیوژ دور ریخته شد. در این مرحله به‌صورت اتفاقی ولی نه بصورت همیشگی لکه‌های بی‌رنگ و یا مایل به رنگ سفید در بدنه و کف tube مشاهده شد. سانتریفیوژ با اضافه کردن اتانول ۸۰درصد جهت شستشو تکرار شد و پس از خارج کردن اتانول و خشک‌کردن محتوای داخل تیوپ (در این مرحله روش air-dry مورداستفاده قرار گرفت) ۵۰-۲۰ میکرو لیتر آب دوباره تقطیر که متناسب با میزان رسوب به آن اضافه و با پیپت RNA داخل تیوپ حل شد. سپس ۵ ماکرو لیتر از آن به‌منظور تائید کیفیت بر روی ژل آگارز ۱ درصد ران شد تا پس از تائید از آن در سنتز cDNA استفاده گردد. ملاک تخلیص مطلوب RNA اندازه گیری OD با نانو دراپ در طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ که این میزان بین ۱،۸ تا ۱،۹ متغیر بوده است. تقریباً ۰/۵ گرم (۵۰۰mg) از بافت چربی احشایی جدا شد، سپس معادل ۱ میلی‌لیتر ایزوپروپانول به هر میکرو تیوپ اضافه شد و با استفاده از سواپ پلاستیکی، بافت چربی احشایی داخل میکروتیوب را فشرده و تا قطعه‌قطعه کردن و متلاشی شدن کامل بافت جهت تسهیل هموژیناسیون این کار ادامه پیدا کرد. در ادامه، میکرو تیوپ‌ها برای جداسازی بافت‌ها به مدت یک دقیقه به‌وسیله دستگاه هموژانیز و باقدرت ۵۰۰۰ Hz هموژنیزه شد (HETYCH، مدل UP1000H). پس‌ازآن میکرو تیوپ‌ها به مدت پنج دقیقه و با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد تا لایه روئی آن قابل‌تفکیک شود. درنهایت این لایه برای سنجش TG، ازکیت TG دستگاهی پارس آزمون (ساخت ایران) بر روی دستگاه اتو آنالیزور(مدل BT3000) مورداستفاده قرار گرفت (۲۸). سنتز cDNA با استفاده از سنتز پرایمر با پرایمر الیگو T و کیت سنتز cDNA (RB) زیست فناوران رنا و مطابق دستورات این شرکت انجام گرفت (۲۹).

بررسی بیان ژن: تعیین بیان mRNA از طریق روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (Real-time RT-PCR) انجام شد و برای کسب شرایط دمای بهینه برای تکثیر، ژن TBP (Telomere Binding Protein) به‌عنوان کنترل سنتز cDNA در واکنش زنجیره‌ای پلی مراز، طبق شرایط دمای پیشنهادی شرکت سازنده پرایمر زیست فناوران رنا استفاده گردید(جدول شماره۳). روش کمی سازی دادها از طریق روش فافایل ddct محاسبه گردیده شد. توالی پرایمرها برای ژن PPARγ وTBP در جدول شماره ۳ اراده شده است.

جدول (۲): واکنش دمایی و زمانیRTPCR

مرحله	اعداد چرخه	نام مرحله	دما (درجه سانتی گراد)	زمان
۱	۱	واسرشت سازی اولیه	۹۵	۵دقیقه
۲	۴۰	واسرشت سازی	۹۴	۳۰ثانیه
		اتصال	۵۴	۳۰ ثانیه
		گسترش	۷۲	۳۰دقیقه
۲	۱	گسترش نهایی	۷۲	۷ دقیقه

استخراجTG: تقریباً ۰/۵ گرم (۵۰۰mg) از بافت چربی احشایی و بافت کبدی جدا شد، سپس معادل ۱ میلی لیتر ایزوپروپانول به هر میکروتیوپ اضافه شد و با استفاده از سواپ پلاستیکی، بافت چربی احشایی و کبد داخل میکروتیوپ را فشرده و تا قطعه قطعه کردن و متلاشی شدن کامل بافت جهت تسهیل هموژیناسیون این کار ادامه پیدا کرد. در ادامه، میکروتیوپ ها برای جداسازی بافت‌ها به مدت ۱ دقیقه به وسیله دستگاه هموژانیز و با قدرت ۵۰۰۰ Hz هموژنیزه شد (HETYCH، مدل UP1000H). پس از آن میکروتیوپ‌ها به مدت ۵ دقیقه و با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد تا لایه روئی آن قابل تفکیک شود. در نهایت این لایه برای سنجش TG بر روی دستگاه اتو آنالیزور مورد استفاده قرار گرفت(مدل BT3000)(۳۹).

جدول (۳): توالی پرایمرها برای ژن PPARγ و TBP

Name	Sequence
PPARγ	F: ACGATCTGCCTGAGGTCTGT R: CATCGAGGACATCCAAGACA
TBP	F: CAGCCTTCCACCTTATGCTC R: TTGCTGCTGCTGTCTTTGTT

روش آماری: برای تعیین چگونگی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو- ویلک و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. با توجه به طبیعی نبودن توزیع داده‌ها از آزمون‌های ناپارامتریک کروسکال والیس و یومن ویتنی برای آزمون فرضیه‌های تحقیق استفاده گردید. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی‌داری (P<۰/05) تحلیل شد.

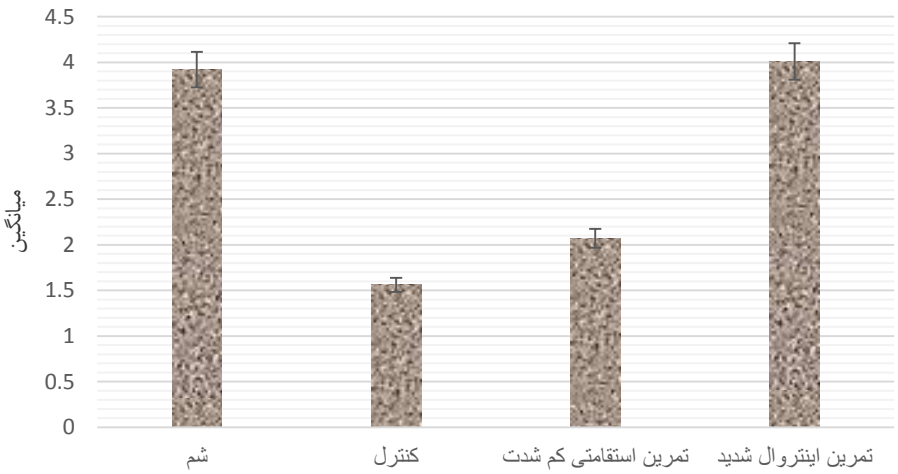
جدول (۴): پروتکل تمرینی گروه HIIT

هفته	گروه	شدت هنگام تمرین (حداکثر سرعت)	شدت هنگام استراحت (حداکثر سرعت)	سرعت (متر/دقیقه)	تعداد وهله‌های تمرین شدید	کل حجم تمرین (دقیقه)	کل مسافت طی شده در هر جلسه (متر)
۱	HIIT	٪ ۷۵	٪۳۰	۳۰	۲	-	۲۴۶
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۱۷	۲۴۶
۲	HIIT	٪ ۸۰	٪۳۰	۳۲	۴	-	۴۴۵
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۲۸	۴۴۵
۳	HIIT	٪ ۸۵	٪۳۰	۳۴	۶	-	۵۸۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۳۶	۵۸۸
۴	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۵	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۶	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۷	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸

۸	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸

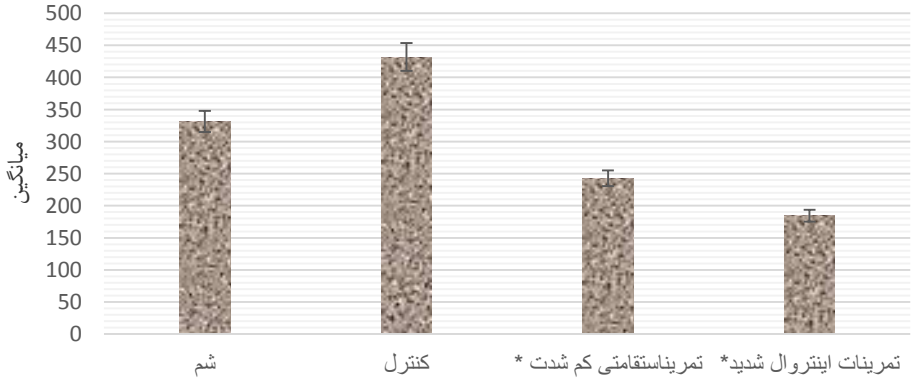
یافته‌ها

تحلیل نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن PPARγ بین گروه‌های مختلف وجود ندارد. بنابراین هشت هفته تمرین HIIT بر میزان بیان ژن PPARγ در بافت چربی احشایی رت‌های نر مبتلا به NAFLD اگر چه تغیراتی اندکی بدست آمد، ولی از لحاظ اماری این تغییرات معنی‌داری نبود (نمودار۱).



