



Original Article

## The Effect of Different Exercise Intensities in Hypoxia and Normoxia Conditions on Liver Fat Content, Blood Cells, and Endurance Performance of Male Rats Under High-Fat Diet

Seyed Morteza Hosseini<sup>1</sup>, Hamid Mohebbi<sup>2</sup> 

1. PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

**Received:** 04/04/2024, **Revised:** 29/07/2024, **Accepted:** 14/08/2024

\* Corresponding Author: Hamid Mohebbi, Tel: 09111361426, E-mail: [mohebbi\\_h@yahoo.com](mailto:mohebbi_h@yahoo.com)

**How to Cite:** Hosseini, M; Mohebbi, H. (2024). The Effect of Different Exercise Intensities in Hypoxia and Normoxia Conditions on Liver Fat Content, Blood Cells, and Endurance Performance of Male Rats Under High-Fat Diet. *Sport Physiology*, 16(61), 65-86. In Persian.

### Extended Abstract

#### Background and Purpose

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common clinical manifestation of metabolic syndrome, affecting both children and adults. It is estimated that up to 90% of obese individuals may develop NAFLD. This disease is strongly associated with various metabolic dysfunctions, including insulin resistance, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction. These factors contribute to the progression of NAFLD, making it an important concern in metabolic health. Despite a growing understanding of the underlying mechanisms of NAFLD, there is currently no approved pharmaceutical treatment available. Given that cardiovascular issues are the leading cause of mortality in individuals with NAFLD, the adoption of regular aerobic exercise emerges as a promising strategy. Aerobic exercise has been shown to reduce liver fat content and improve various cardiovascular risk factors, offering a non-invasive approach to managing both liver health and heart disease risk in these patients. Vascular health and the enhancement of sports performance are important considerations for affected individuals. As aerobic fitness improves, the gains in endurance performance from training tend to diminish gradually. Consequently, alternative methods, such as training or residing at high altitude in combination with sea-level training, have gained popularity as strategies to further boost endurance performance. However, research on hypoxia has yielded inconsistent findings regarding its impact on endurance performance.

#### Materials and Methods

The study involved 48 male Wistar rats, each with an average weight of 165 grams and approximately five weeks of age. After acclimatizing to the environment and becoming familiar with the treadmill,



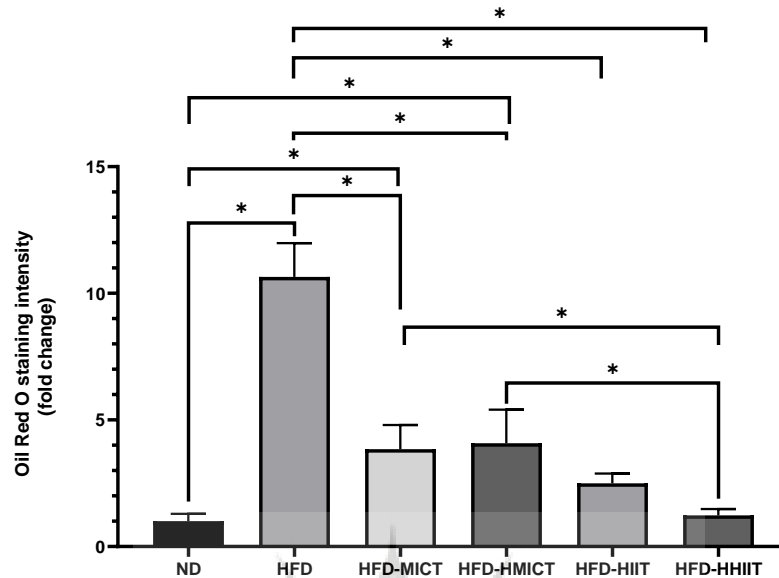
**Copyright:** © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

the rats were randomly divided into six groups, with six rats per group. The groups were designated as follows: ND (normal diet), HFD (high-fat diet), HFD-MICT (high-fat diet with moderate-intensity continuous training in normoxia), HFD-HMICT (high-fat diet with moderate-intensity continuous training in hypoxia), HFD-HIIT (high-fat diet with high-intensity interval training in normoxia), and HFD-HHIIT (high-fat diet with high-intensity interval training in hypoxia). The exercise training intervention for the training groups lasted 12 weeks, with three sessions per week. During this period, the ND and HFD groups refrained from any physical activity. To simulate altitude training, the researchers used a hypoxia device that maintained the oxygen pressure at approximately 140 millibars, corresponding to an altitude of 3000 meters. Tissue sampling and serum sample collection were conducted 48 hours after the completion of the nutritional and exercise training interventions. Oil Red O staining (ab 150678; lipid stain kit) was performed to assess the fat content in the liver. The number and area of fat droplets were evaluated using both optical and fluorescent microscopy with a Germany-AXIOM BM-600 LED EPI fluorescent microscope and Mshot microscope camera, analyzed with J Image software. Data analysis was conducted using SPSS version 26, with one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test applied at a significance level of  $p < 0.05$  to assess statistical significance.

### **Findings**

The results revealed a consistent increase in the weight of rats across all groups. Notably, the high-fat diet led to significant weight gain in the HFD, HFD+MICT, and HFD+HMICT groups compared to the ND group. However, the weight of rats in the HFD+MICT and HFD+HMICT groups was significantly lower than that of the HFD group ( $P < 0.01$ ). No significant difference in weight was observed between the ND and HFD-HIIT or HFD-HHIIT groups. Furthermore, the fat content in the liver of rats increased across all groups in comparison to the ND group. Interestingly, exercise training effectively mitigated the increase in liver fat content compared to the HFD group ( $P < 0.005$ ). Additionally, HIIT and HHIIT were more effective in maintaining lipid droplet content at baseline levels compared to MICT and HMICT. Specifically, only in the HFD-HIIT and HFD-HHIIT groups did the fat content show no significant difference from the ND group. Moreover, no significant difference in fat content was observed between the HFD-HIIT and HFD-HHIIT groups.

پروفیسر شاکر علی خان  
پرنسپل جامعہ اسلامیہ اسلامیہ  
پرنسپل جامعہ اسلامیہ اسلامیہ



**Figure 1.** Changes in rat's liver fat content. ND normal diet, HFD high-fat diet, HFD-MICT, high-fat diet and moderate-intensity continuous training, HFD-HMICT high-fat diet and moderate-intensity continuous training in hypoxia, HFD-HIIT high-fat diet and high-intensity interval training, HFD-HHIIT high-fat diet and high-intensity interval training in hypoxia. \* Difference in significance level  $P < 0.05$ .

Regarding the amount of work performed, all groups exhibited significantly higher levels compared to the HFD group. Notably, the HFD-HHIIT and HFD-HIIT groups showed significantly higher workload than the HFD-MICT and HFD-HMICT groups. However, the difference between the HFD-HIIT and HFD-HHIIT groups was not significant ( $p < 0.05$ ).

Furthermore, data analysis revealed that the level of leukocytes in the HFD group significantly increased compared to the ND group ( $p < 0.05$ ). However, all exercise training methods effectively prevented the increase in leukocyte levels caused by the high-fat diet. Additionally, no significant difference was observed among the exercise training groups. Finally, there were no significant differences in the levels of red blood cells (RBC) and hemoglobin (HGB) among the groups after the 12-week dietary and exercise training intervention. Although the level of HGB experienced a reduction in the HFD groups, this reduction was not statistically significant. Notably, the hematocrit (HCT) levels in the HFD group significantly decreased compared to the ND group ( $p < 0.05$ ). The HCT levels increased across all exercise training groups, with a significant increase observed only in the HFD-HIIT and HFD-HHIIT groups ( $p < 0.05$ ).

## Conclusion

The findings of this research demonstrate that while a high-fat diet is associated with weight gain, increased liver fat accumulation, and reduced endurance performance, high-intensity training effectively prevents the accumulation of liver fat. Moreover, moderate-intensity continuous training in hypoxic conditions did not yield additional benefits compared to exercise training in normoxic conditions. Notably, within a hypoxic environment, elevating training intensity resulted in an 11% increase in endurance performance and a 2.02 times smaller increase in liver fat content compared to

the HFD-HIIT group. The enhancement in endurance performance was observed independently of variations in RBC and HGB levels. Overall, the short-term exposure to hypoxia (three sessions per week of less than 1 hour for 12 weeks) may not provide sufficient stimulation to induce significant blood changes associated with oxygen transport capacity.

**Keywords:** Non-alcoholic Fatty Liver Disease, Hypoxia, Exercise training, Diet, High-Fat, Blood Cells.

### **Article Message**

After analyzing the data, it is clear that there is a substantial difference in liver fat content between rats subjected to a high-fat diet and those involved in exercise training regimens. Additionally, exercise training resulted in observable improvements in endurance performance. These findings suggest that engaging in physical activity can mitigate some of the adverse effects of a high-fat diet. Notably, interval training emerged as a more effective strategy for controlling liver fat content and enhancing endurance performance. While the reduction in fat content in the HHIIT (High-Intensity High-Intensity Interval Training) group did not demonstrate statistical significance in comparison to the HIIT group, the potential clinical significance of these results should not be overlooked.

### **Compliance with Ethical Guidelines**

The ethical standards established by the National Institutes for Medical Research Development regarding the care and use of laboratory animals were strictly adhered to for all animal experiments. These standards were thoroughly examined and approved by the Sport Sciences Research Institute, with an approval number of IR.SSRI.REC.1401.1519.

### **Funding**

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### **Authors' Contributions**

All authors contributed to the design, implementation, and writing of all parts of this study. Conflict of Interest The authors declare no conflict of interest.

### **Acknowledgments**

The researchers would like to express their sincere appreciation to the esteemed officials and staff of the Faculty of Physical Education and Sports Sciences at Guilan University for their invaluable support throughout this study.



## اثر شدت‌های مختلف تمرین در شرایط هیپوکسی و نرم‌اکسی بر محتوای چربی کبد، سلول‌های خونی و عملکرد استقامتی رت‌های نر دارای رژیم غذایی پرچرب

سید مرتضی حسینی<sup>۱</sup>، حمید محبی<sup>۲</sup> 

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.  
۲. استاد، فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۶، تاریخ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۵/۰۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۴

\* Corresponding Author: Hamid Mohebbi, Tel: 09111361426, E-mail: [mohebbi\\_h@yahoo.com](mailto:mohebbi_h@yahoo.com)

**How to Cite:** Hosseini, M; Mohebbi, H. (2024). The Effect of Different Exercise Intensities in Hypoxia and Normoxia Conditions on Liver Fat Content, Blood Cells, and Endurance Performance of Male Rats Under High-Fat Diet. *Sport Shysiology*, 16(61), 65-86. In Persian.

### چکیده

اهداف: در این مطالعه، اثر شدت‌های مختلف تمرین در شرایط هیپوکسی و نرم‌اکسی بر محتوای چربی کبد و عملکرد استقامتی رت‌ها بررسی شد. مواد و روش‌ها: ۴۸ رت نر نژاد ویستار با سن تقریبی پنج هفته به صورت تصادفی در گروه‌های رژیم غذایی نرمال (ND)، رژیم غذای پرچرب (HFD)، رژیم غذای پرچرب و تمرین مداوم با شدت متوسط (HFD-MICT)، رژیم غذای پرچرب و تمرین مداوم با شدت متوسط در شرایط هیپوکسی (HFD-HMICT)، رژیم غذای پرچرب و تمرین تناوبی با شدت بالا (HFD-HIIT)، رژیم غذای پرچرب و تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هیپوکسی (HFD-HHIIT) قرار گرفتند. پس از تعیین حداکثر سرعت هوازی در شرایط نرم‌اکسی (ارتفاع معادل ۵۰ متر) و هیپوکسی (ارتفاع معادل ۳۰۰۰ متر) تمرینات به مدت ۱۲ هفته و ۳ جلسه در هفته اجرا شدند. نتایج: وزن، محتوای چربی کبد و تعداد لکوسیت‌ها در گروه HFD نسبت به تمامی گروه‌ها بالاتر و عملکرد استقامتی پایین‌تر بود ( $P < 0.05$ ). کمترین میزان افزایش وزن و محتوای چربی و بالاترین عملکرد استقامتی در گروه‌های HIIT بود ( $P < 0.05$ ). عملکرد استقامتی در گروه‌های MICT نسبت به گروه‌های HIIT کمتر بود. افزایش عملکرد هوازی در گروه‌های هیپوکسی مستقل از تغییرات RBC و HGB بود. MICT در هیپوکسی در مقایسه با نرم‌اکسی مزایای بیشتری در کاهش محتوای چربی کبد به همراه نداشت. نتیجه‌گیری: افزایش عملکرد استقامتی در گروه HFD-HHIIT مستقل از تغییرات فاکتورهای خونی مرتبط با ظرفیت انتقال اکسیژن بود. احتمالاً مداخله این تحقیق به دلیل قرار گرفتن کوتاه‌مدت در معرض هیپوکسی تحریک کافی برای تغییرات خونی را القا نمی‌کند. **کلیدواژه‌ها:** کبد چرب غیرالکلی، هیپوکسی، تمرین، رژیم غذایی، پرچرب، سلول‌های خون.



## مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی<sup>۱</sup> (NAFLD) یکی از تظاهرات کلینیکی سندرم متابولیک محسوب می‌شود. NAFLD از رایج‌ترین بیماری‌های کبدی در کودکان و بزرگسالان محسوب می‌شود که میانگین شیوع آن در جوامع مختلف حدود ۲۵ درصد است (۱). حدود ۹۰ درصد از بیماران چاق ممکن است دچار این بیماری باشند. NAFLD با اختلال عملکرد متابولیسم مانند مقاومت به انسولین، استرس اکسیداتیو، استرس شبکه آندوپلاسمی و اختلالات عملکرد میتوکندری همراه است (۲). با توجه به نرخ روزافزون چاقی در سراسر جهان، این بیماری بار اقتصادی بالایی را به همراه دارد (۳). علیرغم درک مکانیسم‌های درگیر در توسعه و پیشرفت این بیماری، در حال حاضر هیچ درمان دارویی تأیید شده‌ای برای آن وجود ندارد (۴). از آنجایی که رایج‌ترین علت مرگ در این بیماران مشکلات قلبی عروقی است (۵)، به نظر می‌رسد اجرای فعالیت‌های ورزشی هوازی منظم رویکردی مناسبی در کاهش محتوای چربی کبد (۶) و کاهش عوامل خطرناک مرتبط با بیماری‌های قلبی-عروقی (۷) و بهبود عملکرد ورزشی این افراد محسوب می‌شود.

مطالعات نشان می‌دهند با افزایش درصد چربی و BMI میزان  $VO_{2max}$  افراد به‌طور معناداری کاهش می‌یابد. این کاهش آمادگی قلبی عروقی با افزایش نرخ مرگ‌ومیر افراد ارتباط بالایی دارد (۸). پژوهش‌های دیگر نشان دادند که افراد مبتلابه دیابت نوع ۲ نسبت به افراد غیر دیابتی ۲۰ درصد آمادگی قلبی تنفسی ( $VO_{2max}$ ) کمتری دارند (۹). بنابر داده‌های مذکور، به نظر می‌رسد بیماری‌های متابولیکی با کاهش نرخ اکسیژن مصرفی همراه هستند. به نظر می‌رسد سازگاری‌های فیزیولوژیکی و بهبود عملکرد و سلامتی جسمانی ناشی از فعالیت ورزشی به‌واسطه متغیرهای (حجم، شدت، فرکانس و مدت‌زمان) یک برنامه تمرینی می‌باشد. بنابراین انتخاب شیوه تمرینی مناسب به‌منظور جلوگیری از بروز بیماری‌های متابولیکی دارای اهمیت بالایی است.

با پیشرفت آمادگی هوازی، بهبودهای ناشی از تمرین در عملکرد استقامتی به‌تدریج کاهش می‌یابد. بنابراین، استفاده از سایر محرک‌ها نظیر اقامت در ارتفاع و تمرین در ارتفاع، اقامت در سطح دریا و تمرین در ارتفاع برای افزایش بیشتر عملکرد استقامتی محبوبیت پیدا کرده است (۱۰). با این‌وجود تحقیقات مرتبط با هیپوکسی تا به امروز در خصوص عملکرد استقامتی نتایج همسویی را ارائه نکرده‌اند. این تناقض می‌تواند ناشی از مدت و شدت متفاوت جلسات تمرینی هیپوکسی به کار گرفته‌شده در پژوهش‌ها باشد (۱۱). از سوی دیگر، هیپوکسی یکی از عواملی است که می‌تواند سبب بروز برخی تغییرات در فرایند متابولیسم کبد گردد. از همین رو، مطالعه جانداران در شرایط هیپوکسی در طی سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است، زیرا هیپوکسی مانند شمشیر دو لبه عمل می‌کند. به این معنی که در برخی موارد می‌تواند زمینه‌ساز بروز مشکلات فیزیولوژیکی و در موارد دیگر می‌تواند یک عامل مؤثر در بهبود عملکرد فیزیولوژیکی به شمار آید (۱۲).

مطالعه پارک<sup>۲</sup> و همکاران نشان داد شش هفته تمرین تناوبی پر شدت در شرایط هیپوکسی و نرم‌اکسی باعث بهبود  $VO_{2max}$  افراد سالم می‌شود. بیشترین افزایش در گروه تمرین هیپوکسی مشاهده شد. نتایج مطالعه پارک و همکاران نشان داد که تمرینات ورزشی در شرایط هیپوکسی، عملکرد هوازی را از طریق اریتروپوئیسین، و احتمالاً به‌واسطه عواملی مانند بهبود عملکرد سیستم عصبی عضلانی، تغییر سطوح هورمون‌های متابولیک و عملکرد پروتئین‌های بافت عضلانی (که در استفاده از

1. Nonalcoholic Fatty Liver Disease
2. Park

اکسیژن مؤثر هستند) افزایش می‌دهد (۱۳). یونی‌آرتو<sup>۱</sup> و همکاران در بررسی اثر شیوه‌های مختلف تمرینی بر میزان سلول‌های قرمز خون نشان دادند، تفاوتی میان تمرینات MICT<sup>۲</sup> و تمرینات HIIT<sup>۳</sup> در تغییرات سطح اریتروسیت‌ها، لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها رت‌ها متعاقب شش هفته (چهار جلسه در هفته) تمرین روی تردمیل ندارد (۱۴). در یک مطالعه دیگر روی دوچرخه‌سواران حرفه‌ای، پارک و همکاران نشان دادند دو هفته تمرین هوازی در شرایط هیپوکسی سبب کاهش معنادار تعداد سلول‌های سفید، لکوسیت‌ها و سلول‌های کشنده طبیعی و افزایش معنادار ائوزینوفیل‌ها، سلول‌های B و سلول‌های T شد. با وجود این تغییرات، مقادیر در سطح نرمال قرار داشتند (۱۵). مطالعه بروگنیا<sup>۴</sup> و همکاران که پروتکل تمرین در نرم‌اکسی و اقامت در هیپوکسی را مورد مطالعه قرار دادند، نشان داد کاهش معنادار لکوسیت‌ها تنها زمانی رخ داد که ارتفاع به ۳۵۰۰ متر افزایش یافت. به‌هرحال، مقادیر همچنان در سطح نرمال بود (۱۶).

با توجه به نقش پیشگیرانه فعالیت ورزشی در کنترل بیماری‌های متابولیکی (۱۶-۱۸)، در حال حاضر تحقیقات بالینی بر "دوز" بهینه ورزش مورد نیاز به‌منظور کسب نتایج بهتر تأکید دارند. در غیاب دستورالعمل‌های تمرینی برای بیماران دارای NAFLD بر اساس مطالعات صورت گرفته، دستورالعمل کالج پزشکی ورزشی آمریکا<sup>۵</sup> برای توسعه و حفظ آمادگی قلبی تنفسی، اسکلتی عضلانی و عصبی-عضلانی در بزرگسالان ظاهراً سالم، تمرینات ورزشی هوازی با شدت متوسط را به مدت ۳۰ دقیقه و حداقل ۵ روز در هفته یا تمرینات با شدت بالا را به مدت ۲۰ دقیقه و ۳ روز در هفته پیشنهاد می‌کند (۱۹). به‌هرحال، نتایج این پژوهش می‌تواند در انتخاب بهترین شیوه تمرین مؤثر باشد.

