

## بیان نسبی ژن‌های کلیدی متابولیسم لیپید به دنبال مصرف رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی در کبد موش صحرایی

مریم ابراهیمی<sup>۱</sup>، رزیتا فتحی<sup>۲</sup>، زریخت انصاری پیرسرای<sup>۳</sup>، الهه طالبی گرکانی<sup>۴</sup>

۱. دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشگاه مازندران

۲. دانشیار بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشگاه مازندران\*

۳. دانشیار علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴. دانشیار بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشگاه مازندران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۲۷

### چکیده

به منظور بررسی سوخت‌وساز کبدی لیپیدها، ۴۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی در دو گروه با رژیم غذایی طبیعی و پرچرب قرار گرفتند. هر گروه به سه زیرگروه کنترل، گروه با تمرین هوازی متوسط و گروه با تمرین هوازی شدید تقسیم شد. پس از هشت هفته تمرین، بیان نسبی ژن‌های گیرنده X فارنزوید (FXR)، گیرنده فعال شده با تکثیر پرواکسیزوم آلفا (PPAR- $\alpha$ ) و پروتئین پیوندی عنصر تنظیمی استرول ۱c (SREBP-1c) در بافت کبد مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین، مقادیر پلاسمایی نیم‌رخ لیپید و آنزیم‌های آمینوترانسفراز برای مطالعات بیشتر اندازه‌گیری شد. داده‌ها نیز توسط آزمون تحلیل واریانس دوسویه و در نرم‌افزار اس.پی.اس. نسخه ۲۲، در سطح معناداری ۹۵ درصد تجزیه و تحلیل گردید. بر مبنای نتایج، رژیم غذایی پرچرب باعث اختلال لیپید و احتمالاً آسیب کبدی شده و تنها بیان ژن SREBP-1c را افزایش داده است. همچنین، با وجود این که تمرین اثری بر بیان ژن FXR نداشته است؛ اما بیان PPAR- $\alpha$  مستقل از شدت تمرین در گروه‌های با رژیم غذای پرچرب را افزایش داده است. نتایج حاکی از آن هستند که بیان SREBP-1c در گروه با تغذیه طبیعی با تمرین شدید کاهش پیدا کرده است. به طور کلی، اختلال لیپید و تجمع چربی در بافت کبد می‌تواند از عواقب مصرف رژیم‌های پرچرب باشد که احتمالاً از طریق افزایش بیان SREBP-1c که منجر به فعال شدن مسیرهای لیپوژنیک می‌شود، صورت می‌گیرد؛ اگرچه مداخلات تمرینی این پژوهش بیان ژن‌ها را تغییر داد؛ اما اثر مشهودی بر پروفایل لیپید و آمینوترانسفرازها نداشت.

**واژگان کلیدی:** رژیم غذایی پرچرب، تمرین هوازی، FXR، PPAR- $\alpha$ ، SREBP-1c

## مقدمه

اختلالات و بیماری‌های متابولیک نظیر چاقی، دیابت، اختلالات لیپید و کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) با تغذیه، فعالیت بدنی و مکانیسم‌های زمینه‌ای حفظ تعادل متابولیک در ارتباط نزدیک هستند. دریافت میزان کالری مازاد و کم‌حرکی با برهم‌زدن تعادل مسیرهای لیپوژنیک و لیپولیتیک در کبد منجر به تجمع لیپیدها، به‌ویژه تری‌گلیسریدها (TG<sup>۲</sup>) می‌شود (۱).

کنترل مسیرهای متابولیسم لیپید برعهده گروهی از عوامل رونویسی شامل: گیرنده X فارنزوید (FXR<sup>۲</sup>)، گیرنده فعال‌شده با تکثیر پرواکسیزوم آلفا (PPAR- $\alpha$ <sup>۴</sup>) و پروتئین پیوندی عنصر تنظیمی استرول (SREBP-1c<sup>۵</sup>) است. گیرنده‌های هسته‌ای نظیر FXR و PPAR- $\alpha$  از طریق فعال‌سازی و یا سرکوب عوامل درگیر در سنتز و یا اکسیداسیون لیپید در بافت‌ها، یکپارچگی متابولیسم لیپید را تنظیم می‌کنند (۲،۳)؛ به‌عنوان مثال، موش‌های فاقد ژن FXR و PPAR- $\alpha$ ، افزایش سطوح پلاسمایی کلسترول و TG را نشان می‌دهند (۴،۵). از سوی دیگر، SREBP-1c از طریق تأثیر بر عوامل لیپوژنیک نظیر اسید چرب سینتاز (FAS<sup>۶</sup>)، استیل کوآکربوکسیلاز (ACC<sup>۷</sup>) و استروئیل کوآکسچوراز یک (SCD1<sup>۸</sup>)، در تنظیم متابولیسم اسیدهای چرب و کلسترول دخالت می‌کند (۷،۶).

در کبد، FXR با افزایش ناقل ABCG 5/8<sup>۹</sup> سنتز شده، برداشت کلسترول را مهار نموده و اضافه‌بار کلسترول را بهبود می‌بخشد (۸). همچنین، FXR فعالیت لیپوپروتئین لیپاز (LPL<sup>۱۰</sup>) را افزایش داده و با بالابردن بیان آپولیپوپروتئین CII<sup>۱۱</sup> (Apo CII<sup>۱۱</sup>)، هیدرولیز TG را افزایش می‌بخشد. علاوه‌براین، FXR بیان آپولیپوپروتئین آ (Apo A) را که مقادیر بالای آن از شاخص‌های بیماری‌های عروق کرونر می‌باشد، مهار می‌کند (۹). همچنین، FXR بیان PPAR- $\alpha$  که از تنظیم‌کننده‌های کلیدی اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌باشد و نیز ژن‌های هدف آن مانند کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز I (CPT I<sup>۱۲</sup>) را

1. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
2. Triglycerides
3. Farnesoid X Receptor
4. Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha
5. Sterol Regulatory Element Binding Protein 1c
6. Fatty Acid Synthase
7. Acetyl Coa Carboxylase
8. Stearoyl Coa Desaturase 1
9. Atp-Binding Cassette G
10. Lipoprotein Lipase
11. Apo-Lipoprotein CII
12. Carnitine Palmitoyl Transferase I

افزایش داده و اکسیداسیون اسیدهای چرب را بالا می‌برد؛ درحالی‌که با مهار SREBP-1c، سنتز لیپیدها را کاهش می‌دهد (۸،۱۰،۱۱).

مطالعات نشان داده‌اند که رژیم‌های غذایی پرچرب - پرکلسترول، مقادیر لیپوپروتئین کم‌چگال (LDL)، کلسترول و TG پلاسما را افزایش داده (۱۲) و منجر به تجمع لیپید و اختلال متابولیسم چربی‌ها می‌شوند (۱۳)؛ درحالی‌که تمرین و فعالیت بدنی، میزان اکسیداسیون کل بدن را افزایش داده و از این طریق انرژی لازم برای عضلات را فراهم کرده (۱۴) و نیم‌رخ لیپید را بهبود می‌بخشد (۱۵)؛ هرچند برخی از مطالعات، عدم تغییر نیم‌رخ لیپید به‌دنبال هشت هفته تمرین هوازی را گزارش کرده‌اند (۱۶). در این ارتباط، عنوان شده است که مقادیر بالای ترنس آمینازها، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) از شاخص‌های قوی افزایش مقدار چربی کبد و آسیب‌های سلول‌های کبدی می‌باشند (۱۷،۱۸).

برای به‌دست آوردن اطلاعات بیشتر در زمینه کنترل تعادل متابولیسم لیپید، به‌ویژه به‌دنبال تمرینات گوناگون که اطلاعات کمی در این رابطه در دست می‌باشد، نیاز به مطالعه ژن‌ها و مسیرهای متابولیک در شرایط مختلف وجود دارد؛ بنابراین، در پژوهش حاضر سعی شده است با بررسی و اندازه‌گیری عوامل تشخیصی و بیان ژن‌های کلیدی در شرایط تغذیه‌ای مختلف و با تداخل تمرینات هوازی که با توجه به پژوهش‌های قبلی باعث تغییرات متابولیک به سمت فنوتیپ اکسایشی‌تر می‌شوند (۱۹)، درک بهتری از مسیرهای متابولیک به‌دست آید.

### روش پژوهش

جهت انجام پژوهش، ۴۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین سنی شش هفته از انستیتو پاستور آمل خریداری شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه حیوانی دانشکده تربیت‌بدنی دانشگاه مازندران، با چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲، رطوبت ۴۵-۵۵ درصد و دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد در قفس‌های پلی‌کربنات قرار گرفتند. پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و دسترسی آزاد به آب و غذای طبیعی، موش‌ها به شش گروه کنترل با رژیم غذایی طبیعی (CN, n=6)، کنترل با رژیم غذایی پرچرب (CH, n=6)، تمرین هوازی متوسط با رژیم غذایی طبیعی (N1, n=8)، تمرین هوازی متوسط با رژیم غذایی پرچرب (H1, n=8)، تمرین هوازی شدید با رژیم غذایی طبیعی (N2, n=8) و تمرین هوازی شدید با رژیم غذایی پرچرب (H2, n=8) تقسیم شدند.

1. Low Density Lipoprotein
2. Aspartate Aminotransferase
3. Alanine Aminotransferase

چهار هفته قبل از شروع برنامه تمرینی، موش‌های گروه N تحت رژیم غذایی طبیعی (درصد کالری به شکل چربی) (استفاده از غذای استاندارد موش) و موش‌های گروه H تحت رژیم غذایی پرچرب (۵۶ درصد کالری به شکل چربی) (شامل: پودر غذای استاندارد موش (۳۶۵ گرم بر کیلوگرم)، چربی حیوانی (۳۱۰ گرم بر کیلوگرم)، کازئین (۲۵۰ گرم بر کیلوگرم)، کلسترول (۱۰ گرم بر کیلوگرم)، ویتامین‌ها و مواد معدنی (۶۰ گرم بر کیلوگرم)، DL-متیونین (سه گرم بر کیلوگرم)، مخمر (یک گرم بر کیلوگرم) و کلرید سدیم (یک گرم بر کیلوگرم) (۲۰) که توسط شرکت به پرور بابل تولید گردید) قرار گرفتند. در ادامه، به منظور آشنایی با شرایط تمرینی، موش‌های صحرایی گروه‌های تجربی، روزانه به مدت پنج تا ۱۰ دقیقه با سرعت پنج تا هشت متر در دقیقه بر روی نوار گردان می‌دویدند. در طول دو هفته، سرعت و زمان دویدن گروه‌ها به تدریج افزایش پیدا کرد تا به ۶۰ دقیقه دویدن با سرعت‌های ۲۵ (برای گروه‌های N1 و H1) و ۳۵ متر در دقیقه (برای گروه‌های N2 و H2) رسید. این برنامه تمرینی طی پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته تکرار شد.

۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (بین هشت تا ۱۲ صبح هر روز) و پس از چهار ساعت ناشتایی، موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. نمونه‌های خونی به طور مستقیم از بطن راست موش‌ها گرفته شده و در لوله‌های حاوی ای‌دی‌تی‌ای<sup>۱</sup> جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خونی به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسما حاصل به آزمایشگاه فرستاده شد. پس از بازکردن شکم موش‌ها در شرایط استریل، بافت کبد جدا گشته و پس از شستشو با نرمال سالین در تیوب‌های فاقد RNase-DNase جمع‌آوری گردید و به فریز -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گشت.

در ادامه، مقادیر پلاسمایی کلسترول، لیپوپروتئین کم‌چگال (LDL)، لیپوپروتئین پرچگال (HDL)، تری‌گلیسرید (TG)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در آزمایشگاه پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی اندازه‌گیری گردید.

به منظور بررسی بیان نسبی ژن‌ها، سه نمونه بافتی از هر گروه (۲۱) به طور تصادفی انتخاب شد و به آزمایشگاه فیزیولوژی مولکولی دانشکده علوم دامی ساری منتقل گشت. شایان ذکر است که پرایمرهای مخصوص موش برای ژن‌های FXR، PPAR- $\alpha$  و SREBP-1c با توجه به مطالعه کوت<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۳) طراحی گردید (جدول شماره یک) (۲۲).

1. EDTA; Ethylenediaminetetraacetic Acid

2. Cote

۵۰ تا ۸۰ میلی‌گرم از بافت کبد با نیتروژن مایع هوموژنیزه شد و RNA توسط کیت بایونیر<sup>۱</sup> (آکازول) و طبق دستورالعمل آن استخراج گردید. به منظور جلوگیری از آلودگی‌های ژنومیک، ۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج شده توسط کیت دی‌ان‌ایز<sup>۲</sup> شرکت ترموسایننتیفیک<sup>۳</sup> پاک‌سازی شده و cDNA توسط پرایمر اولیگو (دی‌تی)<sup>۴</sup> و کیت RT شرکت بایونیر ساخته شد. بیان ژن نسبی نیز با استفاده از کیت سایبرگرین شرکت کیاژن<sup>۵</sup> و در دستگاه ریئل‌تایم-پی‌سی‌آر<sup>۶</sup> ۹۶ چاهکی شرکت اپلاید بایوسستم<sup>۷</sup> اندازه‌گیری گشت. شایان ذکر است که از  $\beta$  actin به عنوان ژن معتبر مرجع استفاده گردید و از روش لیواک ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) برای آنالیز دیتا بهره گرفته شد.

جدول ۱- توالی پرایمرها برای Real-time PCR

OLIGO REV	OLIGO FWD	ژن
ttctctgttctgtatgagtcaca	ccacgaccaagctatgcag	FXR
catctgtactggtgggaca	tcggaggctctgtcctc	PPAR-A
ggctgagcgatacagttcaa	tacagctggtctgggaac	SREBP-1C
aagggacttctgtacaatgca	ctggaacggtgaaggtgaca	ACTIN $\beta$

با توجه به تعداد نمونه‌ها از آزمون شاپیرو - ویلک برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. همچنین، به منظور تعیین برابری واریانس‌ها، آزمون لون مورد استفاده قرار گرفت و برای بررسی تغییرات گروهی، آزمون آنالیز واریانس دوسویه به کار گرفته شد. از آزمون توکی نیز به منظور بررسی تغییرات بین گروهی استفاده گردید. علاوه بر این، آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس<sup>۸</sup> انجام گرفت و مقدار P کوچک‌تر از (۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

## نتایج

بر اساس نتایج دریافت می‌شود که رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش ۲۸/۳۰ درصدی وزن آزمودنی‌ها شده است ( $P=0.025$ )؛ حال آن‌که تمرین اثری بر وزن آزمودنی‌های گروه‌های N ( $P=0.274$ ) و H ( $P=0.553$ ) نداشته است (جدول شماره دو).

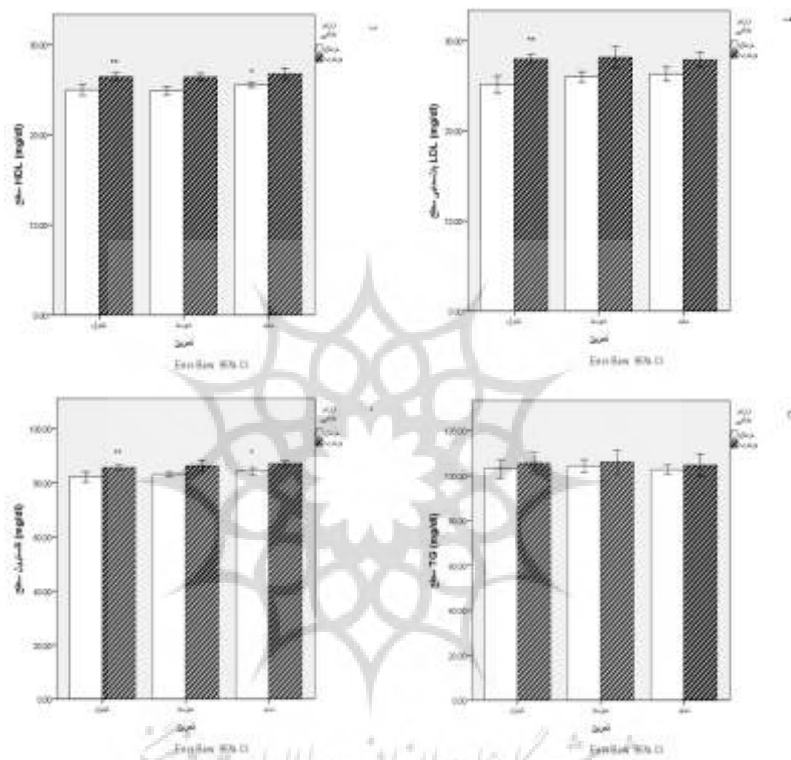
1. Baioneer
2. DNase
3. Thermo Scientific
4. Oligo (dt)
5. Qiagen
6. Real-Time PCR
7. Applied Biosystem
8. SPSS 22

جدول ۲- تغییرات وزن آزمودنی‌ها (گرم)

گروه‌ها	وزن اولیه		وزن نهایی		میزان تغییرات وزن	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
CN	۳۷۰/۳۰	۵۰/۵۵	۳۹۵/۶۹	۱۷/۵۷	۸۸/۴۴	۶۷/۹۷
CH	۲۸۷/۲۹	۸۳/۸۶	۴۱۱/۵۵	۵۰/۳۹	*۱۲۳/۳۱	۶۷/۱۱
N1	۲۹۶/۲۵	۳۶/۰۰	۴۰۱/۵۰	۳۸/۰۳	۱۰۸/۲۵	۷۵/۴۰
N2	۳۰۳/۱۸	۲۵/۰۵	۳۸۱/۱۸	۸۸/۹۸	۱۱۱/۸۲	۲۵/۸۱
H1	۲۷۶/۳۲	۷۵/۴۴	۴۴۸/۴۲	۷۵/۰۷	۱۷۲/۵۳	۲۲/۲۰
H2	۳۰۱/۳۳	۶۲/۸۸	۴۳۳/۵۴	۰۰/۷۷	۱۳۱/۶۸	۳۸/۰۸

\* افزایش وزن معنادار نسبت به گروه با رژیم غذایی طبیعی

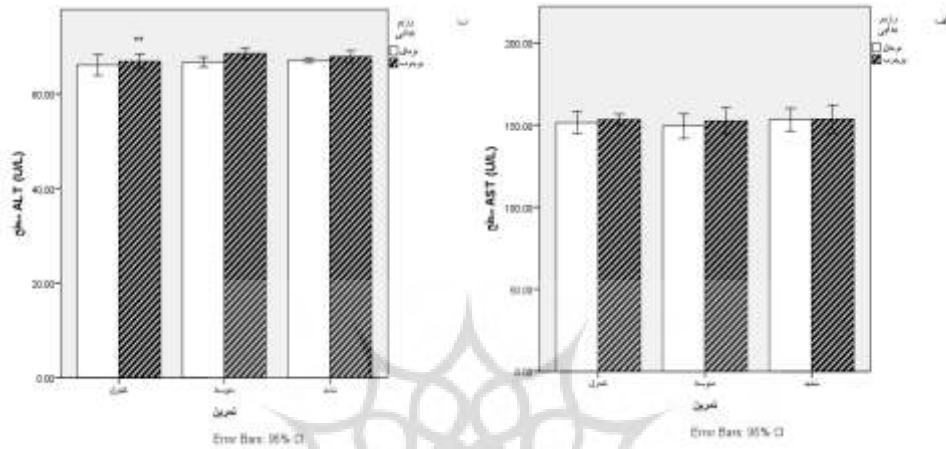
همچنین، اگرچه رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش ۱۰/۱۲ درصدی LDL ( $P=0.00001$ )، ۵/۵۲ درصدی HDL ( $P=0.00001$ ) و ۴/۱۱ درصدی کلسترول ( $P=0.00001$ ) شده است؛ اما تأثیری بر TG پلاسما نداشته است ( $P=0.13$ ). مقادیر HDL گروه‌های N1 و N2 نیز تفاوت معناداری را با گروه CN نشان نمی‌دهد؛ اما میزان HDL گروه N2 بیشتر از گروه N1 می‌باشد ( $P=0.03$ ). شایان‌ذکر است که تمرین شدید، میزان Chol در گروه N2 نسبت به گروه CN را به مقدار ۲/۶۳ درصد افزایش داده است ( $P=0.01$ ) (شکل شماره یک).



شکل ۱- سطوح پلاسمایی نیم رخ لیپید الف (LDL؛ ب HDL؛ ج TG؛ د Chol

\* اثر معنادر تمرین \*\* اثر معنادر رژیم غذایی

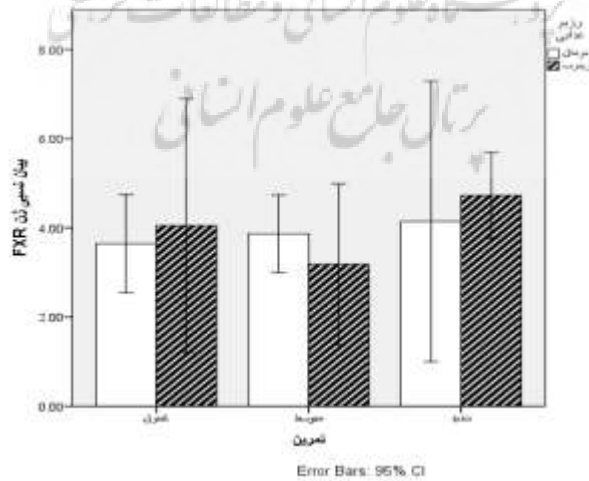
براساس نتایج، رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش معنادر سطوح پلاسمایی ALT ( $P=0.01$ ) شده است؛ اما اثر معنادر بر سطح AST نداشته است ( $P=0.45$ ). لازم به ذکر است که تمرین نتوانسته است تغییر معنادر در سطوح ALT ( $P=0.09$ ) و AST ( $P=0.7$ ) ایجاد کند (شکل شماره دو).



شکل ۲- سطوح پلاسمایی الف (AST و ب) ALT

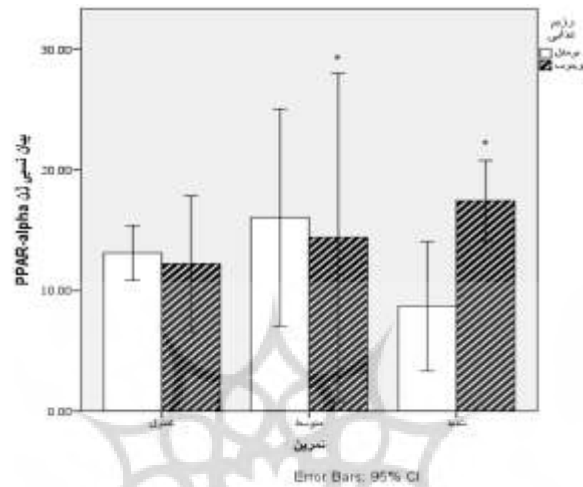
\*\* اثر معنادار رژیم غذایی پرچرب

تغییرات مشاهده شده در بیان نسبی ژن FXR با رژیم غذایی پرچرب ( $P=0.8$ )، تمرین ( $P=0.2$ ) و تداخل اثر دو عامل ( $P=0.4$ )، به لحاظ آماری معنادار نمی باشد (شکل شماره سه). همچنین، علی رغم این که رژیم غذایی پرچرب ( $P=0.1$ ) و تمرین ( $P=0.3$ ) به تنهایی تغییر معناداری را در بیان نسبی ژن PPAR- $\alpha$  ایجاد نکرده است؛ اما تمرین، مستقل از شدت، میزان بیان PPAR- $\alpha$  در گروه های H1 و H2 را افزایش داده است ( $P=0.01$ ) (شکل شماره چهار).



شکل ۳- بیان نسبی ژن FXR در کبد

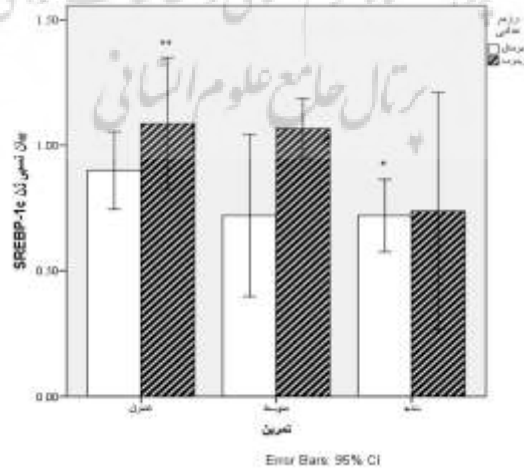




شکل ۴- بیان نسبی ژن PPAR-A در کبد

\* اثر معنادار تمرین مستقل از شدت

بر مبنای نتایج مشخص می‌شود که اثر رژیم غذایی ( $P=0.004$ ) و تمرین ( $P=0.005$ ) بر بیان نسبی ژن SREBP-1c معنادار می‌باشد؛ اما اثر متقابل رژیم و تمرین تأثیر معناداری بر بیان این ژن نداشته است ( $P=0.072$ ). همچنین، آزمون توکی بیانگر آن است که تنها اثر تمرین شدید نسبت به گروه کنترل معنادار می‌باشد ( $P=0.004$ ) (شکل شماره پنج).



شکل ۵- بیان نسبی ژن SREBP-1C در کبد

\*\* تأثیر معنادار رژیم غذایی پرچرب \* تأثیر معنادار تمرین شدید

## بحث و نتیجه گیری

هدف از پژوهش حاضر بررسی بیان نسبی ژن‌های کلیدی درگیر در متابولیسم لیپید به دنبال رژیم غذایی پرچرب و دو شدت تمرین هوازی بود که بدین منظور، علاوه بر اندازه‌گیری بیان نسبی ژن‌های موردنظر در بافت کبد، عوامل جانبی درگیر نیز مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که رژیم غذایی پرچرب استفاده‌شده در این پژوهش باعث افزایش وزن، اختلال لیپید و افزایش رهایش آنزیم ALT (شاخص افزایش مقدار چربی در کبد) در پلاسما شده است که این امر با نتایج پژوهش مارکز<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۰) همسویی دارد (۲۳). در پژوهش دیگری مشاهده شد که مصرف رژیم غذایی پرچرب با افزایش LDL، TG و کلسترول همراه می‌باشد؛ اما تغییر معناداری در سطوح HDL مشاهده نمی‌شود (۲۴). برخلاف نتایج مطالعه پیش‌رو، پژوهشگران گزارش کرده‌اند که شش هفته تمرین هوازی با ۵۰ درصد  $VO_{2max}$ ، اختلال لیپید به وجود آمده به دنبال هشت هفته رژیم غذایی پرچرب را بهبود می‌بخشد (۲۵)؛ اما برنامه تمرینی حاضر تغییر معناداری را در نیم‌رخ لیپید ایجاد نکرد. همچنین، نشان داده شده است که رژیم‌های غذایی غنی از کلسترول، سطوح کلسترول را افزایش می‌دهند؛ اما ممکن است باعث کاهش یا عدم تغییر TG شوند (۲۶). در این ارتباط، عدم تغییر TG و افزایش سطوح HDL در پژوهش حاضر می‌تواند به دلیل ترکیب رژیم غذایی، به‌ویژه نوع چربی استفاده‌شده در آن باشد؛ اما در حال، بروز تغییرات در نیم‌رخ لیپید در بیشتر مطالعات مشابه گزارش شده است. دلیل این که تمرین نتوانست باعث بهبود نیم‌رخ لیپید در این پژوهش شود نیز می‌تواند نشان‌دهنده اثر غالب رژیم غذایی و یا نوع و مدت تمرین هوازی باشد.

مطالعات نشان داده‌اند که ترنس آمینازها از قوی‌ترین پیشگوهای آسیب کبدی، گرفتگی عروق کرونر و احتمال خطر ابتلا به بیماری‌های متابولیک می‌باشند (۱). در این راستا، پژوهشگران عنوان کرده‌اند که این آنزیم‌ها می‌توانند نشان‌دهنده اختصاصی عملکرد کبد باشند (۱۸). افزایش سطوح AST و ALT با مصرف رژیم غذایی پرچرب می‌تواند نشان‌دهنده افزایش مقدار چربی کبد و آسیب سلول‌های کبدی باشد (۲۶) که در این پژوهش نیز افزایش سطح ALT مشاهده گردید. قابل توجه است که گروهی از پژوهشگران پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب (۶۰/۹ درصد چربی)، تغییر معناداری را در سطوح این آنزیم‌ها گزارش نکردند (۲۷)؛ در حالی که گروهی دیگر، افزایش پنج برابری سطوح ALT به دنبال هشت هفته رژیم غذایی پرچرب (۶۰ درصد چربی) را گزارش نموده‌اند (۲۸). از سوی دیگر، نشان داده شده است که هشت هفته تمرین با ۲۵، ۲۰ و ۳۰ متر در دقیقه سرعت، سطوح بالای AST و ALT به دنبال ۱۶ هفته رژیم غذایی پرچرب در موش‌ها را بهبود بخشید (۲۹) که این یافته با نتایج

به‌دست آمده مغایر می‌باشد. مشابه با نتایج پژوهش حاضر، یک مطالعه فراتحلیل بیان کرده است که تداخلات تمرینی اثری بر مقادیر ALT ندارند (۳۰).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، بیان نسبی ژن FXR بین گروه‌های با رژیم غذایی طبیعی و پرچرب و تمرینات هوازی متوسط و شدید، تفاوت معناداری نداشت. FXR نقشی کلیدی در هوموستاز کلسترول و اسیدهای صفرا را برعهده دارد (۳۱). فعال‌شدن FXR باعث تعدیل مسیرهای لیپوژنیک درون‌زاد و کلیرنس TG می‌شود. همچنین، به‌نظر می‌رسد که FXR سبب تنظیم مثبت گیرنده لیپوپروتئین بسیار کم‌چگال (VLDL-R)<sup>۱</sup> و تعدیل برداشت کبدی LDL می‌شود. علاوه‌براین، FXR در چرخه انتقال معکوس کلسترول از بافت‌های محیطی به کبد دخیل بوده و با تنظیم منفی SREBP-1c و ژن‌های هدف آن از طریق SHP<sup>۲</sup>، مسیر سنتز اسیدهای چرب و کلسترول را مهار می‌کند. درنهایت، FXR با تحریک بیان ژن PPAR- $\alpha$ ، نقش مهمی را در بالابردن انتقال و میزان اکسیداسیون اسیدهای چرب بازی می‌کند (۳۲). یافته‌های پژوهش نشان داد که رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش بیان ژن FXR می‌شود که خلاف انتظار بوده و به‌لحاظ آماری معنادار نمی‌باشد. همچنین، انتظار آن می‌رفت که تمرین هوازی باعث افزایش بیان ژن FXR و بهبود نیم‌رخ لیپید پلاسما گردد؛ اما مشابه با برخی از مطالعات، تغییر معناداری در بیان نسبی ژن FXR در گروه‌های تمرینی مشاهده نشد. گروهی از پژوهشگران نیز گزارش کرده‌اند که تمرین هوازی با ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، تغییر معناداری در بیان ژن FXR در آزمودنی‌های با رژیم غذایی پرچرب ایجاد نمی‌کند. این پژوهشگران پیشنهاد کرده‌اند که احتمالاً رژیم غذایی نسبت به تمرین، نقش پررنگ‌تری در بیان FXR کبدی داشته باشد (۲۲).

رژیم غذایی پرچرب در پژوهش حاضر، کاهش بیان ژن PPAR- $\alpha$  را به‌دنبال داشت که به‌لحاظ آماری معنادار نبود. ازسوی دیگر، یافته‌های پژوهش حاضر در تأیید نتایج سایر مطالعات، افزایش بیان PPAR- $\alpha$  در آزمودنی‌های با رژیم غذایی پرچرب به‌دنبال تمرین را نشان داد (۱۹،۳۳). بیان ژن PPAR- $\alpha$  برای اکسیداسیون اسیدهای چرب و پیش‌گیری از تجمع چربی در بافت کبد بسیار ضروری است؛ هرچند در مطالعات محدودی افزایش بیان PPAR- $\alpha$  با رژیم غذایی پرچرب گزارش شده است (۳۴). علاوه‌براین، مشاهده شده است که بالاترین مقدار اکسیداسیون چربی در تمرینات با شدت متوسط معادل ۶۵ درصد  $VO_{2max}$  رخ می‌دهد (۳۵) که می‌تواند مربوط به فعال‌شدن PPAR- $\alpha$  باشد. طبق مشاهدات ما، هشت هفته تمرین با ۶۵ و ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، بیان PPAR- $\alpha$  در موش‌های با تغذیه پرچرب را افزایش داد؛ اما تفاوت معناداری را بین دو شدت تمرینی ایجاد نکرد.

1. Very Low-Density Lipoprotein Receptor
2. Small Heterodimer Partner

همچنین، مسیرهای افزایش اکسیداسیون حین تمرین و پس از سازگاری با تمرین می‌تواند متفاوت باشد؛ اما، PPAR- $\alpha$  با تنظیم مثبت FXR از طریق فعال‌کننده کمکی گیرنده فعال‌شونده با تکثیر پرواکسیزوم گاما (PGC 1 $\alpha$ )، اکسیداسیون اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد (۳۶).

علاوه بر این، میزان بیان نسی ژن SREBP-1c به دنبال رژیم غذایی پرچرب در پژوهش حاضر به طور معناداری افزایش پیدا کرد. SREBP-1c عامل رونویسی حس‌گر مواد غذایی است که با فعال کردن ژن‌های مسیرهای لیپوژنیک، سنتز لیپیدها را کنترل می‌کند و خود از ژن‌های هدف‌گیرنده X کبدی (LXR<sup>2</sup>) و سیگنالینگ انسولین می‌باشد که سنتز اسیدهای چرب و کلسترول را تحریک می‌کند (۳۷). افزایش بیان SREBP-1c نشان‌دهنده فعال شدن مسیرهای لیپوژنیک کبدی به دنبال مصرف رژیم غذایی پرچرب بوده و می‌تواند توضیحی در افزایش مقادیر لیپیدهای پلاسما و افزایش رهایش AST و ALT باشد. همچنین، کاهش بیان SREBP-1c در گروه با رژیم غذایی طبیعی به دنبال تمرینات شدید هوازی که در این پژوهش مشاهده شد، می‌تواند نشان‌دهنده مهار مسیرهای لیپوژنیک وابسته به SREBP-1c باشد؛ هرچند که در ظاهر برای بهبود نیم‌رخ لیپید پلاسما کافی نبوده است؛ علاوه بر این، FXR و PPAR- $\alpha$  به طور منفی باعث تنظیم فعالیت SREBP-1c شده و مسیرهای لیپوژنیک را سرکوب می‌کنند؛ در مقابل، فعال شدن LXR و SREBP-1c، مهار FXR و PPAR- $\alpha$  و متعاقب آن افزایش سنتز لیپید و کاهش میزان اکسیداسیون چربی را به دنبال خواهد داشت (۳۷). عدم تغییر معنادار بیان FXR و PPAR- $\alpha$  و افزایش بیان SREBP-1c از یک سو و افزایش وزن، لیپیدهای پلاسما و ALT به دنبال رژیم غذایی پرچرب از سوی دیگر، این فرضیه را تقویت می‌کند که رژیم غذایی پرچرب استفاده شده در این پژوهش با فعال کردن مسیرهای لیپوژنیک وابسته به SREBP-1c باعث افزایش سنتز لیپید و اختلالات لیپید شده و احتمالاً تجمع لیپید در سلول‌های کبدی را ایجاد کرده است.

**پیام مقاله:** به طور کلی، تنظیم متابولیسم لیپید و سطوح آن‌ها برای حفظ هوموستاز سلولی ضروری است. کبد با استفاده از فاکتورهای رونویسی مختلف نظیر FXR، PPAR- $\alpha$  و SREBP-1c و هماهنگی ظریف بین این عناصر، تعادل متابولیسم لیپیدها را برقرار می‌کند. براساس نتایج پژوهش حاضر، احتمالاً افزایش بیان SREBP-1c و فعال شدن مسیرهای لیپوژنیک به دنبال رژیم غذایی پرچرب، مسئول تغییر نیم‌رخ لیپید پلاسما و تجمع چربی در بافت کبد می‌باشد. برخلاف انتظار ما، اگرچه برنامه تمرینی استفاده شده در این پژوهش تغییرات جزئی در بیان ژن‌ها ایجاد کرد؛ اما موفق به بهبود مقادیر وزن، نیم‌رخ لیپید و آنزیم‌های ترنس آمیناز نشد. بررسی بیشتر این مسیرهای متابولیک در

1. Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gama Co-Activator
2. Liver X Receptor

شرایط مختلف تمرینی و تغذیه‌ای به فهم بهتر مکانیسم‌های کنترلی هوموستاز لیپید کمک خواهد کرد؛ از این رو، پیشنهاد می‌شود بیان این ژن‌ها در برنامه‌های متفاوت تمرینی و دوره‌های تمرینی طولانی‌تر مورد بررسی قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات جناب آقای دکتر مجتبی نجفی و کارکنان محترم آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری و نیز پژوهشگاه غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تشکر و قدردانی می‌شود.

### منابع

1. Baidal J A, Lavine J E. The intersection of nonalcoholic fatty liver disease and obesity. *Sci Transl Med.* 2016; 8(323): 323rv1.
2. Hong Sh, Ahmadian M, Ruth T Y, Atkins A R, Downes M, Evans R M. Nuclear receptors and metabolism: From feast to famine. *Diabetologia.* 2014; 57(5): 860-7.
3. Shiomi Y, Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Nakayama R, Orikawa Y, et al. A novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$  agonist and PPAR $\gamma$  antagonist, Z-551, ameliorates high-fat diet-induced obesity and metabolic disorders in Mice. *J Biol Chem.* 2015; 290(23): 14567-81.
4. Fiorucci S, Cipriani S, Baldelli F, Mencarelli A. Bile acid-activated receptors in the treatment of dyslipidemia and related disorders. *Prog Lipid Res.* 2010; 49(2): 171-85.
5. Derosa G, Maffioli P. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) agonists on glycemic control, lipid profile and cardiovascular risk. *Curr Mol Pharmacol.* 2012; 5(2): 272-81.
6. Cintra D E, Ropelle E R, Vitto M F, Luciano T F, Souza D R, Engelmann J, et al. Reversion of hepatic steatosis by exercise training in obese mice: The role of sterol regulatory element-binding protein-1c. *Life Sci.* 2012; 91(11): 395-401.
7. Capel F, Rolland-Valognes G, Dacquet C, Brun M, Lonchamp M, Ktorza A, et al. Analysis of sterol-regulatory element-binding protein 1c target genes in mouse liver during aging and high-fat diet. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2013; 6(2): 107-22.
8. Xu J Y, Li Z P, Zhang L, Ji G. Recent insights into farnesoid X receptor in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol: WJG.* 2014; 20(37): 13493.
9. Chennamsetty I, Claudel T, Kostner K M, Baghdasaryan A, Kratky D, Levak-Frank S, et al. Farnesoid X receptor represses hepatic human APOA gene expression. *J Clin Invest.* 2011; 121(9): 3724-34.
10. Evans R M, Barish G D, Wang Y X. PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med.* 2004; 10(4): 355-61.

11. Jiao Y, Lu Y, Li X Y. Farnesoid X receptor: A master regulator of hepatic triglyceride and glucose homeostasis. *Acta Pharmacol Sin.* 2015; 36(1): 44-50.
12. Wen S, Jadhav K S, Williamson D L, Rideout T C. Treadmill exercise training modulates hepatic cholesterol metabolism and circulating PCSK9 concentration in high-fat-fed mice. *J lipids.* 2013;
13. Xu Z J, Fan J G, Ding X D, Qiao L, Wang G L. Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats. *Dig Dis Sci.* 2010; 55(4): 931-40.
14. Hawley J A, Yeo W K. Metabolic adaptations to a high-fat diet. *The Encyclopaedia of Sports Medicine: An IOC Medical Commission Publication.* 2014; 19: 166-73.
15. Hosseini Kakhk A, Khalegh Zadeh H, Nemati M, Hamedia Nia M. The effect of combined aerobic-resistance training on lipid profile and liver enzymes in patients with non-alcoholic fatty liver under nutrition diet. *Sport Physiology.* 2015; 7(27): 65-84. (In Persian).
16. Sarlak Z. Effects of eight weeks aerobic training on Serum Apo A-I, APO B and lipid profile in overweight women. *Sport Physiology.* 2016; 7(28): 45-58. (In Persian).
17. Sookoian S, Pirola C J. Alanine and aspartate aminotransferase and glutamine-cycling pathway: Their roles in pathogenesis of metabolic syndrome. *World J Gastroenterol.* 2012; 18(29): 3775-81.
18. Sookoian S, Pirola C J. Liver enzymes, metabolomics and genome-wide association studies: From systems biology to the personalized medicine. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(3): 711-25.
19. Bishop-Bailey D. Mechanisms governing the health and performance benefits of exercise. *Br J Pharmacol.* 2013; 170(6): 1153-66.
20. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul C L, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res.* 2005; 52(4): 313-20.
21. Bustin S A, Benes V, Garson J A, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. The Miqe guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem.* 2009; 55(4): 611-22.
22. Côté I, Sock E T, Lévy É, Lavoie J M. An atherogenic diet decreases liver FXR gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: Effect of endurance training. *Eur J Clin Nutr.* 2013; 52(5): 1523-32.
23. Marques C M, Motta V F, Torres T S, Aguila M B, Mandarim-de-Lacerda C A. Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. *Braz J Med Biol Res.* 2010; 43(5): 467-75.
24. Otunola G A, Oloyede O B, Oladiji A T, Afolayan A A. Effects of diet-induced hypercholesterolemia on the lipid profile and some enzyme activities in female Wistar rats. *Afr J Biochem Res.* 2010; 4(6): 149-54.

25. Fu L, Liu X, Niu Y, Yuan H, Zhang N, Lavi E. Effects of high-fat diet and regular aerobic exercise on global gene expression in skeletal muscle of C57BL/6 mice. *Metabolism*. 2012; 61(2): 146-52.
26. Ichimura M, Kawase M, Masuzumi M, Sakaki M, Nagata Y, Tanaka K, et al. High-fat and high-cholesterol diet rapidly induces non-alcoholic steatohepatitis with advanced fibrosis in Sprague–Dawley rats. *Hepato Res*. 2015; 45(4): 458-69.
27. Jacob P S, Meneses Fujii T M, Yamada M, Borges M C, Pantaleao L C, Borelli P, et al. Isocaloric intake of a high-fat diet promotes insulin resistance and inflammation in Wistar rats. *Cell Biochem Funct*. 2013; 31(3): 244-53.
28. Carmiel-Haggai M, Cederbaum A I, Nieto N. A high-fat diet leads to the progression of non-alcoholic fatty liver disease in obese rats. *FASEB J*. 2005; 19(1): 136-8.
29. Cameron I, Alam M A, Wang J, Brown L. Endurance exercise in a rat model of metabolic syndrome. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012; 90(11): 1490-7.
30. Keating S E, Hackett D A, George J, Johnson N A. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2012; 57(1): 157-66.
31. Yang Z, Cappello T, Wang L. Emerging role of microRNAs in lipid metabolism. *Acta Pharm Sin B*. 2015; 5(2): 145-50.
32. Gadaleta R M, Cariello M, Sabbà C, Moschetta A. Tissue-specific actions of FXR in metabolism and cancer. *Biochim Biophys Acta (32)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2015; 1851(1): 30-9.
33. Oshida K, Vasani N, Thomas R S, Applegate D, Rosen M, Abbott B, et al. Identification of modulators of the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) in a mouse liver gene expression compendium. *PLoS one*. 2015; 10(2): e0112655.
34. Wu H, Jin M, Han D, Zhou M, Mei X, Guan Y, et al. Protective effects of aerobic swimming training on high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease: Regulation of lipid metabolism via PANDER-AKT pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015; 458(4): 862-8.
35. Bosma M. Lipid homeostasis in exercise. *Drug Discov Today*. 2014; 19(7): 1019-23.
36. Hsu W H, Chen T H, Lee B H, Hsu Y W, Pan T M. Monascin and ankaflavin act as natural AMPK activators with PPAR $\alpha$  agonist activity to down-regulate nonalcoholic steatohepatitis in high-fat diet-fed C57BL/6 mice. *Food Chem Toxicol*. 2014; 64: 94-103.
37. Karagianni P, Talianidis I. Transcription factor networks regulating hepatic fatty acid metabolism. *Biochim Biophys Acta (32)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2015; 1851(1): 2-8.

## ارجاع دهی

ابراهیمی مریم، فتحی رزیتا، انصاری پیرسرایی زربخت، طالبی گرکانی الهه. بیان نسبی ژن‌های کلیدی متابولیسم لیپید به دنبال مصرف رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی در کبد موش صحرائی. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۳۹۶؛ ۹(۳۴): ۱۶-۲۰۱. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2017.2767.1374

Ebrahimi. M, Fathi. R, Ansari Pirsaraei. Z, Talebi Garakani, E. Relative Gene Expression of Key Genes Involved in Lipid Metabolism, Following High Fat Diet and Moderate and High Intensity Aerobic Training in Rat's Liver. Sport Physiology. Summer 2017; 9(34): 201-16. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2017.2767.1374



## Relative Gene Expression of Key Genes Involved in Lipid Metabolism, Following High Fat Diet and Moderate and High Intensity Aerobic Training in Rat's Liver

M. Ebrahimi<sup>1</sup>, R. Fathi<sup>2</sup>, Z. Ansari Pirsaraei<sup>3</sup>, E. Talebi Garakani<sup>4</sup>

1. Ph.D. in Exercise Biochemistry and Metabolism, University of Mazandaran
2. Associate Professor of Exercise Biochemistry and Metabolism, University of Mazandaran\*
3. Associate Professor of Animal Science, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University
4. Associate Professor of Exercise Biochemistry and Metabolism, University of Mazandaran

Received: 2016/07/17

Accepted: 2016/10/15

---

### Abstract

To study the hepatic lipid metabolism, 44 male Wistar rats randomly divided in two normal or high fat diet groups. Each group was included of control, moderate exercise and high intensity exercise groups. After the 8 weeks of training hepatic relative gene expression of Farnesoid X Receptor (FXR), Peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR- $\alpha$ ) and also sterol regulatory element binding protein 1c (SREBP-1c) were assessed. Also, plasma lipid profile and Aminotransferases levels were measured. Data were analyzed by 2way ANOVA in SPSS 22 ( $P < 0.05$ ). According to the results, high fat diet caused dyslipidemia and probably liver injury and only increased SERBP-1c relative gene expression. Although training had not any effect on FXR expression, PPAR- $\alpha$  expression increased in trained high fat diet groups, independent to intensity. SREBP-1c expression just decreased by high intensity training in normal diet group. In summary, dyslipidemia and hepatic fat overload could be induced by high fat diet due to hepatic SREBP-1c expression and activation of lipogenic pathways. Although exercise changed the gene expression but had no effect on lipid profile or transaminases.

**Keywords:** High Fat Diet, Aerobic Training, FXR, PPAR- $\alpha$ , SREBP-1c

---

---

\*Corresponding Author

Email: r.fathi@umz.ac.ir