نمودار (۱): تغییرات میانگین بیان ژن PPAR-γ در گروه‌های مختلف

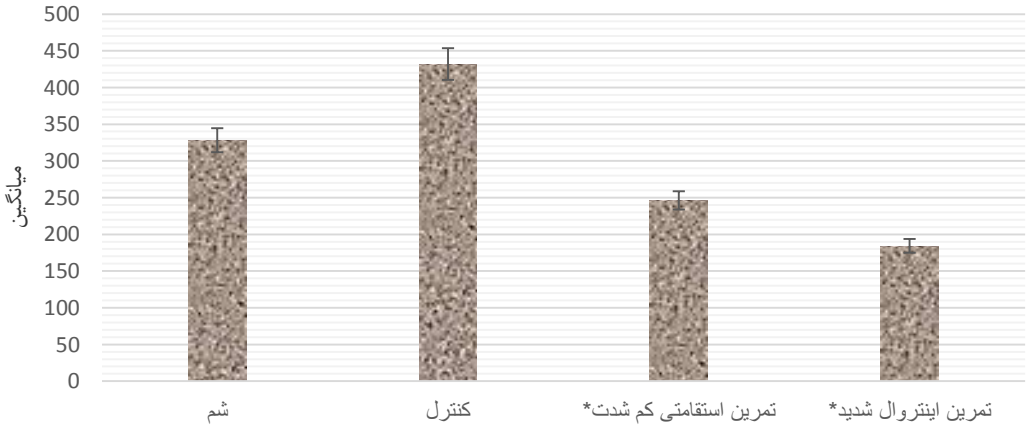
همچنین تحلیل داده‌ها در نمودار ۲، تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG بافت چربی احشایی در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم نشان داده شد (P=0/001). بر اساس نتایج نمودار ۲، تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG چربی احشایی بین گروه کنترل و تمرین استقامتی کم شدت (P=0/001) و بین گروه کنترل و تمرین تناوبی شدید (P=0/001) مشاهده شد. علاوه براین، تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG بین تمرین استقامتی کم شدت و تمرین تناوبی شدید (p=0/003) مشاهده شد.



نمودار (۲): تغییرات میانگین مقادیر TG بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف

با توجه به بررسی نتایج به دست‌آمده از جدول (۵)، نشان داده شد که میانگین وزن رت‌های گروه تمرینHIIT کاهش معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۰۰۱)، همچنین میانگین وزن گروهشم و کنترل در طی این دوره افزایش معنی‌داری پیدا کرد (P= ۰/۰۰۱).

تحلیل داده‌ها در نمودار ۳، تفاوت معنی‌داری در میزان محتوایTG بافت کبدی در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم نشان داده شد (P=۰/۰۰۱). علاوه براین، تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG بافت کبدی بین تمرین استقامتی کم شدت و تمرین تناوبی شدید (p=0/001) مشاهده شد.



نمودار (۳): تغییرات میانگین مقادیر TG بافت کبدی را در گروه‌های مختلف

همچنین، بررسی‌های انجام‌شده نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان وزن گروه‌های مختلف وجود دارد (P=0/001). با توجه به بررسی نتایج به دست‌آمده از جدول (۵)، نشان داده شد که در بین دو گروه تجربی تمرینی، تنها میانگین وزن رت‌های گروه تمرین استقامتی کم شدت کاهش معنی‌داری یافته است (P=0/001)، درحالی‌که این میانگین در گروه تمرین تناوبی شدید تغییر معنی داری نداشته است (p=0/005). همچنین میانگین وزن گروه کنترل و شم در طی این دوره افزایش معنی‌داری پیدا کرد (P= 0/001).

جدول (۵): مقایسه وزن رت‌ها قبل و بعد از پروتکل‌های تمرینی

شاخص‌های آماری / متغیرها	±Mean SD		درجه آزادی	t	معنی داری
	شروع پروتکل	پایان پروتکل			
شم	۳۹۱/۸±۹۰/۷۳	۴۱۸/۸±۰۰/۷۶	۹	-۱۰/۶۰	×۰/۰۰۰۱
کنترل	۴۲۰/۱۴±۰۰/۸۸	۴۵۵/۱۵±۱۱/۹۷	۸	-۱۲/۵۸	×۰/۰۰۰۱
تمرین استقامتی کم شدت	۳۸۳/۳۰±۸۹/۷۹	۳۷۶/۲۹±۶۷/۳۶	۸	۴/۹۱	×۰/۰۰۱
تمرین اینتروال شدید	۴۰۱/۱۲±۰۰/۷۶	۴۰۴/۱۱±۷۸/۰۷	۸	-۲/۲۵	۰/۰۵۴

×نشانه معناداری نسبت به قبل از تمرین (P<۰/۰۵)

این پژوهش در کمیته اخلاق تحقیقاتی علوم ورزشی و بر اساس انطباق با استانداردهای اخلاقی در تحقیقات وزارت علوم با کد ir.ssri.rec.1397.331 مورد تأیید قرار گرفت.

بحث ونتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که پس از هشت هفته در تمامی گروه‌های پژوهشی شم، کنترل و گروه‌های تمرینی LIET و HIIT تغییرات معنی‌داری در سطح بیان ژن PPARγ بافت چربی احشایی رت‌های مبتلا به NAFLD مشاهده نشد. درحالیکه هشت هفته تمرینات LIET و HIIT تغییرات معنی داری در میزان TG بافت چربی احشایی از لحاظ آماری در هر دو گروه تمرینی مشاهده شد و همچنین تغییرات کاهش وزن معنی داری فقط در گروه تمرینی LIET مشاهده شد. نتایج این پژوهش پیرامون تغییرات وزن رت‌ها و میزان بیان ژن PPARγ در چربی احشایی به نحوی بود که علی رغم کاهش بیشتر TG چربی احشایی در هر دو گروه تمرینی، تنها کاهش معنی دار وزن در گروه LIET مشاهده شد، که با پژوهش‌هایی که در آن از تمرینات هوازی استفاده شده بود کاملاً همسو بوده است. در حالیکه تغییرات وزن در گروه تمرینی HIIT از لحاظ اماری معنادار نبود. تحقیقات همسو در این رابطه می‌توان به پژوهش حیوانی که توسط موتا و همکارانش درسال ۲۰۱۶ اشاره

کرد، که ۱۲ هفته تمرینات HIIT همراه با رژیم غذایی پرچرب بر روی بیماران NAFLD انجام گردید. نتایج نشان داد که ۱۲ هفته تمرین درمانی باعث کاهش ۱۶درصدی TG هپاتوسیت ها مستقل از کاهش وزن بیماران گردید و نتایج بیانگر ارتباط نزدیک بین چربی احشایی و TG هپاتوسیت ها بود و کاهش TG و چربی احشایی مستقل از کاهش وزن بود (۳۰). همچنین چو و همکاران با بررسی تأثیرات رژیم غذایی و فعالیت بدنی همچنین ترکیب هم زمان رژیم غذایی و فعالیت بدنی به این نتایج رسیدند که کاهش معنی‌داری در مقادیر چربی احشایی، وزن بدن، میزان سرمی لپتین، آزمودن تحمل انسولین، درجه استئاتوز، TG، آنزیم ALT و کلسترول در گروه تمرین ورزشی مواجه شدند. ولی این کاهش در گروهی که هم زمان از محدودیت رژیم غذایی و تمرین ورزشی استفاده می‌کرد بیشتر بوده است (۳۱). همچنین در پژوهشی که در سال ۲۰۱۷ توسط هوگتون[1] و همکاران در ارتباط با اثر ورزش و بیماری مرد مبتلا به NAFLD انجام گرفت، نتایج نشان داد که ۱۲ هفته تمرین درمانی باعث کاهش ۱۶درصدی TG هپاتوسیت ها مستقل از کاهش وزن بیماران گردید. کاهش TG و چربی احشایی مستقل از کاهش وزن بود (۱۴). اختلافات مشاهده شده در نتایج پژوهش‌ها می‌تواند به عواملی همچون شدت و مدت تمرین، آمادگی جسمانی شرکت کنندگان، وراثت و جنسیت مرتبط باشد (۳۲).

بخش اعظم تحقیقات انجام گرفته بر روی پروتکل‌های تمرینی با شدت کم تا متوسط و متابولیسم لیپیدها، بر روند تغیرت آنزیم‌ها، بیان ژن‌ها و تغییرات توده بدن و وزن متمرکز شده است. در رابطه با عدم تغییر معنی دار متغیرPPARγ بعداز هشت هفته تمرین HIIT، علت این امر می‌تواند این باشد که به دنبال تمرینات تناوبی شدید در این تحقیق ترشح هورمون‌های سمپاتیکی باعث فعال شدن مسیر گلیگولیز بی‌هوازی شده و مسیر لیپولیزی را بلوکه کرده است (۲۷). یکی از علت‌های توجیحی دیگر در ارتباط با عدم تغییر PPARγ در گروه‌های مورد بررسی احتمالاً این می‌تواند باشد که یکی از آگونیست‌ها و اکتیویتور های PPARγ در بافت چربی وجود در دسترس بودن سوبسترای کافی FA در مدت زمان طولانی‌تر بر می‌گردد. احتمالاً کمبود سوبسترای FA در طول مدت هشت هفته‌ای رژیم غذایی پرچرب و کافی نبودن مدت فعال‌سازی بیان ژن PPARγ ، موجب عدم تغییر بیان این ژن در بافت چربی احشایی گردید. تحقیقات همسو در رابطه با متغیر PPARγ می‌توان به پژوهش هاریو اونهو و همکاران با موضوع القاء آگونیست PPARγ در بافت چربی بر روی رت انجام گرفت. دریافتند که افزایش تغییرات معنی دار در سطح بیان ژن PPARγ بعداز ۱۶ هفته رژیم غذایی در بافت چربی مشاهده شد. یافته‌ها نشان دادند که در هفته هشتم افزایش بافت توده چربی زیر جلدی را مشاهده کردند. اما در ادامه رژیم غذایی پرچرب تا هفته ۱۶ افزایش سطح بیان ژن PPARγ را مشاهده کردند. که این افزایش سطح بیان PPARγ رابطه مستقیم با افزایش حجم توده چربی احشایی داشت (۳۳) همچنین در پژوهشی که بودو و همکارانش (۲۰۰۳)، تأثیر تمرینات HIIT بر روی سطح بیان ژن PPARγ بر روی مردان دیابتی نوع ۲ را انجام دادند، دریافتند که پس از ۸ هفته تمرینات HIIT هیچ تغییری درسطح بیان PPARγ و وزن رخ نداده است؛ با این حال، به میزان ۴۴٪ کاهش سایز بافت چربی احشایی و توده بدنی بیشتر شرکت کنندگان بعد از HIIT را نشان دادند (۳۴). همچنین تحقیقات یوگاراجا و همکارانش در سال ۲۰۱۳ با عنوان سطح بیان PPARγ در بافت چربی احشایی رت‌های ماده انجام گرفت، نشان داده شد که مصرف غذای پرچرب درطول فاصله زمانی ۸ هفته تأثیر معنی داری بر روی بیان ژن PPARγ نخواهد داشت، ولی ادامه دادن رژیم پرچرب بعد از ۱۶ هفته تغییرات معنی داری در افزایش بافت چربی احشایی مستقل از وزن و افزایش PPARγ مشاهده شد(۳۵). درپژوهشی که آناتولی و همکاران بر روی رت با عنوان تمرین بلند مدت و فعالیت باندهای DNA و PPAR-γ در بافت آدیپوز در سال ۲۰۰۷ انجام گردید، مشخص شد رت‌های تمرین کرده دارای FAS کمتری در کبد و FAS و HSL بیشتری در بافت چربی احشایی و HSL بیشتری در چربی زیر جلدی بودند. علاوه بر آن مشخص شدکه اختلاف معنی داری در بیان PPAR-γ در بافت‌های کبد، عضله و بافت چربی دیده نشد، همچنین یافته‌ها نشان داد که در دراز مدت اثر غلظت پروتئین‌ها نقش مهمی در لیپوژنز و لیپولیز در کبد و بافت چربی مؤثر دارد (۳۶).

در پژوهشی که توسط کانگ با عنوان تأثیر شدت تمرین بر روی PGC-1α، PPAR-γ و مقاومت به انسولین در موشهای با رژیم غذایی پرچرب انجام گرفت، که در ایتدا موش‌ها را به پنج گروه بترتیب گروه کنترل (SED)، گروه رژیم غذایی پرچرب (HF)، گروه رژیم غذایی پرچرب همراه با تمرینات کم شدت (22 m/min, 60 min, 6 days/week)، گروه رژیم غذایی پرچرب همراه با شدت تمرینات متوسط (26 m/min, 51 min) و گروه رژیم غذایی پرچرب همراه با تمرینات شدید (30 m/min, 46 min) تقسیم بندی شدند. نتایج نشان داد که سطح بیان GLUT-4 و PPAR-γ در هر سه گروه تمرینی در مقایسه با SED و HF بیشتر بود. همچنین نتایج نشان داد که رژیم غذایی پرچرب باعث پیشرفت مقاومت به انسولین

[1] Houghton

می‌شود ولی تاثیری بر محتوای PGC-1α، PPAR-γ و GLUT-4 ندارد. تمرینات ورزشی باعث کاهش مقاومت انسولین بدن با توجه به رژیم غذایی پرچرب گردید. علاوه بر این، تمرینات شدید، بیان PGC-1α ، PPAR-γ و میزان انتقال گلوکز عضله اسکلتی نسبت به تمرینات کم و متوسط بیشتر تحت تأثیر قرار داد. اما به لحاظ اماری معنی دار نبود (۳۷). در پژوهشی که توسط لای و همکارانش در سال ۲۰۱۴ بر روی موش‌های نر چاق انجام گرفت و در آن به مقایسه تأثیر هشت هفته تمرین با شدت کم، متوسط و شدید بر بیان ژن PPARγ در بافت چربی و همچنین غلظت پلاسمایی این شاخص پرداخت، مشخص شد که اگرچه میزان بیان PPARγ در بافت چربی و غلظت پلاسمایی این پروتئین در هر سه گروه به نسبت گروه کنترل افزایش یافته است ولی بین گروه‌های تمرینی با شدت‌های مختلف و میزان بیان PPAR-γ تفاوت وجود ندارد و همچنین باعث کاهش وزن و توده چربی و عامل مؤثر در کاهش چربی خون گردید(۳۸). در تحقیق انجام گرفته توسط دافیلد و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی رت با عنوان افزایش بیان PPARγ در بافت چربی احشایی و سطح تجمع چربی احشایی بعداز ۱۶ هفته رژیم غذایی پرچرب بدون فعالیت بدنی انجام گرفته شد. نتایج نشان داد که افزایش بیان ژن PPARγ در بافت چربی احشایی افراد چاق موجب هایپرپالازی در بافت احشایی و تجمع بافت چربی احشایی گردید. که علتان می‌تواند افزایش رژیم غذایی پرچرب بعداز ۱۶ هفته باشد. حذف بیان ژن PPARγ موجب متوقف شدن مسیر ادیپوژنز بافت چربی گردید و همچنین در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها همچون دیابت نوع ۲ و کبد چرب و بسیاری از سرطان‌ها دخالت دارد. بیان PPARγ موجب ترشح بسیاری از آنزیم‌ها و فعالیت پروتئین‌هایی همچون ادیپوکاین ها و هورمون رشد در بافت چربی می‌گردد. همچنین بیان ژن PPARγ یک لینک مولکولی بین FFA و حساسیت به انسولین می‌باشد که افزایش PPARγ موجب بهتر شدن حساسیت به انسولین می‌شود. سطح بیان PPARγ همبستگی مثبت با سطوح بیان ژن‌هایی که در تشکیل رسوبات چربی احشایی به دنبال رژیم غذایی پرچرب وجود دارد. در تحقیقی که توسط ماتئو (۲۰۰۶) با عنوان مکانیسم ذخیره‌سازی PPARγ و اثر آن بر روی متابولیسم لیپید بر روی رت‌ها انجام گرفت، نتایج حاکی از ان بود که استفاده سه هفته‌ای آگونیست‌های PPARγ موجب افزایش بافت چربی زیر پوستی و کاهش ۳۰درصد چربی احشایی نسبت به گروه دارونما گردید. هم چنین افزایش معنی داری در درایو TG در بافت چربی زیر پوستی گردید. این تحقیق به محدودیت‌هایی ازجمله عدم بررسی تأثیر استرس احتمالی وارد شده بر اثر تمرینات ورزشی، احتمال بروز عوامل ثانویه به جهت مدت طولانی جهت بروز کبد چرب، ناتوانی در عدم سنجش ترکیب بدن موش‌ها و نیز بررسی دیگر مسیرهای سیگنایینگ اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

نتیجه پژوهش نشان داد که تمرینات استقامتی کم شدت و تناوبی شدید همراه با رژیم غذایی پرچرب بر روی سطح بیان ژن PPARγ بافت چربی احشایی تأثیرگذار نمی‌باشد. با توجه به نتایج دیگر تحقیقات انجام گرفته می‌توان نتیجه گرفت که بکارگیری رژیم غذایی پرچرب در افراد غیر فعال بعداز ۱۶ هفته باعث هایپرتروفی بافت چربی و فعال شدن بیان ژن PPARγ در بافت چربی احشایی می‌گردد. از طرفی، تمرینات استقامتی کم شدت و تمرینات تناوبی شدید در رت‌های دارای کبد چرب و حتی به همراه مصرف غذای پرچرب باعث کاهش محتوای تری گلیسرید بافت چربی احشایی در هر دو گروه تمرینی شد. همچنین تمرینات تناوبی شدید گرچه موجب کاهش وزن معنی داری نگردید. اما در مجموع استفاده از پروتکل‌های تمرینی مختلف، بخصوص پروتکل تمرینی HIIT برای بیماری‌های کبدی به لحاظ ویژگی‌های همچون زمان کمتر این نوع تمرینات و هزینه مصرفی انرژی کمتر این گونه تمرینات در بهبود بیماران NAFLD می‌تواند یک فاکتور ویژه و مهم برای انگیزه دادن به این نوع بیماران باشد. پیشنهاد می‌شود تحقیقات بعدی به بررسی تأثیر تمرین تناوبی و استقامتی و مقاومتی با مدت زمان طولانی‌تر و همچنین تمرین‌های ترکیبی در افراد مختلف در دو جنس بپردازند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی با گرایش بیوشیمی و متابولیسم ورزشی در دانشگاه شهرکرد است.

References:

1. Gramlich T, Kleiner DE, McCullough AJ, Matteoni CA, Boparai N, Younossi ZM. Pathologic features associated with fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. Annu Rev Pathol 2004; 35(2): 196-9.
2. Tiniakos D.G, Vos M.B, Brunt E.M. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. Annu Rev Pathol 2010; 5: 145-71.
3. Eftekhari M, Bagheri Lankarani K, Fararouei M. Effect of Genistein Supplementation on Insulin Sensitivity, Insulin Resistance, and Beta Cells

function Index in Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease: a Randomized, Controlled Trial. Iran J Nutr Sci Food Technol 2018; 13(1): 1-10.

4. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc1980; 55(7): 434-8.
5. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, Johnson RJ, Abdelmalek MF. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol 2008; 48(6): 993-9.
6. Kelley DE, McKolanis TM, Hegazi RA, Kuller LH, Kalhan SC. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003; 285(4): E906-E916.
7. Yahagi N, Shimano H, Hasty AH, Matsuzaka T, Ide T, Yoshikawa T, Amemiya-Kudo M, et al. Absence of sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) ameliorates fatty livers but not obesity or insulin resistance inLep ob/Lep ob mice. J BiolChem 2002; 277(22): 19353-7.
8. Lalloyer F, Staels B. Fibrates, glitazones, and peroxisome proliferator-activated receptors. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2010; 30(5): 894.
9. Fiévet C, Staels B. Efficacy of peroxisome proliferator-activated receptor agonists in diabetes and coronary artery disease. Curr Atheroscler Rep 2009; 11(4): 281-8.
10. Yu S, Matsusue K, Kashireddy P, Cao WQ, Yeldandi V, Yeldandi AV, et al, Adipocyte-specific gene expression and adipogenic steatosis in the mouse liver due to PPARg1 overexpression. J Biol Chem 2002; 278(1):498-505.
11. Frayn K. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. Diabetologia, 2002; 45(9): 1201-10.
12. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, et al. PPARγ ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. Diabetes 2001; 50(9): 2094-9.
13. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. J Clin Invest 2003; 112(12): 1821-30.
14. Houghton D, Thoma C, Hallsworth K, Cassidy S, Hardy T, Burt AD, et al. Exercise reduces liver lipids and visceral adiposity in patients with nonalcoholic steatohepatitis in a randomized controlled trial. Clin Gastroenterol Hepatol 2017; 15(1): 96-102.
15. Shaw K, Gennat H, O'Rourke P, Del Mar C. Exercise for overweight or obesity. Cochrane Database Syst Rev 2006; 4: CD003817.
16. Wu T, Gao X, Chen M, van Dam RM. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. Obes Rev 2009; 10(3): 313-23.
18. Tremblay A, Simoneau J-A, Bouchard C. Impact of exercise intensity on body fatness and skeletal muscle metabolism. Metabolism1994; 43(7): 814-8.
19. Motta VF, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Efectos beneficiosos del entrenamiento con intervalos de alta intensidad en la obesidad inducida por dieta en ratones: tejido adiposo, estructura del hígado e islotes pancreáticos. J Morphol 2016; 34(2): 684-91.
20. Tjønna AE, Stølen TO, Bye A, Volden M, Slørdahl SA, Odegård R, et al. Aerobic interval training reduces cardiovascular risk factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. Clin Sci 2009; 116(4): 317-26.
21. Rognmo Ø1, Hetland E, Helgerud J, Hoff J, Slørdahl SA. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2004; 11(3): 216-22.
22. Trapp EG, Chisholm DJ, Boutcher SH. Metabolic response of trained and untrained women during

high-intensity intermittent cycle exercise. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2007; 293(6): R2370-5.

23. Bussau VA, Ferreira LD, Jones TW, Fournier PA. The 10-s maximal sprint: a novel approach to counter an exercise-mediated fall in glycemia in individuals with type 1 diabetes. Diabetes Care 2006; 29(3): 601-6.
24. Nevill ME, Holmyard DJ, Hall GM, Allsop P, van Oosterhout A, Burrin JM , et al. Growth hormone responses to treadmill sprinting in sprint-and endurance-trained athletes. Eur J Appl Physiol 1996; 72(5-6): 460-7.
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. Int J Obes (Lond) 2016; 40(11): 1760-7.
26. 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 2015; 23(5): 1000-6.
27. DiStefano MT, Danai LV, Roth Flach RJ, Chawla A, Pedersen DJ, Guilherme A et al. The lipid droplet protein hypoxia-inducible gene 2 promotes hepatic triglyceride deposition by inhibiting lipolysis. J Biol Chem 2015; 290(24): 15175-84.
28. 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. Sci Rep; 2016; 6: 27688.
29. 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. Eur J Pharmacol2018; 826: 75-84.
30. Motta VF, Aguila MB, Mandarim-De-Lacerda CA. High-intensity interval training (swimming) significantly improves the adverse metabolism and comorbidities in diet-induced obese mice. J SPORT MED PHYS FIT 2016; 56(5): 655-63.
31. MOOSAVI SM, Ganbarzadeh M. Reviewing the physiological effects of aerobic and resistance training on insulin resistance and some biomarkers in non-alcoholic fatty liver disease. Feyz 2016; 20 (3) :282-96.
32. Nikroo, H, Mohsen Nematy, HamidReza Sima, SeyedReza AttarzadeHosseini, Masoud Pezeshki, Abbas Esmaeilzadeh, et al. Therapeutic effects of aerobic exercise and low-calorie diet on nonalcoholic steatohepatitis. Govaresh 2013; 17(4): 245-53.
33. Ables GP. Update on Ppar. PPAR research, 2012. 2012.
34. Boudou P, Sobngwi E, Mauvais-Jarvis F, Vexiau P, Gautier JF.. Absence of exercise-induced variations in adiponectin levels despite decreased abdominal adiposity and improved insulin sensitivity in type 2 diabetic men. Eur J Endocrinol 2003; 149(5): 421-4.
35. Yogarajah T, Bee YT, Noordin R, Yin KB. Increased peroxisome proliferator‐activated receptor γ expression levels in visceral adipose tissue, and serum CCL2 and interleukin-6 levels during visceral adipose tissue accumulation. Mol Med Rep 2015; 11(1): 515-20.
36. Petridou A, Tsalouhidou S, Tsalis G, Schulz T, Michna H, Mougios V. Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator–activated receptor γ in rat adipose tissue. Metabolism 2007; 56(8): 1029-36.
37. Jung H-L, Kang H-Y. Effects of Exercise Intensity on PGC-1α, PPAR-γ, and Insulin Resistance in Skeletal Muscle of High Fat Diet-fed Sprague-Dawley Rats. Korean J Food & Nutr 2014; 43(7): 963-71.
38. Li M, Bai Y, Jianfei C, Xiaodong X, Yuanyuan D, Jing Z. Effects of different exercise intensity on PPARγ and relative index in adolescent obesity rats. Wei sheng yan jiu 2014; 43(5): 732-7.

