

مقایسه تأثیر تمرین اینتروال شدید و تمرین استقامتی کم شدت بر بیان ژن Hig2 و محتوای چربی درون کبدی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکی (NAFLD)

محمدحسین باقری^۱، اکبر اعظمیان جزئی^۲، ابراهیم بنی طالبی^۳، محمدحسین نصر اصفهانی^۳

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، ^۲ گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، ^۳ پژوهشکده زیست
فناوری رویان، اصفهان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۳/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۴

چکیده

زمینه و هدف: بیماری کبد چرب غیرالکی اصلی‌ترین بیماری کبدی است که بروز آن با عادات نادرست غذایی و اضافه وزن ارتباط دارد. هدف این پژوهش مقایسه اثرات ۸ هفته تمرین اینتروال شدید (HIIT) و تمرین استقامتی کم شدت (LIET) بر بیان ژن Hig2 و محتوای تری گلیسیرید کبدی رت‌های مبتلا به کبد چرب (NAFLD) بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۰ رت نر ویستار به طور تصادفی در چهار گروه مساوی تقسیم شدند. گروه‌های کنترل، LIET و HIIT که به مدت ۱۶ هفته غذای پر چرب با هدف ایجاد کبد چرب مصرف کردند و گروه شم که در این مدت از غذای استاندارد استفاده کرد. تمرین گروه HIIT شامل مراحل از دویدن شدید بر اساس درصدی از حداکثر سرعت بود که با دویدن کم شدت به عنوان استراحت فعال جدا شده بود. تمرین گروه LIET نیز بر اساس مسافت طی شده گروه HIIT هم‌سان‌سازی شده بود. در پایان ۸ هفته تمرین، میزان بیان ژن Hig2 و محتوای چربی کبدی اندازه‌گیری شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری کروسکال-والیس تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بین گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن Hig2 ($p=0/006, K^2=12/43$) و IHL ($p=0/001, K^2=32/84$) مشاهده شد. تفاوت‌های معنی‌دار در بیان ژن Hig2 بین گروه کنترل و گروه HIIT ($p=0/031$) و گروه کنترل با LIET ($p=0/012$) مشاهده شد، اما تفاوت‌های معنی‌دار در بیان ژن Hig2 بین گروه HIIT و گروه LIET مشاهده نشد ($p=0/453$). همچنین، تفاوت‌های معنی‌دار در IHL بین گروه کنترل و HIIT ($p=0/001$) و گروه کنترل با LIET ($p=0/001$) مشاهده شد. همچنین، تفاوت‌های معنی‌دار در IHL بین گروه HIIT و گروه LIET مشاهده شد ($p=0/003$).

نتیجه‌گیری: تمرین‌های تناوبی شدید و هم تمرین‌های تداومی با شدت کم از طریق کاهش در بیان ژن Hig2 باعث کاهش محتوای چربی کبدی و بهبود NAFLD می‌شود. همچنین، کاهش چربی کبدی در گروه تمرین تناوبی شدید به طور مستقل از کاهش وزن رخ می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: کبد چرب غیر الکی، تمرین تناوبی شدید، تمرین استقامتی کم شدت، پروتئین حاصل ژن ۲ القاء هیپوکسی، چربی درون کبدی

* نویسنده مسئول: اکبر اعظمیان جزئی، شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، گروه علوم ورزشی

Email: azamianakbar@yahoo.com

مقدمه

بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD)^(۱) اصلی‌ترین بیماری کبدی محسوب می‌شود که بروز آن در افراد چاق و دارای دیابت نوع ۲ شیوع زیادی دارد (۱). عادات نادرست غذایی و کاهش روز افزون میزان فعالیت بدنی باعث افزایش این بیماری شده است (۲)، به طوری که ۲۰ تا ۴۰ درصد جمعیت جهان به درجه‌های مختلف این بیماری مبتلا شده‌اند (۳). وجود بیش از حد قطرات چربی (LD)^(۲) در هپاتوسیت‌ها از نشانگان استئاتوز ساده است (بیش از ