

Research Paper

Effect of Low-Intensity Endurance Training and High-Intensity Interval Training on HIG2 Gene Expression and Visceral Adipose Tissue Triglyceride Content in NAFLD Rats**A. Heidari Shahreza¹, A. Azamian Jazi², E. Banitalebi³,
A. A. Palizban⁴**

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. Associate Professor in Clinical Biochemistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received: 2018/11/14

Accepted: 2019/03/16

Abstract

Adipose dysfunction is the underlying cause of liver diseases. 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 HIG2 gene and triglyceride (TG) content of visceral lipid tissue in Wistar male rats affected by non-alcohol fatty liver (NAFLD). The present study was conducted on 40 NAFLD Wistar rats. The rats were divided into four groups of 10: Healthy control (standard diet), Control, LIET and HIIT (High-fat diet). After the 16-week special diet, alanine transaminase (ALT) enzyme serum was taken from the mentioned groups. It became obvious, as the main symptom of fatty liver, that consuming fatty foods could develop NAFLD disease in the experimental group. Then, the experimental groups were randomly divided into: Control, HIIT, and LIET groups, and they consumed fatty foods constantly until the end of the training period. The HIIT training protocol consisted of a 2-min running session at 75, 85 and 90% of maximal velocity (V_{max}) in the first, second and fourth weeks (until the end of the training), respectively. The LIET training protocol was composed of a run at 45% of V_{max} . HIG2 gene expression was performed using real-time PCR technique and TG visceral adipose tissue measurements using Auto-Analyzer (BT3000 model). Analysis of variance (ANOVA) test was applied to compare the groups with a significance level of ($p < 0.05$). Analysis of the data revealed that there was no significant difference in HIG2 gene

1. Email: ahmad_doctor2008@yahoo.com

2. Email: azamianakbar@yahoo.com

3. Email: banitalebi.e@gmail.com

4. Email: palizban@pharm.mui.ac.ir

expression between the training groups compared to the control groups ($p=0.05$). Only in the control group, an increasing significance of HIG2 gene expression was observed ($p=0.039$), compared to the experimental group. There was a significant difference in the amount of TG-content between the control and LIET groups ($p=0.001$) and between the control and HIIT groups ($p=0.001$). Moreover, a significant difference was found in the amount of TG-content between the LIET and HIIT groups ($p= 0.003$). Thus, it can be concluded that maintaining a high-fat diet during exercise and the influence of exercise on the amount of TG and on the expression of the HIG2 gene show that each of the two exercise regimens has an effect on visceral fat content in rats with NAFLD, independent of the HIG2 gene.

Keywords: Intra-Abdominal Fat, High-Intensity Interval Training, Hypoxia-Inducible protein 2, Triglyceride, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

Extended Abstract

Background and Purpose

Total body fat and visceral fat are closely linked to non-alcoholic fatty liver diseases (NAFLD), diabetes, hypertension, increased blood lipids, and cardiovascular disease (1). The NAFLD as the most common chronic liver disease includes the full spectrum of this disease such as plain steatosis, non-alcoholic steatohepatitis (NASH), fibrosis, and cirrhosis (2). Over 600 million people worldwide and 30% of the European population are overweight, directly leading to the growth and accumulation of fat droplets and the progression of the NAFLD disease (3). Adipose dysfunction is the underlying cause of liver diseases. Adipocytes store the required energy in the form of triglyceride (TG) in fat droplets (LDs) when they receive additional nutrients (4). The LDs have a single layer of sterol and phospholipid. Their single-layer structure is such that certain proteins such as perilipins. Physical activity is important through the reduction of visceral fat mass, increased lipolysis, consequent decrease in the release of pro-inflammatory cytokines and creation of an anti-inflammatory environment in the control of inflammatory diseases such as NAFLD (5). So, 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 HIG2 gene and TG-content of visceral lipid tissue in male NAFLD Wistar rats.

Materials and Methods

In the study, 40 male Wistar rats (age=5 weeks) with a weight of 14.4 ± 24.6 kg were purchased from Isfahan Royan Institute. Animals were kept under twelve hours of darkness and twelve hours of brightness, 50% moisture, 20 to 23 degrees Celsius (five rats per cage) and free access to water and food (6). After one week, the rats familiarized with the laboratory environment, all 40 rats were randomly

assigned into: a) sham groups (n = 10) with diet: 23% crude protein, 3-5.5% crude protein, 4% -5.5% crude fiber, ash 10% maximum, calcium 1-95%, phosphorus 70-65%, salt 0.55-0.5%, moisture content up to 10%, lysine 1.5% Methionine 0.33%, methionine + cysteine 0.63%, threonine 0.72%, tryptophan 0.25%, energy 16-16.17%) and b) experimental groups (control group and training group) with high fat diet: About 60% fat (90% fatty processed animal and 10% soybean oil added to standard food), 20% carbohydrate and 20% protein). After the 16-week special diet, alanine transaminase (ALT) enzyme serum was taken from the groups as expected, and as one of the main syndrome of fatty liver, it was determined that high-fat dietary supplementation could successfully treat NAFLD in the experimental group. Then, the experimental group was randomly divided into control, HIIT and LIET (control group) (n=30) and consumed high-fat foods. The healthy control group consumed standard food throughout the study and did not participate in any exercise program, as in the control group. The experimental groups (HIIT and LIET) individually participated in the exercise protocol for eight weeks (five days a week). Before starting the training protocol, the animals exercised daily for 10-15 min at a speed of 10 m/min for one week to become familiar with the treadmill (7). In order to determine the maximum speed of the rats, a 10-stage test was performed with a speed of 0.3 km / h (5 m / min) in the first stage, and increasing the speed of the bar to 0.3 km / min in the next stages. Then, to approach the maximum speed, the average speed of the rats of different groups in close proximity to each other was determined. Both protocols included three parts: Warm-up, cool-down (five minutes and 30% maximum speed) and training. The HIIT training protocol consisted of a 2-min running session at 75, 85 and 90% of maximal velocity (V_{max}) in the first, second and fourth weeks (until the end of the training), respectively. The LIET training protocol was composed of a run at 45% of V_{max} . HIG2 gene expression was performed using real-time PCR technique and TG visceral adipose tissue measurements using Auto-Analyzer (BT3000 model). Analysis of variance (ANOVA) test was applied to compare the groups with a significance level of ($p < 0.05$).

Results

Analysis of the data revealed that there was no significant difference in HIG2 gene expression between the training groups compared to the control groups ($p = 0.05$). Only in the control group, an increasing significance of HIG2 gene expression was observed ($p = 0.039$), compared to the experimental group. There was a significant difference in the amount of TG-content between the control and LIET groups ($p = 0.001$) and between the control and HIIT groups ($p = 0.001$). Moreover, a significant difference was found in the amount of TG-content between the LIET and HIIT groups ($p = 0.003$).