### روش پژوهش

این پژوهش با ۴۸ سر رت نر از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۶۵ گرم و سن تقریبی پنج هفته انجام شد. مطابق با خط‌مشی انجمن حمایت از حیوانات و تعهدنامه کار با حیوانات آزمایشگاهی ایران، رت‌ها به آزمایشگاه جوندگان دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان منتقل شدند. رت‌ها در گروه‌های سه‌تایی در قفس‌های مجزا و در شرایط دمایی  $22 \pm 2$ ، رطوبت ۵۰-۵۵، چرخه روشنایی تاریکی (۱۲:۱۲) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. برای اطمینان از شرایط محیطی (حفظ دما، رطوبت و تهویه مناسب) از دستگاه تهویه هوا، رطوبت‌سنج و دماسنج برای پایش تغییرات شبانه‌روزی محیط استفاده شد. هم‌چنین قفس‌ها نگهداری حیوانات به‌صورت روزانه با آب و بدون استفاده از شوینده‌ها شستشو می‌شدند. برای حفظ نظافت قفس‌ها و جمع‌آوری ادرار و مدفوع حیوانات از پوشال‌های (تراشه‌های چوب) استریل شده مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی موسسه سرم‌سازی رازی استفاده شد.

پس از یک هفته سازگاری با شرایط محیطی و یک هفته آشناسازی با تردمیل، رت‌ها به‌صورت تصادفی در شش گروه (هر گروه ۶ سر رت) به شرح ذیل تقسیم شدند: ND: رت‌های دارای رژیم غذایی نرمال (۱۰٪ چربی، ۷۰٪ کربوهیدرات، ۲۰٪ پروتئین)، HFD: رت‌های دارای رژیم غذایی پرچرب (۶۰٪ چربی، ۲۰٪ کربوهیدرات، ۲۰٪ پروتئین)، HFD-MICT: رت‌های دارای رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی با شدت متوسط در شرایط نرم‌اکسی، HFD-HMICT: رت‌های دارای رژیم غذایی

1. Yuniarto
2. Moderate-Intensity Continuous Training
3. High-Intensity Interval Training
4. Brugniaux
5. American College of Sports Medicine

پرچرب و تمرین هوازی با شدت متوسط در شرایط هیپوکسی، HFD-HIIT: رت‌های دارای رژیم غذایی پرچرب و تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط نرم‌اکسی، HFD-HHIIT: رت‌های دارای رژیم غذایی پرچرب و تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هیپوکسی. مداخله ورزشی برای گروه‌های تمرینی به مدت ۱۲ هفته، سه جلسه در هفته انجام شد. در طی ۱۲ هفته گروه‌های ND و HFD هیچ نوع فعالیت ورزشی نداشتند. لازم به ذکر است در طول مرحله آشناسازی با محیط و تردمیل، رژیم غذایی استاندارد برای همه رت‌ها در نظر گرفته شد. این مقاله بخشی از پژوهش مورد تأیید کمیته اخلاق پژوهشگرده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی ایران با کد اخلاق IR.SSRI.REC.1401.1519 بود.

برای تعیین شدت فعالیت ورزشی در تمرینات، آزمون حداکثر سرعت هوازی<sup>۱</sup> (MAV) برای همه گروه‌های تمرینی اجرا شد. بدین منظور، پس از ده دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ متر در دقیقه، سرعت نوار گردان به ۱۰ متر در دقیقه، افزایش یافت. پس از آن هر سه دقیقه، ۵ متر در دقیقه به سرعت نوار گردان اضافه می‌شد. این پروتکل تا رسیدن به ناتوانی در دویدن (۲۰) علی‌رغم ۱۰ ثانیه شوک الکتریکی ادامه یافت (۲۱). در شرایط هیپوکسی نیز پروتکل مشابه اجرا شد با این تفاوت که ابتدا ده دقیقه گرم کردن با سرعت ۵ متر در دقیقه انجام شد و سپس سرعت نوار گردان به ۵ متر در دقیقه افزایش یافت. در پایان آزمون، سرعت ثبت‌شده احتمالاً بیانگر حالتی است که  $VO_{2max}$  در آن به فلات می‌رسد.

پروتکل تمرین تداومی و تناوبی سه روز در هفته، به مدت ۱۲ هفته و به صورت پیش‌رونده و بدون شیب اجرا شد. این پروتکل با ۶۸٪ حداکثر سرعت آغاز و در هفته پنجم به ۸۰٪ رسید و پس از آن با حفظ سرعت، زمان تمرین به صورت پیش‌رونده تا پایان هفته دوازدهم افزایش یافت. در تمرینات تناوبی، وهله پر شدت با ۸۰٪ حداکثر سرعت و وهله کم شدت با ۶۸٪ حداکثر سرعت آغاز شد و در هفته پنجم به ۹۳٪ رسید. پس از آن با حفظ سرعت، تعداد وهله‌های تمرین به صورت پیش‌رونده تا پایان هفته دوازدهم افزایش یافت (۲۲). به منظور ایزوکالری کردن تمرینات تناوبی و تداومی، مسافت طی شده در تمرینات تداومی با تمرینات تناوبی همسان‌سازی شد. به منظور حفظ شدت مناسب تمرین، در پایان هفته چهارم و هشتم نیز آزمون حداکثر سرعت هوازی اجرا شد. جزئیات پروتکل تمرینات تناوبی در جدول ۱ و ۲ ارائه شده است.

پس از پایان دوازده هفته مداخلات آزمایشگاهی، به منظور تعیین میزان تغییرات ظرفیت هوازی، تمامی گروه‌ها مورد سنجش قرار گرفتند. بدین منظور، شیب تردمیل روی ۱۶ درجه و سرعت نوار گردان ۱۰ متر در دقیقه، تنظیم شد. پس از ۵ دقیقه، سرعت تردمیل ۲ متر در دقیقه افزایش یافت و پس از آن هر دو دقیقه ۲ متر در دقیقه به سرعت نوار گردان اضافه می‌شد. این پروتکل تا رسیدن به ناتوانی در دویدن علی‌رغم شوک الکتریکی ادامه یافت (۲۳). در نهایت، کار انجام‌شده از طریق فرمول یک محاسبه شد.

فرمول ۱

$$W = F * D_y$$

$$W = \text{Work}$$

$$F = \text{Rat weight}$$

$$D_y = \text{Distance} * \text{Sin}16$$

## 1. Maximal Aerobic Velocity



جدول ۱. جزئیات تمرینات تداومی با شدت متوسط

Table 1. Details of moderate-intensity continuous training

سرد کردن Cool Down	تمرین اصلی Main Exercise	MAV%	گرم کردن Warm Up	هفته Week
زمان (دقیقه) Time (Min)	زمان (دقیقه) Time (Min)		زمان (دقیقه) Time (Min)	
	8-12			آشناسازی Familiarization
3	15	68%	3	1
3	24	75%	3	3
3	28	75%	3	4
3	32	80%	3	5
3	49	80%	3	12

Table 2. Details of high intensity interval training

سرد کردن Cool Down	زمان وهله با شدت پایین (دقیقه) time of low-intensity interval bout (Min)	وهله با شدت پایین Low intensity bout %MAV	تکرار Repetition	زمان وهله با شدت بالا (دقیقه) time of high-intensity interval bout (Min)	وهله با شدت بالا High intensity bout MAV%	گرم کردن Warm Up	هفته Week
							آشناسازی Familiarization
	8-12						
3	2	50%	3	4	80%	3	1
3	2	50%	4	4	90%	3	3
3	2	50%	5	4	90%	3	4
3	2	50%	5	4	93%	3	5
3	2	50%	9	4	93%	3	12

## شبیه‌سازی هیپوکسی هیپوباریک

برای ایجاد شرایط هیپوکسی و کاهش فشار اکسیژن مطابق آنچه در ارتفاع رخ می‌دهد، از روش کاهش فشار هوا (هیپوکسی هیپوباریک) استفاده شد (۲۴). برای این منظور، اتاقکی به ابعاد ۱۰۰×۱۵۰×۱۰۰ سانتی‌متر از ورقه‌های آهنی ۳ میلی‌متری پوشیده شده بارنگ الکترواستاتیک، توسط پژوهشگران این مطالعه در دانشگاه گیلان ساخته شد. از دو پمپ وکیوم مدل Value N115 VE به‌منظور خارج کردن مولکول‌های هوا و کاهش فشار هوای داخل دستگاه استفاده شد. میزان فشار درون اتاقک توسط حسگر الکترونیکی فشار مدل MPX5500، میزان CO<sub>2</sub> درون اتاقک توسط حسگر MG-812 با دقت ۰/۱ و اکسیژن توسط حسگر AlphaSense O2-A2 با دقت ۰/۱ درصد به‌صورت خودکار اندازه‌گیری شد. همانند سایر دستگاه‌های شبیه‌ساز ارتفاع، از جاذب شیمیایی سودالایم و سلیکا ژل به‌منظور حفظ سطح CO<sub>2</sub> و رطوبت داخل اتاقک استفاده شد (۲۵).

میزان CO<sub>2</sub> در طول مدت تمرین بین ۳۵۰-۷۰۰ ppm نوسان داشت که این میزان افزایش هیچ‌گونه اثر منفی روی موجودات زنده نخواهد داشت (۲۶). میزان تخلیه مولکول‌های هوا به‌گونه‌ای تنظیم شد تا رسیدن به فشار معادل ارتفاع ۳۰۰۰ متر ۱۰ دقیقه زمان نیاز داشته باشد. به‌عبارت‌دیگر کاهش فشار داخل اتاقک برابر با سرعتی معادل ۳۰۰ متر در دقیقه افزایش ارتفاع بود. برای شبیه‌سازی ارتفاع ۳۰۰۰ متر، فشار اکسیژن در حدود ۱۴۰ میلی‌بار حفظ شد. انتخاب ارتفاع ۳۰۰۰ متر از آن‌جهت بود که نشان داده شده در این شرایط، عملکردهای روزانه بدون هیچ‌گونه عکس‌العمل منفی حفظ خواهد شد (۲۷).