Original Article

EFFECT OF HIGH-INTENSITY INTERVAL TRAINING AND LOW-INTENSITY ENDURANCE TRAINING ON PPARΓGENE EXPRESSION AND VISCERAL ADIPOSE TISSUE TRIGLYCERIDE CONTENT IN RATS WITH NAFLD

Ahmad Heidari Shahreza[1], Akbar Azamian Jazi[2], Ebrahim Banitalebi[3], Abas Ali Palizban[4]

Received: 16 Oct, 2019; Accepted: 26 Dec, 2019

Abstract

Background & Aims: The peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) expression in visceral adipose tissue extensively cause recovery of non-alcohol fatty liver (NAFLD) and insulin signaling regulation. The main purpose of this study was to compare the effect of an eight-week low-intensity endurance training (LIET) and high-intensity interval training (HIIT) on the amount of PPARγ gene and TG content of visceral lipid tissue in Wistar male rats affected by non-alcohol fatty liver(NAFLD).

Materials & Methods: The present research was performed on 40 Wistar rats affected by NAFLD. The rats were divided into four groups. Healthy Control (Standard Diet), control, LIET, and HIIT (High-fat diet). After 16-weeks of using a special diet, ALT enzyme serum level was obtained from the mentioned groups and, as the main symptoms of fatty liver, it was found that consuming fatty foods could develop NAFLD disease in the experimental group. Then the experimental groups were divided into; control, HIIT, and LIET groups randomly and they consumed fatty foods constantly until the end of practice or training period. HIIT training protocol consisted of 2 min running session with 75% more speed intensity in the first week, 80% more speed in the second week, 85% in the third week, and 90% in the fourth week, to the end of the training. The LIET training protocol composed of running with 45% maximum speed intensity. The PPARγ gene expression was evaluated by real-time PCR technique and TG measurements of visceral lipid tissue using an AutoAnalyzer (BT3000 model).

Results: Analysis of the present data showed that there was no significant difference in the level of visceral fat PPARγ gene expression between different groups ($p = 0.060$). However, there was a significant difference in TG content between the control group and low-intensity endurance training ($p = 0.001$) and between the control group and intense periodic training ($p = 0.001$). There was also a significant difference in TG content between low-intensity endurance training and intense intermittent training ($p = 0.003$).

Conclusion: It could be concluded that exercise with continued high-fat diet did not affect PPARγ expression of visceral adipose tissue. Exercise independent of PPARγ pathway will affect visceral fat content in rats with NAFLD. On the other hand, reduction in visceral TG levels in exercise groups could occur independently of weight loss.

***Keywords*:** fatty liver, Intra-Abdominal Fat, High-Intensity Interval Training, peroxisome proliferator-activated receptor gamma, Triglyceride

***Address**:* Iran, Shahrekord University, Faculty of Literature and Humanities, Department of Sports Sciences
***Tel**: +98*9133210624
***Email**:* Ahmad_doctor2008@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 30(12): 980 ISSN: 1027-3727

[1] *Faculty member in Payam Noor University (Corresponding Author)*
[2] *Associate Professor in Department of Sport Sciences, Shahrekord University*
[3] *Associate Professor in Department of Sport Sciences, Shahrekord University*
[4] *Associate Professor in Clinical Biochemistry. Isfahan University of Medical Sciences*