Conclusion

Findings suggested that maintaining a high-fat diet during exercise and the influence of exercise on the amount of TG and on the expression of the HIG2 gene indicated that each of the two exercise regimens had an effect on visceral fat content in rats with NAFLD, independent of the HIG2 gene. The eight-week LIET and HIIT protocols along with a high-fat diet had no effect on the reduction of HIG2 expression in visceral adipose tissue. However, both LIET and HIIT protocols reduced TG of visceral adipose tissue and body mass. The use of HIIT exercise protocol in hepatotoxic diseases such as NAFLD, decreasing TG in visceral adipose tissue and body mass seems to be the best-recommended method for dietary control; therefore, the characteristics of HIIT protocols such as low time consumption, fewer types of exercise and low energy consumption. These exercises to improve NAFLD patients can be an important factor to motivate these patients.

Keywords: Intra-Abdominal Fat, High-Intensity Interval Training, Hypoxia-Inducible Protein 2, Triglyceride, Non-Alcoholic fatty Liver Disease

Achievement Message

The HIIT and LIET training protocols can reduce the triglyceride levels of visceral adipose tissue and body mass in rats with NAFLD, independent of the HIG2 pathway and, consequently, improve fatty liver disease. Also, it seems that the HIIT training protocol being more valuable than LIET, according to the objectives of this study.

References

1. Gramlich T, Kleiner DE, McCullough AJ, Matteoni CA, Boparai N, Younossi ZM. Pathologic features associated with fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Hum Pathol.* 2004;35(2):196-9.
2. Amanat S, 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. *Iranian J Nutr Sci Food Technol.* 2018;13(1):1-10. (In Persian).
3. Stephen S, Baranova A, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease and bariatric surgery. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;6(2):163-71.
4. Farese Jr RV, Walther TC. Lipid droplets finally get a little RESPECT. *Cell.* 2009;139(5):855-60.
5. 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 e3.

6. 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.
7. 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, Md)*. 2015;23(5):1000-6.



مقایسه تأثیر تمرین استقامتی با شدت کم و تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن HIG2 و محتوای تری گلیسرید چربی احشایی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی

احمد حیدری شهرضا^۱، اکبر اعظمیان جزئی^۲، ابراهیم بنی‌طالبی^۳، عباسعلی پالیزبان^۴

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهرکرد، ایران

۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهرکرد، ایران (نویسنده مسئول)

۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهرکرد، ایران

۴. دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۲۳

چکیده

اختلال در عملکرد آدیپوز زمینه‌ساز بیماری‌های کبدی است. این پژوهش با هدف مقایسه تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت کم (LIET) و تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر میزان بیان ژن HIG2 و محتوای TG بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی نر مبتلا به کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) انجام شد. این پژوهش بر ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار مبتلا شده به NAFLD انجام شد. موش‌ها به گروه‌های ده‌تایی کنترل سالم (رژیم غذایی استاندارد) و گروه‌های کنترل، LIET و HIIT (رژیم غذایی پرچرب) تقسیم شدند. پس از گذشت ۱۶ هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب، میزان سرمی آنزیم ALT از گروه‌ها گرفته شد و به‌عنوان یکی از نشانگان اصلی بروز کبد چرب مشخص شد که مصرف غذای پرچرب به‌خوبی توانسته است بیماری NAFLD را به گروه تجربی القا کند و آن‌ها همچنان غذای پرچرب را تا پایان دوره تمرین مصرف کردند. پروتکل تمرین HIIT شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵ درصد در هفته سوم و ۹۰ درصد در هفته چهارم تا پایان تمرین بود. پروتکل تمرینی LIET شامل دویدن با شدت ۴۵ درصد حداکثر سرعت بیشینه بود. سنجش بیان ژن HIG2 با استفاده از تکنیک Real-time PCR و سنجش TG روی دستگاه اتو آنالیزور (مدل BT3000) انجام شد. از آزمون تحلیل واریانس برای مقایسه بین گروه‌ها با سطح معناداری ($P < 0.05$) استفاده شد. تحلیل داده‌ها نشان داد تفاوت معناداری در میزان بیان ژن HIG2 بین گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل وجود نداشت ($P > 0.05$). افزایش معناداری در میزان بیان ژن HIG2 صرفاً در گروه کنترل ($P = 0.039$) در مقایسه با گروه شم مشاهده شد. تفاوت معناداری در میزان محتوای TG بافت چربی احشایی بین گروه کنترل و تمرین استقامتی کم‌شدت ($P = 0.001$) و بین گروه کنترل و تمرین تناوبی شدید ($P = 0.001$) مشاهده شد. علاوه بر این تفاوت معناداری در میزان محتوای TG بافت چربی احشایی بین تمرین استقامتی کم‌شدت و تمرین تناوبی شدید ($P = 0.003$) مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به ادامه رژیم پرچرب در طول تمرین و نیز تأثیر تمرینات بر میزان TG بافت چربی احشایی و تأثیر نداشتن بر بیان ژن HIG2، به نظر

می‌رسد هر دو نوع تمرین مستقل از مسیر HIG2 بر محتوای چربی احشایی در رت‌های مبتلا به NAFLD تأثیر داشته‌اند.

واژگان کلیدی: بافت چربی احشایی، تمرین تناوبی شدید، پروتئین القاکننده هیپوکسی دو، تری‌گلسیرید، کبد چرب غیرالکلی.

مقدمه

چربی کل بدن و چربی احشایی ارتباط تنگاتنگی با بیماری‌های کبد چرب غیرالکلی^۱ (NAFLD)، دیابت، پرفشاری خون، افزایش چربی‌های خون و بیماری‌های قلبی-عروقی دارند (۱). NAFLD شایع‌ترین بیماری مزمن کبدی است که طیف کامل این بیماری شامل استئاتوز ساده تا استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH)، فیروز و سیروز را در بر می‌گیرد (۲). بیش از ۶۰۰ میلیون نفر در سراسر دنیا و ۳۰ درصد از جمعیت اروپا دچار اضافه‌وزن هستند که به‌صورت مستقیم به رشد و تجمع قطرات چربی و پیشرفت بیماری NAFLD در آن‌ها منجر شده است (۳).

آدیپوسیت‌ها انرژی مورد نیاز را به شکل تری‌گلسیرید (TG) در قطرات چربی^۲ (LD) در زمان دریافت مواد مغذی اضافی ذخیره می‌کنند (۴). LD دارای ساختاری تک‌لایه از استرول و فسفولیپید با خاصیت آمفی پاتیک زیاد است. ساختار تک‌لایه آن‌ها به نحوی است که پروتئین‌های ویژه‌ای چون پری‌لیپین‌ها، خانواده پروتئین‌های بالادستی GTPase (Rab) و کمپلکس ۱ پروتئین پوششی - فاکتور ۱ ریبوزیلاسیون ADP (Arfs-COP1)^۳ می‌توانند به آن متصل شوند (۵، ۶).