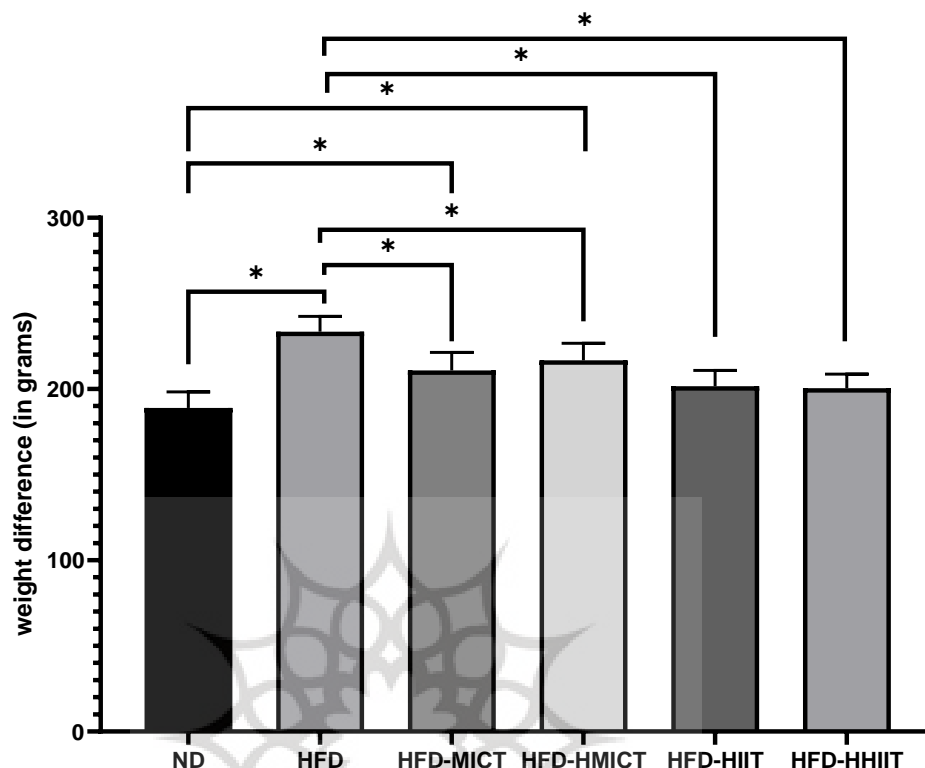
با توجه به اهداف پژوهش، بافت‌برداری و جمع‌آوری نمونه‌های سرمی در پایان مداخلات تغذیه‌ای و تمرینی انجام شد. برای این منظور، چهل‌وهشت ساعت پس از اتمام دوره تمرینی و باهدف از بین بردن اثر کوتاه‌مدت تمرین، رت‌ها با استفاده از روش تزریق درون صفاقی ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین ۱۰ درصد و ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم زایلازین ۲ درصد بی‌هوش شدند (۲۸). جهت بررسی محتوای چربی ذخیره شده کبد، رنگ‌آمیزی Oil Red O Stain با استفاده از کیت Oil Red O Stain ab (BM-600 LED EPI Germany-AXIOM مدل) و فلورسنت شرکت Mshot ساخت کشور چین و نرم‌افزار J Image برای ارزیابی تعداد و مساحت قطرات چربی استفاده شد.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) به‌منظور توصیف داده‌ها استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ولیک مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین سطح معناداری داده‌ها از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک‌راهه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری  $P < 0/05$  استفاده گردید.

## یافته‌ها

### اثر رژیم غذایی و تمرین بر وزن

وزن رت‌ها پس از مداخلات تغذیه‌ای و تمرینی در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد وزن رت‌ها در همه گروه‌ها افزایش یافت. این در حالی است که در گروه‌های HFD، HFD+MICT و HFD+HMICT رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش معنادار وزن نسبت به گروه ND شد. به‌طوری‌که وزن گروه HFD در حدود ۲۴ درصد بیشتر از گروه ND بود. میزان افزایش در گروه HFD+MICT و HFD+HMICT به ترتیب ۱۳ درصد و ۱۶ درصد بود. نتایج آزمون واریانس یک‌راهه نشان داد وزن رت‌ها در گروه‌های HFD+MICT و HFD+HMICT به‌طور معناداری نسبت به گروه HFD کمتر بود ( $P < 0/01$ ). اختلاف وزن رت‌های گروه HFD-HIIT و HFD-HHIIT نسبت به گروه HFD در سطح معناداری بود ( $p < 0/05$ ). تفاوت معناداری بین گروه ND و HFD-HIIT و HFD-HHIIT وجود نداشت.



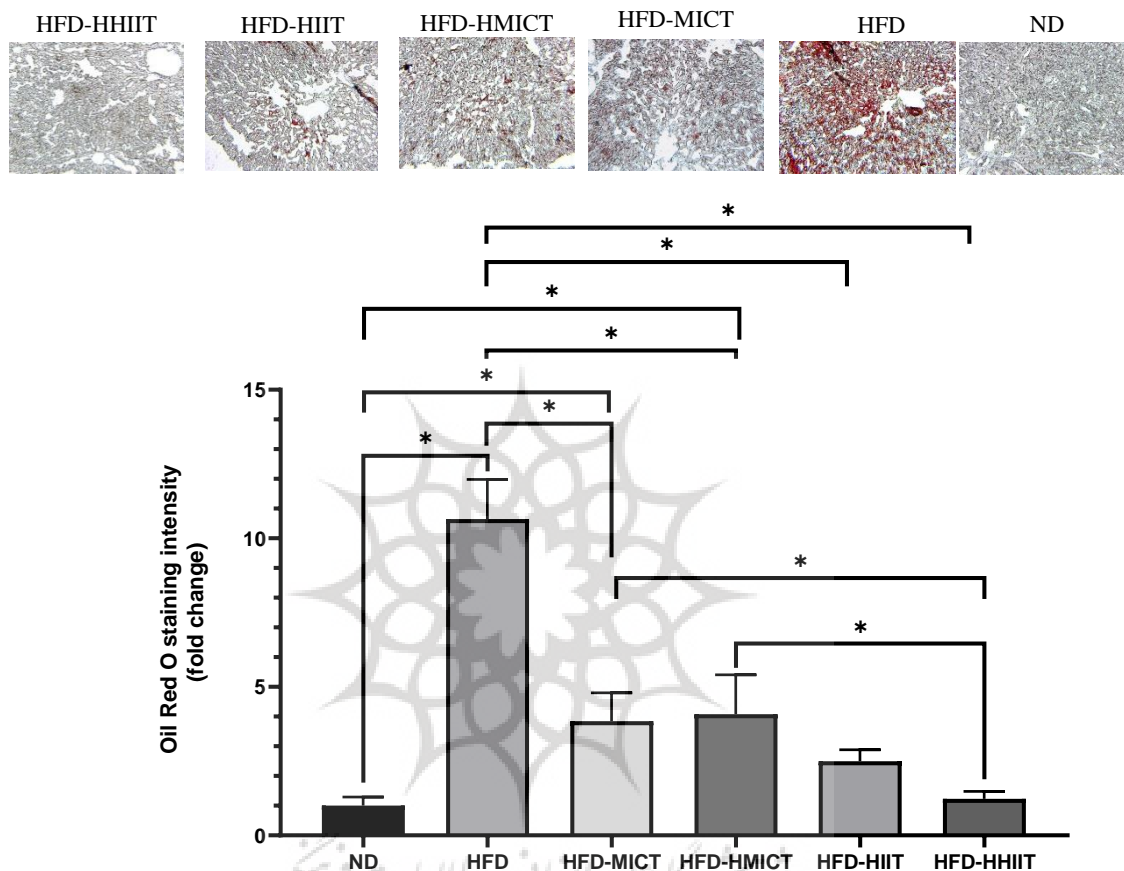
شکل ۱. تغییر وزن رت‌ها. ND رژیم غذایی نرمال، HFD رژیم غذایی پرچرب، HFD-MICT، رژیم غذایی پرچرب و تمرین تداومی با شدت متوسط، HFD-HMICT رژیم غذایی پرچرب و تمرین با شدت متوسط در هیپوکسی، HFD-HIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا، HFD-HHIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا در هیپوکسی. \* اختلاف در سطح معناداری  $P < 0.05$

Figure 1. Weight change of rats. ND normal diet, HFD high-fat diet, HFD-MICT, high-fat diet and moderate-intensity continuous exercise, HFD-HMICT high-fat diet and moderate-intensity exercise in hypoxia, HFD-HIIT high-fat diet and high-intensity interval exercise, HFD-HHIIT high-fat diet and high-intensity interval training in hypoxia. \* Difference in significance level  $P < 0.05$

### اثر رژیم غذایی و تمرین بر محتوای چربی کبدی

تغییرات میزان تجمع چربی کبد رت‌ها در طول ۱۲ هفته مداخلات تغذیه‌ای و تمرینی در شکل ۲ گزارش شده است. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد محتوای چربی کبد رت‌های در همه گروه‌ها نسبت به گروه ND افزایش یافت. این در حالی است که تمرین به طور موثری از افزایش محتوای چربی کبد نسبت به گروه HFD ( $P < 0.005$ ) جلوگیری کرد. بر اساس نتایج حاصل از کمی‌سازی با روش رنگ‌آمیزی Oil Red، رژیم غذایی پرچرب سبب افزایش  $10/64 \pm 1/84$  برابری قطرات چربی کبد رت‌های دارای رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه ND گردید و این افزایش به لحاظ آماری معنادار بود ( $P < 0.001$ ). HIIT در مقایسه با MICT در حفظ محتوای چربی در مقادیر پایه، شیوه مؤثرتری بود. به‌گونه‌ای که تنها در گروه‌های HFD-HIIT و HFD-HHIIT میزان محتوای چربی با گروه ND تفاوت معناداری نداشت. تفاوت معناداری بین گروه‌های HFD-HIIT و HFD-HHIIT در افزایش محتوای چربی مشاهده نشد. مطابق نتایج پژوهش، اگرچه تمرین سبب

کاهش معنادار محتوای چربی کبد رت‌ها در گروه MICT و HMICT نسبت به گروه HFD شد ( $P < 0.05$ )، اما نتوانست سبب غیرمعنادار شدن تفاوت با گروه ND شود. میزان محتوای چربی در گروه MICT و MICT به ترتیب ۳/۸ و ۴ برابر گروه ND بود. میان گروه‌های HMICT و MICT در کاهش محتوای چربی کبدی تفاوت معناداری وجود نداشت ( $P = 0.99$ ).