PLIN1 روی سطح قطرات چربی واقع شده است (۷) و به‌عنوان یک «پروتئین داربست»^۴ با تسهیل دسترسی لیپازها به قطره چربی و سازماندهی تعاملات پروتئین-پروتئین در آدیپوسیت‌ها عمل می‌کند. فسفوریلاسیون PLIN1 توسط PKA برای لیپولیز حداکثری ضروری است. پروتئین القاکننده هیپوکسی دو^۵ (HIG2) به‌واسطه ارتباطش با LD نقش مهمی در پیشرفت NAFLD دارد (۸). این پروتئین به‌ویژه زمانی که به‌همراه پری‌لیپین دو و سه و در شرایط هیپوکسی و استئاتوز کبدی روی LD قرار می‌گیرد، باعث کاهش اثربخشی اکسیداسیون اسید چرب می‌شود و موجب تجمع چربی در هپاتوسیت‌ها می‌شود (۸). به نظر می‌رسد تأثیرات HIG2 در افزایش TG و رشد LD به قابلیت آن در مهار لیپولیز TG موجود در LD مرتبط باشد (۹). مطابق انتظار هرگونه کاهش در میزان ژن

1. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
2. Lipid Droplet
3. ADP-ribosylation Factor1-Coat Protein Complex1
3. Scaffold Protein
4. Hypoxia Inducible Gene 2

HIG2 باعث کاهش بیشتر LDs و میزان رسوب TG در هیپاتوسیت‌ها و رویکرد درمانی بهتر NAFLD می‌شود (۱۰).

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 (۱۱). این باور وجود دارد که فعالیت‌های ورزشی به‌وسیله تنظیم القای عوامل نسخه‌برداری ژن‌های متابولیک موجب بهبود حساسیت به انسولین و افزایش عملکردی ذخیره-سازی لیپید در بافت چربی احشایی و افزایش اکسیداسیون چربی می‌شوند. در غالب پروتکل‌های تمرین به‌کارگرفته‌شده در پژوهش‌ها به تمرین در حالت پایدار توجه شده است (۱۲، ۱۳)، اما از طرفی یکی از ضعف‌های استفاده از این گونه تمرینات زمان طولانی و تکراری بودن آن‌هاست که موجب کاهش انگیزه روانی و گزینشی افراد می‌شوند؛ بنابراین انجام دادن پروتکل‌های تمرین که افراد غیرفعال و دارای اضافه‌وزن با ایجاد انگیزه و صرف زمان کمتر انجام دهند و تأثیر بیشتری بر کاهش وزن و ترکیب بدنی آن‌ها داشته باشد، بسیار مفید خواهد بود. شواهد زیادی نشان داده‌اند که تمرینات تناوبی شدید^۱ (HIIT) هم به لحاظ صرفه‌جویی در زمان و هم از حیث اثربخشی بیشتر می‌توانند در اولویت برنامه‌های کاهش وزن و چربی‌سوزی قرار بگیرند (۱۴). تمرینات HIIT می‌توانند به کاهش بافت چربی با رویکرد افزایش اکسیداسیون و رهایش بیشتر عامل آزادسازی کورتیکوتروپین^۲ (CRF) (۱۵) و مصرف اکسیژن بیشتر پس از فعالیت^۳ (EPOC) منجر شوند (۱۶). همچنین افزایش سطوح هورمون رشد پس از وهله‌های HIIT نیز ممکن است در افزایش هزینه انرژی و اکسیداسیون بیشتر چربی نقش داشته باشد (۱۷). با توجه به اینکه غالباً بیماری NAFLD با افزایش FFA چربی احشایی همراه است، استفاده از تمرینات متنوع که بیشترین بهره‌وری را در قالب کمترین زمان ارائه دهند، بهترین رویکرد و مداخله مهم و ضروری محسوب می‌شود؛ بنابراین در این پژوهش تلاش شده است تأثیرات هشت هفته پروتکل ورزشی استقامتی کم‌شدت و تناوبی شدید بر بیان ژن HIG2 و محتوای TG بافت چربی احشایی مقایسه شود.

موتاً^۴ و همکاران (۱۴) پژوهشی درباره تأثیر تمرینات HIIT بر بهبود متابولیسم و شرایط بیماری‌زای مزمن در موش‌های چاق مبتلا به کبد چرب با رژیم غذایی انجام دادند. تمرینات HIIT موجب کاهش چشمگیر توده بدن، قندخون، تحمل گلوکز و پروفایل لیپیدی بهبود حساسیت به انسولین، کاهش

1. High-Intensity Interval Training
2. Corticotrophin-Releasing Factor
3. Excess Post Exercise Oxygen Consumption
4. Motta

چربی احشایی و استئاتوز کبدی شدند. در پژوهشی دایستفانو^۱ و همکاران (۱۸) به بررسی HIG2 بافت چربی در گسترش رسوب چربی و مقاومت به انسولین ناشی از رژیم غذایی پرچرب پرداختند. نتایج نشان داد پروتئین مرتبط با چاقی و مقاومت به انسولین که مسیر بالادستی این مکانیزم را درگیر می‌کند، HIG2 است که در سلول‌های چربی انسان (به ویژه در سندرم سیمسون- گلابی- بهمل^۲) وجود دارد و با بلوکه کردن مسیر پروتئین HIG2 موجب کاهش یافتن چربی احشایی و وزن و همچنین افزایش تحمل گلوکز می‌شود. در پژوهشی دیگر، دایستفانو و همکاران (۹) به بررسی نقش HIG2 در افزایش رسوب TG کبدی از طریق مهار لیپولیز پرداختند. نتایج نشان داد بیان پروتئین HIG2 روی LDs کبد موش‌هایی که تحت یک رژیم پرچرب قرار گرفته بودند، افزایش یافت و به افزایش رسوب TG در LDs کبد آن‌ها منجر شد؛ این در حالی است که کاهش میزان بیان پروتئین HIG2 به کاهش محتوا و اندازه TG در کبد موش‌ها منجر شد. این پژوهشگران در جمع‌بندی پژوهش خود اذعان کردند که کاهش محتوای پروتئین HIG2 کبدی موجب افزایش لیپولیز TG، نوسازی و اکسیداسیون اسید چرب و همچنین بهبود تحمل گلوکز در قیاس با گروه کنترل شد. تراپ^۳ و همکاران (۱۵) از یک برنامه پانزده‌هفته‌ای HIIT در زنان جوان استفاده کردند که سه روز در هفته و هر جلسه به مدت ۲۰ دقیقه انجام می‌شد. HIIT شامل یک وهله هشت‌ثانیه‌ای رکاب‌زدن سرعتی بود که با ۱۲ ثانیه رکاب‌زدن با شدت کم از هم جدا می‌شد. گروه تمرینات هوازی به مدت ۴۰ دقیقه با ۶۰ درصد VO2max رکاب می‌زدند. نتایج نشان داد زنان گروه HIIT چربی زیرپوستی بیشتری را از دست دادند (به‌طور متوسط ۲/۵ کیلوگرم برای هر فرد). این پژوهشگران نشان دادند ۱۵ هفته تمرین HIIT بر کاهش چربی شکمی، افزایش حساسیت انسولینی و نیز افزایش توده خالص نیز اثربخش‌تر بوده است.

روش پژوهش

در این پژوهش ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن پنج هفته و وزن $24/6 \pm 155/4$ گرم از مؤسسه رویان اصفهان خریداری شدند. حیوانات در وضعیت یکسان دوازده ساعت تاریکی و دوازده ساعت روشنایی، رطوبت ۵۰ درصد، دما ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد (تعداد پنج رت در هر قفس) و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند (۱۹). پس از گذشت یک هفته آشنایی رت‌ها با محیط آزمایشگاه، تمامی ۴۰ سر رت به‌طور تصادفی به گروه‌های شم (تعداد = ۱۰) با رژیم غذایی شامل ۲۳ درصد پروتئین خام، ۳/۵ تا ۴/۵ درصد چربی خام، ۴ تا ۴/۵ درصد فیبر خام، خاکستر حداکثر ۱۰ درصد،

1. DiStefano
2. Simpson-Golabi-Behmel Syndrome (SGBS)
3. Trapp

کلسیم ۱ تا ۰/۹۵ درصد، فسفر ۰/۶۵ تا ۰/۷۰ درصد، نمک ۰/۵ تا 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 و انرژی ۱۶/۱۶ تا ۱۷ درصد و همچنین گروه تجربی (گروه کنترل و گروه تمرینی) با رژیم غذایی پرچرب شامل حدود ۶۰ درصد چربی (۹۰ درصد چربی فراوری شده حیوانی و ۱۰ درصد روغن دانه سویا که به غذای استاندارد اضافه شد)، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین تقسیم شدند (۱۹). پس از گذشت ۱۶ هفته رژیم غذایی مطابق انتظار (۱۹)، میزان سرمی آنزیم ALT از گروه‌ها گرفته شد و به‌عنوان یکی از نشانگان اصلی بروز کبد چرب مشخص شد که مصرف غذای پرچرب به‌خوبی توانسته است بیماری NAFLD را به گروه تجربی القا کند (جدول شماره یک). سپس گروه‌های تجربی به‌صورت تصادفی به سه گروه کنترل، HIIT و LIET تقسیم شدند (تعداد = ۳۰) و همچنان غذای پرچرب مصرف می‌کردند. گروه کنترل سالم در کل این پژوهش غذای استاندارد مصرف کردند و همانند گروه کنترل در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکردند. گروه‌های تجربی (HIIT و LIET) به‌مدت هشت هفته (پنج روز هفته) در پروتکل تمرینی خود شرکت کردند. قبل از شروع پروتکل تمرین، حیوانات به‌مدت یک هفته و روزانه به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای آشنایی روی تردمیل تمرین کردند (۲۰). برای 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 هر سه دقیقه ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوار گردان اضافه می‌شد و سرعتی که در آخرین مرحله، حیوان به‌رغم وجود شوک الکتریکی قادر به دویدن نبود، به‌عنوان حداکثر سرعت دویدن ثبت شد (۲۰). سپس به‌دلیل نزدیک شدن به سرعت بیشینه، میانگین حداکثر سرعت رت‌های گروه‌های مختلف به‌دلیل نزدیکی با یکدیگر ملاک قرار گرفت. هر دو پروتکل تمرین شامل سه قسمت گرم‌کردن و سردکردن (پنج دقیقه و با ۳۰ درصد سرعت بیشینه) و تمرین اصلی بود.

جدول ۱- تغییرات سطوح سرمی آنزیم ALT (U/liter) پس از ۱۶ هفته رژیم غذایی

Table 1- Changes in serum levels of ALT enzyme (U / liter) after 16 weeks of diet

P	t	df	Mean ± SD S	حداکثر	حداقل	گروه‌ها
				Maximum	Minimum	Groups
*0.001	34.53	9	60.7±5.5	67.00	51.00	غذای استاندارد Standard diet
*0.001	56.37	29	105.1±9.6	121.00	87.00	غذای پر چرب High-fat diet

* تفاوت معنادار (P < 0.05)

* Significant Difference (P < 0.05)

پروتکل‌های تمرین: پروتکل تمرین HIIT مجموعه‌ای منظم از تمرین شدید و کم‌شدت بود که به‌ترتیب شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته سوم و ۹۰ درصد سرعت بیشینه 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 کردن در شدت کم، به‌مدت پنج دقیقه با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه به سردکردن می‌پرداختند. تعداد تکرارها به‌گونه‌ای تنظیم شد که در هفته اول دو وهله تکرار، در هفته دوم چهار وهله تکرار، در هفته سوم شش وهله تکرار و در هفته چهارم تا پایان، هشت وهله فعالیت با شدت زیاد تکرار شد (جدول شماره دو).

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

جدول ۲- پروتکل تمرینی گروه‌های HIIT و LIET

Table 2 - Training Protocol of HIIT and LIET Groups

مسافت طی‌شده در هر جلسه (متر) Distance covered per session (m)	مدت تمرین (دقیقه) Exercise duration (min)	تعداد وهله‌های تمرین Number of training bouts	سرعت (متر/دقیقه) Speed (m/min)	شدت هنگام استراحت Rest time intensity	شدت تمرین Training intensity	گروه Group	هفته Week
246	-	2	30	30%	75%	HIIT	1
246	17	-	18	-	45%	LIET	1
445	-	4	32	30%	80%	HIIT	2
445	28	-	18	-	45%	LIET	2
588	-	6	34	30%	85%	HIIT	3
588	36	-	18	-	45%	LIET	3
748	-	8	36	20%	90%	HIIT	4
748	45	-	18	-	45%	LIET	4
748	-	8	36	20%	90%	HIIT	5
748	45	-	18	-	45%	LIET	5
748	-	8	36	20%	90%	HIIT	6
748	45	-	18	-	45%	LIET	6
748	-	8	36	20%	90%	HIIT	7
748	45	-	18	-	45%	LIET	7
748	-	8	36	20%	90%	HIIT	8
748	45	-	18	-	45%	LIET	8

نمونه‌گیری بافت: چهل‌وهشت ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین و حدود ۱۶ ساعت ناشتایی (۹)، همه حیوانات با تزریق سدیم پنتوباریتال (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. پس از استخراج بافت چربی احشایی و شست‌وشوی آن با سالیین قسمتی از آن جدا شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان انجام‌شدن مراحل آزمایشگاهی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۰). با توجه به برنامه زمان‌بندی تعیین‌شده، برشی در ناحیه شکم ایجاد شد. پس از استخراج بافت آدیپوز احشایی و جداسازی آن، بافت مربوط به میکروتیوپ منتقل و نشانه‌گذاری شد. به‌منظور استخراج RNA از کیت استخراج ایرایزول RNA، ساخت شرکت زیست فناوری‌ان رنا (کد دسترسی RB1001) و طبق دستورالعمل زیر استفاده شد. ابتدا میزان ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت به هاون استریل منتقل شد و به‌همراه یک میلی‌لیتر بافر سایید شد تا به محلولی همگن تبدیل شود. پس از اتمام این مرحله، دو فاز کاملاً تفکیک‌شدنی و مشخص قابل مشاهده بود. فاز شفاف رویی که حاوی RNA بود جدا شد و به داخل تیوپ دیگر منتقل شد و ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰ درصد سرد به آن اضافه شد و سپس به مدت هشت دقیقه در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در پایان کار، تیوپ از فریزر خارج شد و مشابه با مرحله قبل سانتریفیوژ شد و مایع اضافی داخل تیوپ پس از سانتریفیوژ دور ریخته شد. در این مرحله به‌صورت اتفاقی ولی نه به‌صورت همیشگی، لکه‌های بی‌رنگ یا مایل به رنگ سفید در بدنه و کف تیوپ مشاهده شد. سانتریفیوژ با اضافه‌کردن اتانول ۸۰ درصد برای شست‌وشو تکرار شد و پس از خارج‌کردن اتانول و خشک‌کردن محتوای داخل تیوپ (در این مرحله روش air-dry به کار رفت)، ۲۰ تا ۵۰ میکرولیتر آب دوباره تقطیر متناسب با میزان رسوب به آن اضافه شد و با پیپت RNA داخل تیوپ حل شد. سپس پنج ماکرولیتر از آن به‌منظور تأیید کیفیت روی ژل آگارز یک درصد قرار داده شد تا پس از تأیید از آن در سنتز cDNA استفاده شود. ملاک تخلیص مطلوب RNA اندازه‌گیری OD با نانودراپ در طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ بود که این میزان بین ۱/۸ تا ۱/۹ متغیر بود. تقریباً ۰/۵ گرم (۵۰۰ میلی‌گرم) از بافت چربی احشایی جدا شد. سپس معادل یک میلی‌لیتر ایزوپروپانول به هر میکروتیوپ اضافه شد و با استفاده از سواپ پلاستیکی، بافت چربی احشایی داخل میکروتیوپ فشرده شد و تا قطعه‌قطعه کردن و متلاشی‌شدن کامل بافت به‌منظور تسهیل هموژیناسیون این کار ادامه پیدا کرد. در ادامه میکروتیوپ‌ها برای جداسازی بافت‌ها به مدت یک دقیقه به‌وسیله دستگاه هموژانیز و با قدرت ۵۰۰۰ Hz هموژنیزه شدند (HETYCH، مدل UP1000H). پس از آن میکروتیوپ‌ها به مدت پنج دقیقه و با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند تا لایه رویی آن تفکیک شود. در نهایت، میزان TG این لایه با استفاده از کیت TG شرکت پارس‌آزمون (ساخت ایران) و دستگاه اتوانالیزور (مدل BT3000) اندازه‌گیری شد (۲۱). سنتز cDNA با استفاده

از سنتز پرایمیر با پرایمر الیگو T و کیت سنتز cDNA (RB) زیست‌فناوران رنا و مطابق با دستورات این شرکت انجام گرفت (۲۲).

بررسی 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 (Telomere Binding Protein) به‌عنوان کنترل سنتز cDNA در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، طبق شرایط دمایی پیشنهادی شرکت سازنده پرایمر زیست‌فناوران رنا استفاده شد. روش کمی‌سازی داده‌ها از طریق روش فافایل ddct محاسبه شد (جدول شماره سه).

جدول ۳- شرایط واکنش RT-PCR
Table 3 - RT-PCR Reaction Conditions

زمان Time	دما Temperature (°C)	نام مرحله Step name	تعداد چرخه Cycle numbers	مراحل Steps
5 minutes	95	واسرشت‌سازی اولیه Primary denaturation	1	1
30 sec ثانیه	94	واسرشت‌سازی Denaturation	40	2
30 sec ثانیه	54	اتصال Annealing		
30 min دقیقه	72	گسترش Extension		
5 min دقیقه	72	گسترش نهایی Final extension	1	2

توالی پرایمرها برای ژن مدنظر در جدول شماره چهار ارائه شده است.

استخراج TG: تقریباً ۰/۵ گرم (۵۰۰ میلی‌گرم) از بافت چربی احشایی جدا شد. سپس معادل یک میلی‌لیتر ایزوپروپانول به هر میکروتیوپ اضافه شد و با استفاده از سواپ پلاستیکی، بافت چربی احشایی داخل میکروتیوپ فشرده شد و تا قطعه‌قطعه کردن و متلاشی شدن کامل بافت برای تسهیل هموژیناسیون این کار ادامه پیدا کرد. در ادامه، میکروتیوپ‌ها برای جداسازی بافت‌ها به مدت یک دقیقه به وسیله دستگاه هموژنایز و با قدرت ۵۰۰۰ Hz هموژنیزه شدند (HETYCH، مدل UP1000H). پس از آن میکروتیوپ‌ها به مدت پنج دقیقه و با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند تا لایه رویی آن‌ها تفکیک شود. در نهایت این لایه برای سنجش TG روی دستگاه اتو آنالیزور استفاده شد (مدل BT3000) (۲۱).

جدول ۴- توالی پرایمرها برای ژن های HIG2 و TBP

Table 4. Sequence of Primers for HIG2 and TBP Genes

Name	Sequence
HIG2	F:5-CATGTTGACCCTGCTTTCCAT-3 R: 5-GCTCTCCAGTAAGCCTCCCA-3
TBP	F: CAGCCTTCCACCTTATGCTC R: TTGCTGCTGCTGTCTTTGTT

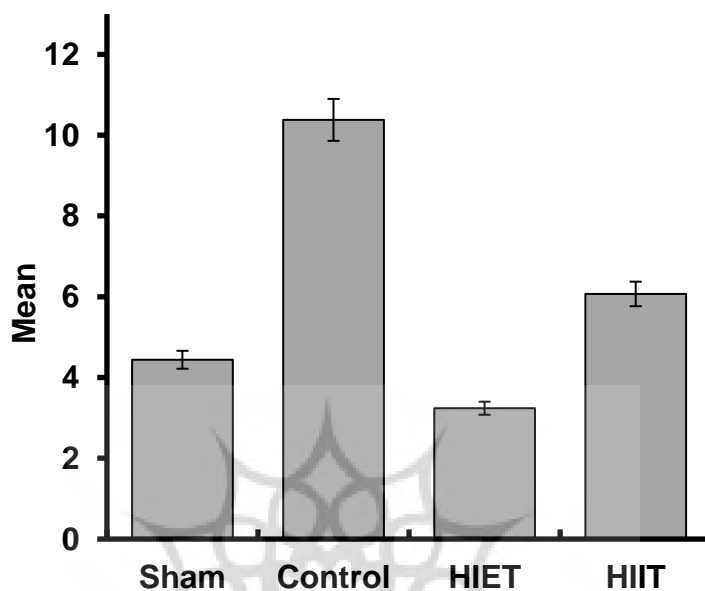
برای تعیین چگونگی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. با توجه به طبیعی نبودن توزیع داده‌ها از آزمون‌های ناپارامتری کروسکال والیس و یو-من-ویتنی برای آزمون فرضیه‌های پژوهش استفاده شد. داده‌ها با نرم‌افزار اس.پی.اس.اس^۱ نسخه ۲۲ در سطح معناداری ($P < 0.05$) تحلیل شدند.

این پژوهش در کمیته اخلاق تحقیقاتی علوم ورزشی و براساس انطباق با استانداردهای اخلاقی در تحقیقات وزارت علوم با کد ir.ssri.rec.1397.331 تأیید شد.

نتایج

نتایج نشان داد تفاوت معناداری در میزان بیان ژن HIG2 بین گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل وجود نداشت؛ بر همین اساس افزایش معناداری در میزان بیان ژن HIG2 صرفاً در گروه کنترل ($P = 0.039$) در مقایسه با گروه شم مشاهده شد (شکل شماره یک).

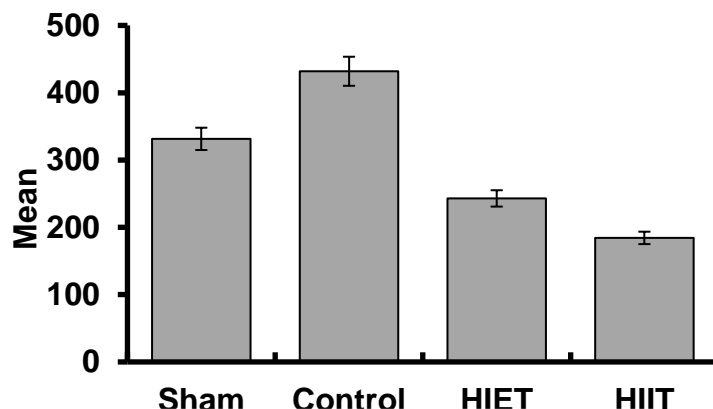
پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی



شکل ۱- تغییرات میانگین بیان ژن HIG2

Figure 1 - Mean Changes in the Expression of HIG2

همچنین تحلیل داده‌ها در شکل شماره دو تفاوت معناداری را در میزان TG بافت چربی احشایی در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم نشان داد ($P = 0.001$). براساس نتایج شکل شماره دو، تفاوت معناداری در میزان محتوای TG بین گروه کنترل و تمرین استقامتی کم‌شدت ($P = 0.001$) و بین گروه کنترل و تمرین تناوبی شدید ($P = 0.001$) مشاهده شد. علاوه بر این، تفاوت معناداری در میزان محتوای TG بین تمرین استقامتی کم‌شدت و تمرین تناوبی شدید مشاهده شد ($P = 0.003$).



شکل ۲- تغییرات میانگین مقادیر TG بافت چربی احشایی
Figure 2 - Mean Changes in the Visceral Fat of TG

بررسی‌ها نشان داد تفاوت معناداری در میزان وزن گروه‌های مختلف وجود داشت ($P = 0.001$). براساس نتایج درج‌شده در جدول شماره پنج، در بین دو گروه تجربی تمرینی، تنها میانگین وزن رت‌های گروه تمرین استقامتی کم‌شدت کاهش معناداری یافت ($P = 0.001$)؛ درحالی‌که این میانگین در گروه تمرین تناوبی شدید تغییر معناداری نداشت ($P = 0.005$). همچنین میانگین وزن گروه کنترل و گروه شم در طی این دوره افزایش معناداری یافت ($P = 0.001$).

جدول ۵- مقایسه وزن رت‌ها قبل و بعد از تمرین

Table 5 - Comparison of Rat Weight Before and After Training

p	t	df	Mean±SD		گروه‌ها Groups
			پس از تمرین After training	پیش از تمرین Before training	
0.001*	-10.60	9	418.00±8.76	391.90±8.73	شم Sham
0.001*	-12.58	9	455.11±15.97	420.00±14.88	کنترل Control
0.001*	4.91	9	376.67±29.36	383.89±30.79	تمرین استقامتی کم‌شدت HIET
0.054	-2.25	9	404.78±11.07	401.00±12.76	تمرین تناوبی شدید HIIT

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

* Significant Difference Compared to Before Training ($P < 0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد فقط بین گروه شم و گروه کنترل در میزان بیان ژن HIG2 بافت چربی احشایی رت‌های نر مبتلا به NAFLD تفاوت معنادار وجود داشت، اما بین سایر گروه‌ها تفاوتی مشاهده نشد؛ درحالی‌که در گروه کنترل افزایش معناداری در مقادیر HIG2 مشاهده شد؛ بنابراین با هشت هفته تمرین HIIT و LIET همراه با رژیم غذایی پرچرب در مقادیر HIG2 بافت چربی احشایی رت‌های مبتلابه NAFLD تغییری معنادار مشاهده نشد؛ با وجود این در سطوح TG بافت چربی احشایی مبتلایان به NAFLD کاهش معناداری در هر دو گروه تمرینی مشاهده شد. دایستفانو و همکاران (۱۸) دریافتند که HIG2 با مهار لیپولیز می‌تواند رسوب چربی را در آدیپوسیت‌ها افزایش دهد و بنابراین، بلوکه شدن مسیر پروتئین HIG2 می‌تواند موجب کاهش چربی احشایی، وزن و همچنین بهبود تحمل گلوکز شود. موتا و همکاران در پژوهش حیوانی خود بیان کردند ۱۲ هفته تمرینات HIIT همراه با رژیم غذایی پرچرب باعث کاهش قطر آدیپوسیت‌ها، TG و استئاتوز کبدی شد. راسیل^۱ و همکاران (۲۳) پژوهشی با عنوان «اثرات تمرینات HIIT و LIET بر میزان لیپید و آدیپونکتین در زنان جوان چاق» انجام دادند. نتایج نشان داد تمرینات HIIT به‌طور مثبت فاکتورهای لیپید همچون TG، وزن و آدیپونکتین را در دختران چاق نوجوانان کاهش می‌دهند و به بهبود حساسیت انسولین منجر می‌شوند. چوآ و همکاران (۱۹) پژوهشی درباره بررسی تأثیرات رژیم غذایی و فعالیت بدنی و همچنین ترکیب هم‌زمان رژیم غذایی و فعالیت بدنی انجام دادند. آن‌ها به این نتایج رسیدند که کاهش معناداری در مقادیر چربی احشایی، وزن بدن، میزان سرمی لپتین، آزمودن تحمل انسولین، درجه استئاتوز، TG، آنزیم ALT و کلسترول مشاهده شد، ولی این کاهش در گروهی که هم‌زمان از محدودیت رژیم غذایی و تمرین ورزشی استفاده می‌کردند، بیشتر بود.

بیشتر پژوهش‌های انجام گرفته بر پروتکل‌های تمرینی با شدت کم تا متوسط و متابولیسم لیپیدها، بر روند تغییرات آنزیم‌ها، بیان ژن‌ها و تغییرات توده بدن و وزن متمرکز شده است (۲۴). تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج پژوهش‌ها می‌تواند به عواملی همچون شدت و مدت تمرین، آمادگی جسمانی شرکت‌کنندگان، وراثت و جنسیت مرتبط باشد (۲۵). نتایج پژوهش حاضر نشان داد در مقایسه بین پروتکل‌های تمرینی استقامتی کم‌شدت و تناوبی شدید تفاوت معناداری در مقادیر HIG2 مشاهده نشد که این امر می‌تواند به دلیل استفاده از رژیم غذایی پرچرب در زمان تمرین در مقایسه با سایر پژوهش‌ها باشد که از رژیم غذایی کم‌چرب استفاده کرده بودند (۹). همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده کاهش معنادار TG در هر دو گروه تمرینی بود. بیان ژن HIG2 هم در زمان رژیم غذایی

1. Racil

2. Cho

پرچرب و هم در زمان گرسنگی طولانی مدت می تواند موجب افزایش محتوای TG شود (۹). افزایش بیان ژن HIG2 می تواند به واسطه ارتباطش با LD نقش زیادی در شرایط هایپوکسی و تجمع بافت چربی و استئاتوز کبدی داشته باشد؛ به ویژه زمانی که در شرایط هایپوکسی و استئاتوز کبدی روی LD قرار می گیرد و این امر باعث کاهش اثربخشی اکسیداسیون FA و موجب تجمع TG در آدیپوسیت ها می شود. بروز این وضعیت از طریق ایجاد چرخه ای معیوب باعث تشدید تجمع TG و اثرات آن خواهد شد (۸، ۲۶، ۲۷). مطابق انتظار، هرگونه کاهش میزان بیان HIG2 mRNA باعث کاهش هم زمان میزان زیادی LDs و رسوب TG در آدیپوسیت ها می شود (۹). HIG2 می تواند مشابه با سایر تنظیم کننده های منفی لیپولیز به وسیله تعامل با مهارکننده های ATGL یا سایر لیپازها در کبد عمل کند. از دیگر مکانیسم های احتمالی HIG2 در کاهش لیپولیز LD می توان به تعامل مستقیم آن با آدیپونوترین اشاره کرد که مشابه با ATGL در کبد عمل می کند (۱۰). در بافت آدیپوز افزایش بیان پری لیپین دو موجب تعامل محدودیت هورمون های لیپازی همچون ATGL با LD می شود (۲۸). یافته ها نشان داده اند HIG2 به عنوان یک پروتئین وابسته به LD می تواند عملکرد فیزیولوژیک مهمی برای پیشرفت و تجمع TG داشته باشد. HIG2 به واسطه ارتباطش با LD نقش زیادی در شرایط هایپوکسی و استئاتوز کبدی دارد (۲۹)، اما نتایج پژوهش حاضر حاکی از کاهش TG و کاهش نیافتن معنادر HIG2 در هر دو پروتکل تمرینی بود. احتمالاً کاهش TG در هر دو پروتکل تمرینی پژوهش حاضر ناشی از مسیرها و مکانیسم های دیگری همچون مسیر بیان پروتئین هایی مانند پروتئین LD و FSP27 بوده است. گزارش شده است که FSP27 در ذخیره سازی انرژی در بافت چربی سفید موش نقش دارد و مهار بیان آن باعث تکه تکه شدن قطرات چربی خواهد شد (۳۰). همچنین در پژوهش حاضر کاهش TG در گروه پروتکل تمرینی HIIT مستقل از کاهش وزن بود.

در این پژوهش کاهش معنادر در میزان محتوای TG احشایی در گروه های تمرین پرشدت و کم شدت در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت. اکسیداسیون چربی ها در عضلات و میتوکندری هپاتوسیت ها و سوخت و ساز بیشتر ذخایر چربی ناحیه احشایی و در نهایت توزیع مجدد ذخایر چربی در بدن باعث کاهش TG بافت چربی احشایی شد؛ در نتیجه کاهش آزادسازی FA به سمت کبد و کاهش رسوب چربی در کبد نیز به افزایش اکسیداسیون چربی در کبد و بهبود بیماری NAFLD منجر شد؛ بنابراین یکی از شاخص های دقیق و مؤثر در بهبود کبد چرب اشاره به تغییرات در محتوای TG کبدی است که با تغییرات در TG بافت چربی احشایی همسو بود. درباره این یافته، نتایج پژوهش تراپ و همکاران (۳۱) نشان داد با وجود کاهش معنادر بیان ژن HIG2 و محتوای TG در گروه های مختلف تمرینی با شدت زیاد، تغییرات کاهش وزن قابل قبولی در این زمینه مشاهده نشد. همچنین در پژوهشی که هوگتون و همکاران (۱۱) در زمینه اثر ورزش و بیماری NAFLD انجام دادند، نتایج نشان داد ۱۲

هفته تمرین درمانی باعث کاهش ۱۶ درصدی TG هیپاتوسیت‌ها مستقل از کاهش وزن بیماران شد. نتایج بیانگر ارتباط نزدیک بین چربی احشایی و TG هیپاتوسیت‌ها بود و کاهش TG و چربی احشایی مستقل از کاهش وزن بود. همچنین در پژوهش‌های پیشین نشان داده شد که کاهش TG می‌تواند ناشی از کاهش پروتئین انتقال‌دهنده تری‌گلسیرید میکروزومی^۱ (MTP) باشد (۳۲). MTP نقش اساسی و مرکزی در تنظیم ترشح TG و VLDL ایفا می‌کند (۳۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد پس از هشت هفته، در گروه‌های شم و کنترل تغییرات افزایش وزن معناداری مشاهده شد. همچنین در گروه تمرینی استقامتی کم‌شدت تغییرات کاهش وزن معنادار بود که این امر می‌تواند بیانگر فعال شدن مسیر لیپولیزی و افزایش بتا اکسیداسیون لیپیدها باشد (۹)، ولی در گروه تمرینات تناوبی شدید تغییرات وزن معنادار نشد. علت این امر می‌تواند این باشد که به دنبال تمرینات پرشدت در این پژوهش در مقایسه با تمرینات کم‌شدت استقامتی، ترشح هورمون‌های سمپاتیکی باعث فعال شدن مسیر گلیگولیز بی‌هوازی شده است و مسیر لیپولیزی را بلوکه کرده است (۹). در این باره در پژوهشی بودو^۲ و همکاران (۳۳) تأثیر تمرینات HIIT بر مردان دیابتی نوع دو را بررسی کردند. آن‌ها دریافتند پس از هشت هفته تمرینات HIIT هیچ تغییری در وزن رخ نداد؛ با این حال، بیشتر شرکت‌کنندگان، به میزان ۴۴ درصد کاهش بافت چربی احشایی و توده بدنی را بعد از تمرینات HIIT نشان دادند.

مارسینکو^۳ و همکاران (۳۴) به بررسی اثرات تمرینات اینتروال شدید بر بهبود حساسیت انسولینی بافت کبد و چربی پرداختند. آن‌ها تأثیر شش هفته تمرینات HIIT بر موش‌های چاق را بررسی کردند. نتایج نشان داد هم‌زمان با مصرف غذای پرچرب و تمرینات HIIT، با وجود افزایش مصرف غذا، این امر باعث کاهش میزان گلوکز خون و TG، افزایش حساسیت انسولینی و افزایش میزان اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها می‌شود. نکته درخور توجه آن بود که همه این تغییرات مستقل از تغییرات وزن موش‌ها رخ داد. به نظر می‌رسد این گونه تمرینات باعث افزایش فسفوریلاسیون و مهار آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز (ACC) توسط فعالیت پروتئین کیناز وابسته به AMP (AMPK) در عضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد می‌شوند؛ بنابراین مهار ACC باعث تغییر در تنظیم متابولیسم اسید چرب محتوای کبدی، التهاب بافت چربی و مقاومت انسولینی می‌شود؛ با این حال، این پژوهشگران اعلام کردند که همچنان مکانیسم‌های تأثیر تمرینات HIIT بر این مسیرها به خوبی شناسایی نشده‌اند. در این پژوهش بر موش‌های صحرایی مبتلا به NAFLD مطالعه شد، اما هدف بررسی تغییرات بافت چرب در مدل‌ها و شدت‌های تمرینی مختلف بود؛ بنابراین در این پژوهش محدودیت‌هایی وجود دارد که شامل اندازه‌گیری نشدن برخی شاخص‌های مرتبط با NAFLD در بافت کبدی بود.

1. Microsomal Triglyceride Transfer Protein
2. Boudou
3. Marcinko

نتیجه گرفته می‌شود که هشت هفته پروتکل تمرینی LIET و HIIT همراه با رژیم غذایی پرچرب بر کاهش بیان ژن HIG2 بافت چربی احشایی تأثیرگذار نیست، ولی هر دو پروتکل تمرینی LIET و HIIT موجب کاهش TG بافت چربی احشایی و کاهش توده بدنی می‌شوند. در مجموع به نظر می‌رسد استفاده از پروتکل تمرینی HIIT برای بیماری‌های کبدی همچون NAFLD و کاهش TG بافت چربی احشایی و کاهش توده بدنی، اگر همراه با کنترل رژیم غذایی باشد، بهترین روش توصیه می‌شود؛ بنابراین با توجه به ویژگی‌های پروتکل تمرینی HIIT همچون زمان کمتر این نوع تمرینات و هزینه مصرفی انرژی کمتر این گونه تمرینات در بهبود بیماران NAFLD، می‌تواند فاکتوری ویژه و مهم برای انگیزه‌دادن به این نوع بیماران باشد.

پیام مقاله

پروتکل‌های تمرینی HIIT و LIET به طور مستقل از مسیر HIG2 می‌توانند میزان تری‌گلیسیرید بافت چربی احشایی و توده بدنی در رت‌های مبتلا به NAFLD را کاهش دهند و در نتیجه، بیماری کبد چرب را بهبود بخشند. همچنین، با توجه به اهداف این مطالعه، پروتکل تمرینی HIIT در مقایسه با LIET ارزشمندتر به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل رساله دکتری در رشته بیوشیمی ورزشی در دانشگاه شهرکرد است. از همکاری عزیزانی که ما را در انجام‌دادن این پژوهش یاری کردند، سپاس‌گزاریم.

منابع

1. Gramlich T, Kleiner DE, McCullough AJ, Matteoni CA, Boparai N, Younossi ZM. Pathologic features associated with fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Hum Pathol.* 2004;35(2):196-9.
2. Amanat S, 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. *Iranian J Nutr Sci Food Technol.* 2018;13(1):1-10. (In Persian).
3. Stephen S, Baranova A, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease and bariatric surgery. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;6(2):163-71.
4. Farese Jr RV, Walther TC. Lipid droplets finally get a little RESPECT. *Cell.* 2009;139(5):855-60.

5. Turro S, Ingelmo-Torres M, Estanyol JM, Tebar F, Fernandez MA, Albor CV, et al. Identification and characterization of associated with lipid droplet protein 1: A novel membrane-associated protein that resides on hepatic lipid droplets. *Traffic*. 2006;7(9):1254-69.
6. Li H, Song Y, Zhang LJ, Gu Y, Li FF, Pan SY, et al. LSDP5 enhances triglyceride storage in hepatocytes by influencing lipolysis and fatty acid beta-oxidation of lipid droplets. *PLoS One*. 2012;7(6):e36712.
7. Brasaemle DL, Subramanian V, Garcia A, Marcinkiewicz A, Rothenberg A. Perilipin A and the control of triacylglycerol metabolism. *Mol Cell Biochem*. 2009;326(1-2):15-21.
8. Sahini N, Borlak J. Recent insights into the molecular pathophysiology of lipid droplet formation in hepatocytes. *Prog Lipid Res*. 2014;54:86-112.
9. 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.
10. Quiroga AD, Lehner R. Liver triacylglycerol lipases. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(5):762-9.
11. 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 e3.
12. Shaw K, Gennat H, O'Rourke P, Del Mar C. Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(4):CD003817.
13. 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.
14. Motta VF, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. High-intensity interval training beneficial effects in diet-induced obesity in mice: adipose tissue, liver structure, and pancreatic islets. *Int J Morphol*. 2016;34(2):684-91.
15. 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.
16. 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.
17. 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 Occup Physiol*. 1996;72(5-6):460-7.
18. DiStefano MT. A role for the lipid droplet protein HIG2 in promoting lipid deposition in liver and adipose tissue [Ph.D. dissertation]. [Massachusetts]: University of Massachusetts Medical School; 2016.
19. 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.

20. 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, Md). 2015;23(5):1000-6.
21. Lofgren L, Forsberg GB, Stahlman M. The BUME method: a new rapid and simple chloroform-free method for total lipid extraction of animal tissue. *Sci Rep*. 2016;6:27688.
22. 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 Pharmacol*. 2018;826:75-84.
23. Racil G, Ben Ounis O, Hammouda O, Kallel A, Zouhal H, Chamari K, et al. Effects of high vs. moderate exercise intensity during interval training on lipids and adiponectin levels in obese young females. *Eur J Appl Physiol*. 2013;113(10):2531-40.
24. Moosavi-Sohroforouzi A, 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. (In Persian).
25. Nikroo H, Nematy M, Sima H, AttarzadeHosseini S, Pezeshki M, Esmaeilzadeh A, et al. Therapeutic effects of aerobic exercise and low-calorie diet on nonalcoholic steatohepatitis. *Govareh*. 2013;17(4):245-53. (In Persian).
26. Byrne CD. Hypoxia and non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond)*. 2009;118(6):397-400.
27. 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. *FASEB J*. 2010;24(11):4443-58.
28. Shepherd SO, Cocks M, Tipton KD, Ranasinghe AM, Barker TA, Burniston JG, et al. Sprint interval and traditional endurance training increase net intramuscular triglyceride breakdown and expression of perilipin 2 and 5. *J Physiol*. 2013;591(3):657-75.
29. Okumura T. Role of lipid droplet proteins in liver steatosis. *J Physiol Biochem*. 2011;67(4):629-36.
30. Nishino N, Tamori Y, Tateya S, Kawaguchi T, Shibakusa T, Mizunoya W, et al. FSP27 contributes to efficient energy storage in murine white adipocytes by promoting the formation of unilocular lipid droplets. *J Clin Invest*. 2008;118(8):2808-21.
31. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(4):684-91.
32. Chapados NA, Seelaender M, Levy E, Lavoie JM. Effects of exercise training on hepatic microsomal triglyceride transfer protein content in rats. *Horm Metab Res*. 2009;41(4):287-93.
33. 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.

34. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol Metab.* 2015;4(12):903-15.

استناد به مقاله

حیدری شهرضا احمد، اعظمیان جزی اکبر، بنی طالبی ابراهیم، پالیزبان عباسعلی. مقایسه تأثیر تمرین استقامتی با شدت کم و تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن HIG2 و محتوای تری گلیسیرید چربی احشایی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۴۰۰؛ ۱۳(۵۰): ۸۷-۱۱۰. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2019.6597.1830

Heidari Shahreza A, Azamian Jazi A, Banitalebi E, Palizban A. A. Effect of Low-Intensity Endurance Training and High-Intensity Interval Training on HIG2 Gene Expression and Visceral Adipose Tissue Triglyceride Content in NAFLD Rats. *Sport Physiology.* Summer 2021; 13 (50): 87-110. (In Persian). Doi: 10.22089/SPJ.2019.6597.1830