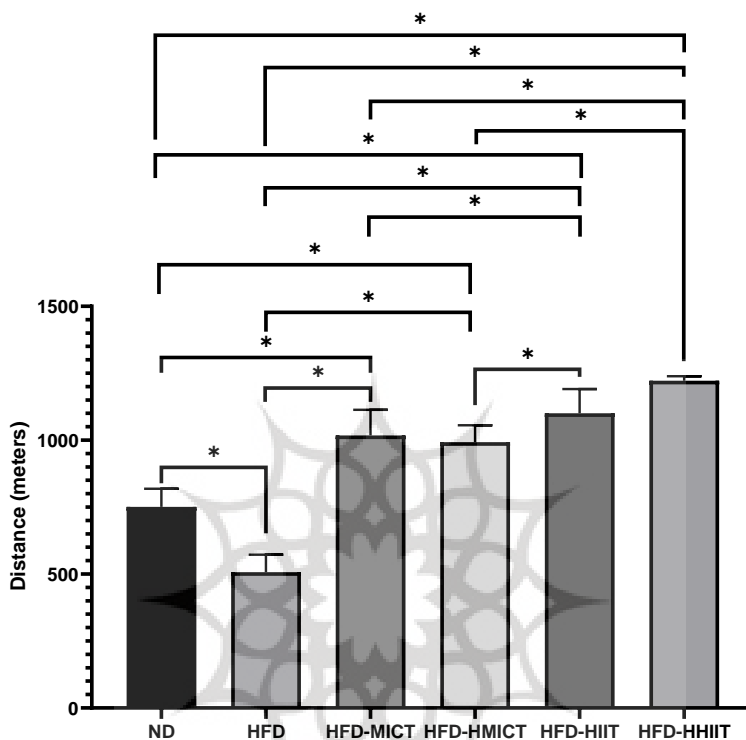
شکل ۲. تغییر محتوای چربی کبدی رت‌ها. ND رژیم غذایی نرمال، HFD رژیم غذایی پرچرب، HFD-MICT، رژیم غذایی پرچرب و تمرین تداومی با شدت متوسط، HFD-HMICT رژیم غذایی پرچرب و تمرین با شدت متوسط در هیپوکسی، HFD-HIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا، HFD-HHIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا در هیپوکسی. \* اختلاف در سطح معناداری  $P < 0.05$

Figure 2. Changes in rat's liver fat content. ND normal diet, HFD high-fat diet, HFD-MICT, high-fat diet and moderate-intensity continuous training, HFD-HMICT high-fat diet and moderate-intensity training in hypoxia, HFD-HIIT high-fat diet and high-intensity interval training, HFD-HHIIT high-fat diet and high-intensity interval training in hypoxia. \* Difference in significance level  $P < 0.05$

### اثر رژیم غذایی و تمرین بر ظرفیت هوازی

حداکثر مسافت طی شده پس از ۱۲ هفته مداخله تغذیه‌ای و ورزشی در شکل ۳ نشان داده شده است. میزان مسافت طی شده در تمامی گروه‌ها نسبت به گروه HFD به‌طور معناداری بالاتر بود. بالاترین مسافت طی شده مربوط به گروه HFD-HHIIT بود. رت‌های این گروه به‌طور متوسط مسافت ۱۲۲۲/۰۷ متر را طی کردند که اختلاف معناداری با گروه‌های

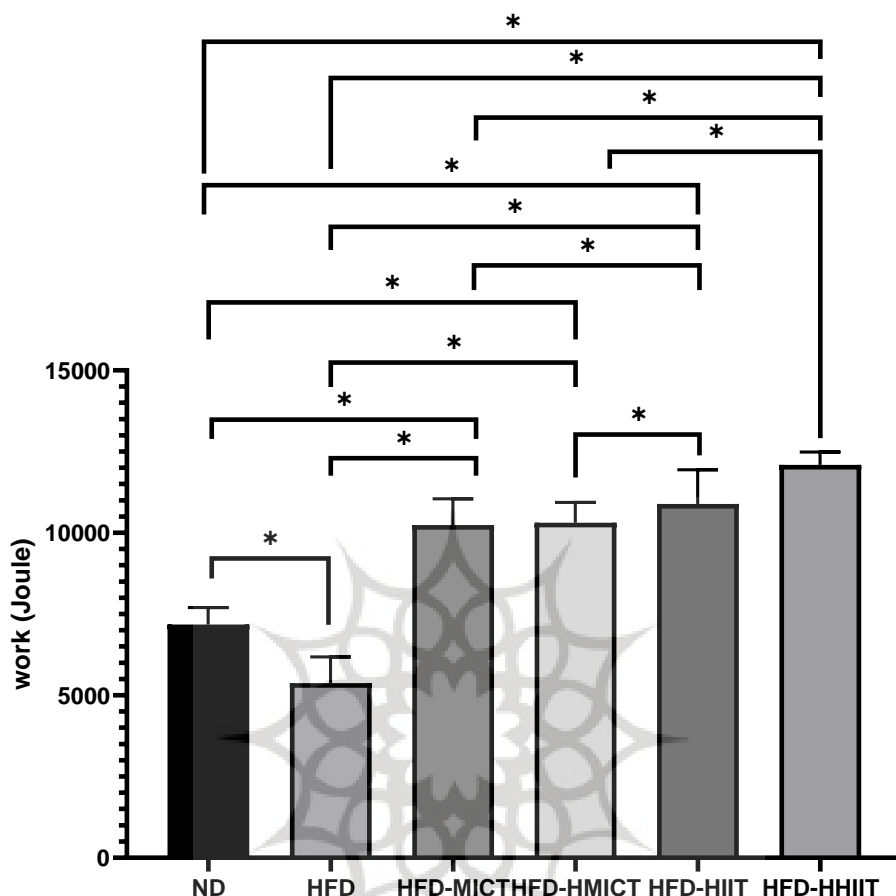
HFD-MICT و HFD-HMICT ( $P < 0.05$ ) داشتند اما اختلاف با گروه HFD-HIIT در سطح معناداری نبود ( $P = 0.051$ ). گروه تمرینی HFD-HIIT با طی کردن مسافت متوسط  $1100/65$  اختلاف معناداری با گروه‌های HFD-MICT و HFD-HMICT داشت ( $P < 0.05$ ).



شکل ۳. مسافت آزمون ظرفیت هوازی. ND رژیم غذایی نرمال، HFD رژیم غذایی پرچرب، HFD-MICT، رژیم غذایی پرچرب و تمرین مداوم با شدت متوسط، HFD-HMICT رژیم غذایی پرچرب و تمرین با شدت متوسط در هیپوکسی، HFD-HIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا، HFD-HHIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا در هیپوکسی. \* اختلاف در سطح معناداری  $P < 0.05$ .

Figure 3. Aerobic capacity test distance. ND normal diet, HFD high-fat diet, HFD-MICT, high-fat diet and moderate-intensity continuous training, HFD-HMICT high-fat diet and moderate-intensity training in hypoxia, HFD-HIIT high-fat diet and high-intensity interval training, HFD-HHIIT high-fat diet and high-intensity interval training in hypoxia. \* Difference in significance level  $P < 0.05$

از آنجایی که تمرینات اینتروال با شدت بالا در تغییرات وزنی رت‌ها در طول دوره تحقیق مؤثرتر عمل کردند، این احتمال وجود دارد که میزان مسافت طی شده در گروه‌های تمرینی با شدت بالا ناشی از وزن کمتر رت‌های این گروه باشد. به‌منظور از بین بردن اثر وزن، میزان کار انجام‌شده توسط رت‌های هر گروه در شکل ۴ نمایش داده شده است. بر اساس نتایج تحلیل داده‌های این تحقیق، میزان کار انجام شده در تمامی گروه‌ها نسبت به گروه HFD به‌طور معناداری بالاتر بود. در گروه‌های HFD-HIIT و HFD-HHIIT کار انجام شده به‌طور معناداری بیشتر از HFD-MICT و HFD-HMICT بود. اختلاف بین گروه‌های HFD-HIIT و HFD-HHIIT در سطح معناداری نبود ( $P > 0.05$ ).



شکل ۴. کار انجام شده در طول آزمون ظرفیت هوازی. ND رژیم غذایی نرمال، HFD رژیم غذایی پرچرب، HFD-MICT رژیم غذایی پرچرب و تمرین مداومی با شدت متوسط در هیپوکسی، HFD-HIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا، HFD-HMICT رژیم غذایی پرچرب و تمرین با شدت متوسط در هیپوکسی، HFD-HHIIT رژیم غذایی پرچرب و تمرین اینتروال با شدت بالا در هیپوکسی. \* اختلاف در سطح معناداری  $P < 0.05$ .

**Figure 4.** The work performed during the aerobic capacity test. ND normal diet, HFD high-fat diet, HFD-MICT, high-fat diet and moderate-intensity continuous training, HFD-HMICT high-fat diet and moderate-intensity training in hypoxia, HFD-HIIT high-fat diet and high-intensity interval training, HFD-HHIIT high-fat diet and high-intensity interval training in hypoxia. \* Difference in significance level  $P < 0.05$ .

### اثر رژیم غذایی و تمرین بر ویژگی‌های خونی

در جدول ۳ ویژگی‌های هماتولوژی رت‌ها آورده شده است. تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد میزان لکوسیت‌ها در گروه HFD نسبت به گروه ND به‌طور معناداری افزایش یافته بود ( $P < 0.05$ ). همچنین نشان داده شده که تمامی شیوه‌های تمرینی مانع افزایش سطح لکوسیت‌ها ناشی از رژیم غذایی پرچرب می‌شوند. اختلاف معناداری میان گروه‌های تمرینی مشاهده نشد. هیچ

تفاوت معناداری در سطح سلول‌های قرمز خون<sup>۱</sup> (RBC) و هموگلوبین<sup>۲</sup> (HGB) بین گروه‌ها پس از پایان ۱۲ هفته مداخله غذایی و تمرینی مشاهده نشد. اگرچه سطح HGB در گروه‌های HFD کاهش یافته بود، اما این کاهش در سطح معنادار نبود. سطوح هماتوکریت<sup>۳</sup> (HCT) در گروه HFD به‌طور معناداری نسبت به گروه ND کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). سطح HCT در تمامی گروه‌های تمرینی افزایش یافت. اما این افزایش تنها در گروه‌های HFD-HIIT و HFD-HHIIT در سطح معناداری قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). مقادیر لنفوسیت<sup>۴</sup> (LYM) خون رت‌ها پس از ۱۲ هفته مداخله غذایی به‌طور معناداری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). نتایج حاکی از آن است که تمرین مانع از افزایش سطوح لنفوسیت‌ها در تمامی گروه‌های تمرینی شد و تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرینی مشاهده نشد.

جدول ۳- ویژگی‌های هماتولوژی رت‌ها

Table 3- Hematology characteristics of rats

Group	WBC*10 <sup>3</sup> μ L	RBC*10 <sup>6</sup> μ L	HGB g/dl	HCT%	MCV%	LYM*10 <sup>3</sup> μ L
ND	7/16±1/32 <sup>†</sup>	7/71±0/42	15/58±0/91	45/57±2/77* <sup>+</sup>	55/47±1/48	6/18±2/33* <sup>+</sup>
HFD	16±1/58	7/33±0/71	14/23±0/96	39/13±1/08	55/43±1/14	14/08±1/58
HFD-MICT	8/73±1/58*	7/72±0/36	15/65±0/57	43/72± 2/08	56/65±1/83	7/45±1/87* <sup>+</sup>
HFD-HMICT	10/88±2/79*	7/56±0/31	15/36±0/76	42/78±2/16	56/54±1/65	9/36±2/83* <sup>+</sup>
HFD-HIIT	10/77±2/49*	7/82±0/62	15/68±1/32	45/37±4/19* <sup>+</sup>	58/30±1/34** <sup>+</sup> †	9/30±2/17* <sup>+</sup>
HFD-HHIIT	7/9±1/14*	7/71±0/22	15/62±0/54	45/05±2/52* <sup>+</sup>	58/27±1/49** <sup>+</sup> †	7/15±4/3* <sup>+</sup>

+ اختلاف معنادار با گروه ND، † اختلاف معنادار با گروه HFD، \* اختلاف معنادار با گروه HFD-MICT، \*\* اختلاف معنادار با گروه HFD-HMICT

+Significant difference with Group ND, † Significant difference with Group HFD, \* Significant difference with Group HFD-MICT, \*\* Significant difference with Group HFD-HMICT.

### بحث و نتیجه‌گیری

نتیجه مطالعه حاضر نشان می‌دهد محتوای چربی کبد در رت‌های گروه HFD نسبت به گروه ND افزایش داشته و تمرین توانسته تا حدودی مانع افزایش محتوای چربی کبدی شود. از آنجایی که تمرینات تداومی با شدت متوسط و تناوبی با شدت بالا هم‌حجم شده بودند، احتمالاً کاهش محتوای چربی کبد تا حدودی وابسته به شدت تمرین است. همسو با مطالعه حاضر، کریستین<sup>۵</sup> و همکاران نشان دادند شدت عاملی اثرگذارتر نسبت به مدت و یا حجم کلی تمرین در بهبود علائم NAFLD است (۲۹). گو<sup>۶</sup> و همکاران نیز نشان دادند تمرینات با شدت متوسط و تمرینات اینتروال با شدت بالا چگالی قطرات چربی کبدی ناشی از HFD را به ترتیب ۵۳ و ۷۰ درصد کاهش دادند (۳۰). در معود پژوهش‌های که تمرینات HIIT و MICT ایزوکالری شده بود، وین<sup>۷</sup> و همکاران در موش‌های چاق نشان دادند اگرچه تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرینی پس از چهار هفته تمرین مشاهده نشد، اما تمرینات HIIT کاهش بیشتر (۱/۸ برابر) محتوای چربی را به همراه داشت (۳۱). به نظر

1. Red Blood Cells
2. Hemoglobin
3. Hematocrit
4. Lymphocytes
5. Kristin
6. Gu
7. Winn

می‌رسد با افزایش زمان تمرین، احتمالاً این تغییرات در سطح معناداری قرار می‌گرفت. چندین استراتژی دارویی و غیردارویی برای کاهش اثرات منفی NAFLD پیشنهاد شده‌اند. در میان رویکردهای غیردارویی، به‌منظور کاهش اختلالات مرتبط با متابولیسم NAFLD سازگاری‌های متنوع ناشی از ورزش مورد تأیید پژوهشگران قرار دارد. در سال‌های اخیر، علاقه فزاینده‌ای به مطالعه آثار شدت و شیوه‌های مختلف تمرینی بر مصرف انرژی و متابولیسم لیپیدها وجود داشته است. با این وجود تاکنون هیچ پژوهشی آثار تمرینات هم‌حجم شده (در شرایط هیپوکسی هیپوباریک و یا نرم‌اکسی) در جلوگیری از ابتلا به کبد چرب را مورد بررسی قرار نداده است.

در بخش دیگر، نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین تداومی با شدت پایین در شرایط هیپوکسی در مقایسه با شرایط نرم‌اکسی مزایای اضافی در کاهش محتوای چربی کبد به همراه نداشت. اما در تمرینات تناوبی، اگرچه تفاوت بین گروه HHIIT و HIIT در سطح معناداری نبود، اما در گروه HIIT محتوای چربی کبد دو برابر بیشتر از گروه HHIIT بود. این نتایج در شرایط بود که در گروه HHIIT نسبت به گروه HIIT به دلیل شدت مطلق پایین‌تر، انرژی کمتری حین تمرین مصرف می‌شد. از آنجایی که قبلاً نشان داده‌ایم تمرین تداومی با شدت متوسط در شرایط هیپوکسی سبب افزایش ژن‌های درگیر در لیپولیز (۳۲) و اتوفاژی (۳۳) می‌شود، هیپوکسی هیپوباریک محیط و نیاز به مصرف اکسیژن بیشتر حین فعالیت ورزشی و کاهش جریان خون بافت کبد (۳۴، ۳۵) احتمالاً در قسمت‌هایی از کبد کمبود اکسیژن و هیپوکسی حاد را به دنبال داشته باشد. به نظر می‌رسد با افزایش شدت تمرین، هیپوکسی موضعی بافت کبد نیز افزایش می‌یابد. ترکیب این عوامل می‌تواند محرکی قدرتمند در تنظیم اتوفاژی و متابولیسم چربی ذخیره‌شده در بافت کبد باشد. به‌هرحال، اگرچه کاهش محتوای چربی در گروه HHIIT نسبت به گروه HIIT غیر معنادار بود، اما ممکن است این نتایج به لحاظ بالینی نویدبخش باشد.

داده‌های این پژوهش نشان دادند که رژیم غذایی پرچرب با افزایش لکوسیت‌ها همراه بود که می‌تواند بیانگر التهاب مزمن باشد. این نتایج در راستای پژوهش‌های قبلی است که نشان می‌دهند رژیم غذایی پرچرب در درازمدت سبب افزایش لکوسیت‌ها و التهاب سیستمی می‌شود (۳۶). داده‌های پژوهش حاضر نشان داد، تمرین از افزایش لکوسیت‌های ناشی از رژیم غذایی پرچرب جلوگیری کرد. بیشترین کاهش در گروه HFD-HHIIT مشاهده شد. آنالیز دقیق‌تر هماتولوژی روی تعداد مطلق لنفوسیت نشان داد میزان لنفوسیت‌ها مشابه لکوسیت‌ها تغییر کرده است. نتایج تحقیق پارک و همکاران (۳۷) نیز نشان داد تمرین اینتروال در شرایط هیپوکسی سبب تغییر متغیرهای مرتبط با سیستم ایمنی در محدوده نرمال می‌شود. پاین<sup>۱</sup> و همکاران نیز نشان دادند تمرین و اقامت در ارتفاع (۲۱۰۲ متر) به مدت ۲۱ روز سبب کاهش میزان تعداد لکوسیت‌های خون در هر دو گروه کنترل و تمرین شد. برخلاف یافته‌های پاین و همکاران که تغییرات ناشی از تمرین را نسبت به تغییرات ناشی از ارتفاع ثانویه می‌دانستند، نتیجه پژوهش حاضر این رابطه را نشان نداد. یکسان نبودن پروتکل‌های تمرینی (برخلاف پاین، در این پژوهش از پروتکل تمرین در ارتفاع بالا (۳۰۰۰ متر) و اقامت در ارتفاع پایین (۵۰ متر) استفاده شد) و میزان قرارگیری در معرض ارتفاع از علل احتمالی هستند که می‌توانند در متناقض بودن نتایج اثرگذار باشند. بروگنیا<sup>۲</sup> و همکاران نیز نتوانستند ثانویه بودن تغییرات آثار تمرین نسبت به تغییرات ناشی از ارتفاع را نشان دهند. این پژوهشگران از هیپوکسی ایزوباریک و

1. Pyne
2. Brugniaux



پروتکل تمرین در ارتفاع پایین (۱۲۰۰) و اقامت در ارتفاع بالا (۳۵۰۰، ۳۰۰۰، ۲۵۰۰ متر) به مدت ۱۵ روز استفاده کردند (۱۸). با توجه به داده‌های این تحقیق به نظر می‌رسد تمرین در شرایط هیپوکسی اثر منفی بر لکوسیت‌ها ندارد. نتایج تحقیقات در خصوص اثرگذاری شیوه‌های تمرینی بر میزان لکوسیت‌ها و عملکرد سیستم ایمنی متفاوت است. به عنوان مثال، خامسی<sup>۱</sup> و همکاران نشان دادند نه هفته تمرین HIIT در مقایسه با MICT در افراد فعال سبب کاهش معناداری سطح لنفوسیت‌های خون می‌گردد. از نظر این محققان، تمرینات MICT در مقایسه با تمرینات HIIT شیوه مؤثرتری در بهبود عملکرد سیستم ایمنی محسوب می‌شود (۳۸). یافته‌های رایبسون<sup>۲</sup> نیز نشان می‌دهد که یک دوره تمرین دوهفته‌ای با شدت متوسط ممکن است منجر به پاسخ‌های ضدالتهابی بیشتر در افراد غیرفعال دارای اضافه‌وزن و چاق شود (۳۹). در مقابل، یونیارتو<sup>۳</sup> تفاوت معناداری بین گروه‌های HIIT و MICT پس از شش هفته گزارش نکردند (۴۰). تحقیقاتی که نشان می‌دهند تمرینات HIIT سبب کاهش عملکرد سیستم ایمنی می‌شوند، عموماً اثر یک جلسه تمرین را مورد بررسی قرار می‌دهند. با این حال، فرض بر این است که اگرچه در این پژوهش‌ها تمرینات HIIT ممکن است تأثیر منفی بر عملکرد سیستم ایمنی داشته باشد، اما افزایش احتمال ابتلا به عفونت، بیشتر به برنامه‌ریزی تمرینی مرتبط است (۴۱). به هر حال، نتایج داده‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد تفاوتی میان تمرینات HHIIT و HIIT در جلوگیری از افزایش لکوسیت‌های خون و احتمالاً بهبود التهاب ناشی از رژیم غذایی پرچرب وجود ندارد.

نتایج داده‌های این پژوهش نشان می‌دهد چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب سبب کاهش ظرفیت هوازی رت‌ها شد. تمرین افزایش معناداری بر ظرفیت هوازی و ظرفیت کار انجام‌شده در رت‌های دارای رژیم غذایی پرچرب را به همراه داشت. به طور کلی، تمرینات از نوع تناوبی در بهبود این ظرفیت‌های فیزیولوژیکی شیوه مؤثرتری نسبت به تمرینات تداومی هستند. در حمایت از این مطلب، متانالیز ون<sup>۴</sup> و همکاران نشان داد HIIT حتی با وهله‌های پرشدت کوتاه ( $\geq 30$  ثانیه)، کم حجم ( $\geq 5$  دقیقه) در کوتاه‌مدت ( $\geq 4$  هفته) می‌توانند بر بهبود  $VO_{2max}$  مؤثر باشد (۴۲). مطابق نتایج پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد تفاوتی میان تمرینات هوازی با شدت متوسط در شرایط هیپوکسی ( $PO_2=14/63$ ) و تمرینات هوازی با شدت متوسط در شرایط نرم‌اکسی در بهبود ظرفیت هوازی رت‌ها وجود ندارد. شواهد اخیر نشان دادند اگر تمرین در شرایط هیپوکسی با شدت پایین‌تر از ۸۰ درصد  $VO_2max$  اجرا شود اثر مطلوبی نخواهد داشت. این اعتقاد وجود دارد در شدت‌های پایین‌تر از ۸۰ درصد  $VO_2max$  کاهش شدت مطلق تمرین (در تمرین در ارتفاع) تحت شرایط هیپوکسی منجر به نتیجه معکوس می‌شود. بنابراین به احتمال زیاد هیچ مزیتی در بهبود عملکرد هوازی به همراه ندارد (۱۱). مطابق نتایج پژوهش حاضر، در گروه‌های HFD-HIIT و HIIT اگرچه اختلاف در حداکثر مسافت طی شده معنادار نبود ( $P=0/057$ ) اما گروه HFD-HHIIT در مقایسه با گروه HFD-HIIT به لحاظ رکوردی ۱۱٪ بهتر عمل کردند. لازم به ذکر است اگرچه احتمالاً این نتایج به لحاظ سلامتی حائز اهمیت نباشند، اما در جمعیت ورزشکاران بهبودهای کم و غیر معنادار در عملکرد، می‌تواند مرزی بین برنده و بازنده شدن باشد.

1. Khammassi
2. Robinson
3. Yuniarto
4. Wen

در تحقیق حاضر میزان RBC و HGB تحت تأثیر رژیم غذایی، مدل تمرینی و ارتفاع قرار نگرفتند. اما میزان HCT در گروه‌های HFD، MICT و HMCT کاهش یافت. تمرینات تناوبی در جلوگیری از افزایش HCT ناشی از HFD و نگه‌داشتن آن در سطح پایه، شیوه مؤثری بود. تفاوت معناداری بین گروه‌های HFD-HIIT و HFD-HHIIT در افزایش HCT مشاهده نشد. مطالعات قبلی نیز نشان دادند هفت هفته رژیم غذایی پرچرب تأثیر معناداری بر پارامترهای RBC نداشته است. هرچند کاهش غیر معنادار در HGB و HCT گزارش شده است (۴۳). اگرچه برخی مطالعات افزایش RBC و HGB را از دلایل اصلی بهبود ظرفیت اکسیژن مصرفی در سازگاری‌های ناشی از هیپوکسی می‌دانستند (۴۴)، اما سایر مطالعات افزایش عملکرد را در غیاب تغییر این فاکتورهای خونی گزارش کردند (۴۵، ۴۶). اکثر مطالعاتی که افزایش حجم گلبول قرمز، توده گلبول قرمز و توده هموگلوبین را به دنبال تمرینات هیپوکسی گزارش کردند، از پروتکل اقامت در ارتفاع بالا و تمرین در ارتفاع پایین استفاده کردند. این‌طور به نظر می‌رسد تغییر پارامترهای خونی نیازمند قرارگیری با دوز مؤثر هیپوکسی (به‌عنوان مثال، قرار گرفتن در سطح ارتفاع مناسب، طول دوره و زمان) است و تحت تأثیر شدت فعالیت ورزشی اجرا شده در هیپوکسی قرار ندارد. در حمایت از این مطلب، رسکو<sup>۱</sup> و همکاران پیشنهاد کردند که میزان افزایش حجم RBC و جرم هموگلوبین به تعداد ساعات قرارگیری در معرض هیپوکسی مربوط می‌شود. پیشنهاد شده برای تغییرات RBC حداقل دوز بیش از ۱۲ ساعت در روز برای بیش از ۳ هفته و در ارتفاعی معادل ۲۱۰۰ تا ۲۵۰۰ متر باشد (۳۹).

بنابراین احتمالاً افزایش ظرفیت هوازی رت‌ها در گروه‌های تمرینی مستقل از RBC و HGB بود. نتایج مطالعات دیگر نیز مؤید این مطلب است (۴۷). در همین راستا، مطالعه پارک و همکاران<sup>۲</sup> نشان دادند سه جلسه تمرین اینتروال به مدت ۶ هفته در شرایط هیپوکسی هیپوباریک (فشاری معادل ۵۲۶ میلی‌متر جیوه، ارتفاع شبیه‌سازی شده ۳۰۰۰ متر) و نرم‌اکسی بدون تغییر در میزان RBC و HGB سبب بهبود عملکرد استقامتی دوندگان زن شده است (۳۷).

لازم به ذکر است اگرچه تفاوت معناداری در بهبود عملکرد بین گروه‌های تمرینی مشاهده نشد، اما این افزایش در گروه تمرین هیپوکسی بالاتر بود (۳۷). در مجموع پیشنهاد شده است احتمالاً عواملی نظیر حداکثر اکسیژن مصرفی، ضربان قلب بیشینه، حجم ضربه‌ای، آستانه لاکتات، اقتصاد دویدن، نوع تارهای عضلانی، چگالی مویرگی، آنزیم‌های هوازی و فاکتورهای خونی در عملکرد استقامت اثرگذار هستند (۴۸).

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، داده‌های ارائه‌شده در این پژوهش نشان داد با وجود اینکه رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش وزن، افزایش تجمع چربی کبدی و کاهش عملکرد استقامتی می‌شود، مطالعه حاضر شواهدی را فراهم می‌کند که نشان می‌دهد تمرینات ورزشی با شدت بالا به‌طور موثرتری از تجمع چربی کبدی جلوگیری می‌کند. تمرین با شدت متوسط در شرایط هیپوکسی نسبت به تمرین با شدت متوسط در شرایط نرم‌اکسی مزایای اضافه‌ای به همراه نداشت. این در حالی بود که در محیط هیپوکسی با افزایش شدت تمرین، شاهد افزایش عملکرد استقامتی به میزان ۱۱٪ و افزایش کمتر (۲/۰۲ برابر کمتر) محتوای چربی کبد نسبت به گروه HFD-HIIT بودیم. افزایش عملکرد استقامتی مستقل از تغییر RBC و HGB بود. به‌طور کلی، ممکن است مداخله هیپوکسی به دلیل قرار گرفتن کوتاه‌مدت در معرض هیپوکسی، تحریک کافی را برای افزایش این فاکتورها نداشته

1. Rusko
2. Park

(سه جلسه در هفته کمتر از ۱ ساعت در طول ۱۲ هفته) و در نتیجه تغییرات خونی مرتبط با ظرفیت انتقال اکسیژن را القا نکند.

### پیام مقاله

با توجه به اختلاف معنادار در محتوای چربی کبد رت‌های تحت رژیم غذایی پرچرب و گروه‌های تمرینی و همچنین افزایش عملکرد استقامتی ناشی از تمرین، به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی می‌تواند تا حدودی از اثرات منفی رژیم غذایی پرچرب جلوگیری نماید. تمرینات اینتروال به‌طور موثرتری محتوای چربی کبد را کنترل کرده و عملکرد استقامتی را افزایش می‌دهند. اگرچه کاهش محتوای چربی در گروه HHIIT در مقایسه با گروه HIIT قابل توجه نبود، اما این نتایج ممکن است از نظر بالینی حائز اهمیت باشند.

### تشکر و قدردانی

پژوهشگران بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولان محترم دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان اعلام می‌دارند.

### تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان اعلام می‌کنند هیچ‌گونه تعارض منافی در این مقاله وجود ندارد.

### منابع

1. Kim Y, Han E, Lee JS, Lee HW, Kim BK, Kim MK, et al. Cardiovascular Risk Is Elevated in Lean Subjects with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gut Liver*. 2022;16(2):290-9.
2. Kaori M, Philippe G. Role of Lipid Droplet Proteins in the Development of NAFLD and Hepatic Insulin Resistance. In: Rodrigo V, editor. *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*. Rijeka: IntechOpen; 2017. p. Ch. 3.
3. Younossi ZM, Henry L. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma. *JHep Reports*. 2021;3(4):100305.
4. Mantovani A, Dalbeni A. Treatments for NAFLD: state of art. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(5):2350.
5. Paik JM, Henry L, De Avila L, Younossi E, Racila A, Younossi ZM. Mortality Related to Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Increasing in the United States. *Hepatology*. 2019;3(11):1459-71.
6. Winn NC, Liu Y, Rector RS, Parks EJ, Ibdah JA, Kanaley JA. Energy-matched moderate and high intensity exercise training improves nonalcoholic fatty liver disease risk independent of changes in body mass or abdominal adiposity - A randomized trial. *Metabolism*. 2018;78:128-40.
7. Van Camp G. Cardiovascular disease prevention. *Acta Clin Belg*. 2014;69(6):407-11.
8. Mondal H, Mishra SP. Effect of BMI, Body Fat Percentage and Fat Free Mass on Maximal Oxygen Consumption in Healthy Young Adults. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(6):Cc17-cc20.
9. Regensteiner JG, Sippel J, McFarling ET, Wolfel EE, Hiatt WR. Effects of non-insulin-dependent diabetes on oxygen consumption during treadmill exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 1995;27(5):661-7.
10. Dufour SP, Ponsot E, Zoll J, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Geny B, et al. Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. I. Improvement in aerobic performance capacity. *J Appl Physiol* (1985). 2006;100(4):1238-48.
11. Levine BD. Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High Alt Med Biol*. 2002;3(2):177-93.

12. Sica A, Melillo G, Varesio L. Hypoxia: a double-edged sword of immunity. *J Mol Med (Berl)*. 2011;89(7):657-65.
13. Park HY, Jung WS, Kim SW, Lim K. Effects of Interval Training Under Hypoxia on the Autonomic Nervous System and Arterial and Hemorheological Function in Healthy Women. *Int J Womens Health*. 2022;14:79-90.
14. Andryas Y, Panggung S, editors. The Effect of Moderate Intensity Continuous Training (MICT) and High Intensity Interval Training (HIIT) on Erythrocytes, Leukocytes, and Platelets Level. Proceedings of the 2nd Yogyakarta International Seminar on Health, Physical Education, and Sport Science (YISHPESS 2018) and 1st Conference on Interdisciplinary Approach in Sports (CoIS 2018); 2018 2018/12: Atlantis Press.
15. Park HY, Jung WS, Kim J, Hwang H, Kim SW, An Y, et al. Effects of 2-Week Exercise Training in Hypobaric Hypoxic Conditions on Exercise Performance and Immune Function in Korean National Cycling Athletes with Disabilities: A Case Report. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(3).
16. Brugniaux JV, Schmitt L, Robach P, Jeanvoine H, Zimmermann H, Nicolet G, et al. Living high-training low: tolerance and acclimatization in elite endurance athletes. *Eur J Appl Physiol*. 2006;96(1):66-77.
17. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. *Eur J Sport Sci*. 2019;19(7):994-1003.
18. Keating SE, George J, Johnson NA. The benefits of exercise for patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;9(10):1247-50.
19. Hotamisligil GS. Inflammation and endoplasmic reticulum stress in obesity and diabetes. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32 Suppl 7(Suppl 7):S52-4.
20. Çolak R, Ağaşcıoğlu E, Çakatay U. "Live High Train Low" Hypoxic Training Enhances Exercise Performance with Efficient Redox Homeostasis in Rats' Soleus Muscle. *High Alt Med Biol*. 2021;22(1):77-86.
21. Gamelin FX, Aucouturier J, Iannotti FA, Piscitelli F, Mazzarella E, Aveta T, et al. Effects of chronic exercise on the endocannabinoid system in Wistar rats with high-fat diet-induced obesity. *J Physiol Biochem*. 2016;72(2):183-99.
22. Ahmadi A, Sheikholeslami-Vatani D, Ghaeni S, Baazm M. The effects of different training modalities on monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4, hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), and PGC-1 $\alpha$  gene expression in rat skeletal muscles. *Mol Biol Rep*. 2021;48(3):2153-61.
23. Seo DY, McGregor RA, Noh SJ, Choi SJ, Mishchenko NP, Fedoreyev SA, et al. Echinochrome A Improves Exercise Capacity during Short-Term Endurance Training in Rats. *Mar Drugs*. 2015;13(9):5722-31.
24. Flores K, Siques P, Brito J, Ordenes S, Arriaza K, Pena E, et al. Lower Body Weight in Rats Under Hypobaric Hypoxia Exposure Would Lead to Reduced Right Ventricular Hypertrophy and Increased AMPK Activation. *Front Physiol*. 2020;11:342.
25. Gauthier MS, Couturier K, Latour JG, Lavoie JM. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J Appl Physiol (1985)*. 2003;94(6):2127-34.
26. Wu F-F, Zhang K-L, Wang Z-M, Yang Y, Li S-H, Wang J-Q, et al. Benefit of a single simulated hypobaric hypoxia in healthy mice performance and analysis of mitochondria-related gene changes. *Scientific Reports*. 2021;11(1):4494.
27. Wang R, Guo S, Tian H, Yang Q, Zhao K, Kuo C-H, Chen P. Hypoxic training in obese mice improves metabolic disorder. *Frontiers in endocrinology*. 2019;10:464573.
28. Santos-Alves E, Marques-Aleixo I, Rizo-Roca D, Torrella J, Oliveira P, Magalhães J, Ascensão A. Exercise modulates liver cellular and mitochondrial proteins related to quality control signaling. *Life sciences*. 2015;135:124-30.
29. Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, Diehl AM, Sallis JF, Schwimmer JB, Group NCR. Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. 2011;106(3):460-8.

30. Gu X, Ma X, Mo L, Wang Q. The role of exercise intensity on fatty liver in rats. *Journal of Physiological Investigation*. 2022;65(6):301-10.
31. Winn NC, Liu Y, Rector RS, Parks EJ, Ibdah JA, Kanaley JA. Energy-matched moderate and high intensity exercise training improves nonalcoholic fatty liver disease risk independent of changes in body mass or abdominal adiposity—a randomized trial. *Metabolism*. 2018;78:128-40.
32. Hoseeini M, Mohebbi H, Ghafoori H, Rezadoost MH. The effect of aerobic training in hypoxia and normoxia conditions on the signaling pathway of lipogenesis and lipolysis in the liver of male rats fed a high-fat diet. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2023:-. (Articles in Press).
33. Hosseini SM, Mohebbi H, Ghafoori H, Rezadoost MH. The effect of hypoxia and normoxia training on autophagy in male rats hepatocytes with a high-fat diet. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2023(Articles in Press).
34. Heinonen I, Kalliokoski KK, Hannukainen JC, Duncker DJ, Nuutila P, Knuuti J. Organ-specific physiological responses to acute physical exercise and long-term training in humans. *Physiology*. 2014;29(6):421-36.
35. Heinonen IHA, Kalliokoski KK, Hannukainen JC, Duncker DJ, Nuutila P, Knuuti J. Organ-specific physiological responses to acute physical exercise and long-term training in humans. *Physiology*. 2014;29(6):421-36.
36. Maysami S, Haley MJ, Gorenkova N, Krishnan S, McColl BW, Lawrence CB. Prolonged diet-induced obesity in mice modifies the inflammatory response and leads to worse outcome after stroke. *Journal of neuroinflammation*. 2015;12:1-12.
37. Park HY, Jung WS, Kim SW, Kim J, Lim K. Effects of Interval Training Under Hypoxia on Hematological Parameters, Hemodynamic Function, and Endurance Exercise Performance in Amateur Female Runners in Korea. *Front Physiol*. 2022;13:919008.
38. Khammassi M, Ouerghi N, Said M, Feki M, Khammassi Y, Pereira B, et al. Continuous Moderate-Intensity but Not High-Intensity Interval Training Improves Immune Function Biomarkers in Healthy Young Men. *J Strength Cond Res*. 2020;34(1):249-56.
39. Robinson E, Durrer C, Simtchouk S, Jung ME, Bourne JE, Voth E, Little JP. Short-term high-intensity interval and moderate-intensity continuous training reduce leukocyte TLR4 in inactive adults at elevated risk of type 2 diabetes. *J Appl Physiol (1985)*. 2015;119(5):508-16.
40. Yuniarto A, Sutapa P, editors. The Effect of Moderate Intensity Continuous Training (MICT) and High Intensity Interval Training (HIIT) on Erythrocytes, Leukocytes, and Platelets Level. 2nd Yogyakarta International Seminar on Health, Physical Education, and Sport Science (YISHPESS 2018) and 1st Conference on Interdisciplinary Approach in Sports (CoIS 2018); 2018: Atlantis Press.
41. Souza D, Vale AF, Silva A, Araújo MA, de Paula Júnior CA, de Lira CA, et al. Acute and chronic effects of interval training on the immune system: A systematic review with meta-analysis. *Biology*. 2021;10(9):868.
42. Wen D, Utesch T, Wu J, Robertson S, Liu J, Hu G, Chen H. Effects of different protocols of high intensity interval training for VO<sub>2</sub>max improvements in adults: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Journal of science and medicine in sport*. 2019;22(8):941-7.
43. Alia F, Syamsunarno MRA, Sumirat VA, Ghozali M, Atik N. The Haematological profiles of high fat diet mice model with moringa oleifera leaves ethanol extract treatment. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2019;12(4):2143-9.
44. Levine BD, Stray-Gundersen J. “Living high-training low”: effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *Journal of applied physiology*. 1997;83(1):102-12.
45. Rusko HK, Tikkanen HO, Peltonen JE. Oxygen manipulation as an ergogenic aid. *Curr Sports Med Rep*. 2003;2(4):233-8.
46. Hendriksen IJ, Meeuwse T. The effect of intermittent training in hypobaric hypoxia on sea-level exercise: a cross-over study in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2003;88(4-5):396-403.

47. Czuba M, Waskiewicz Z, Zajac A, Poprzecki S, Cholewa J, Roczniok R. The effects of intermittent hypoxic training on aerobic capacity and endurance performance in cyclists. *J Sports Sci Med*. 2011;10(1):175-83.
48. Reaburn P, Dascombe B. Endurance performance in masters athletes. *European Review of Aging and Physical Activity*. 2008;5:31-42.

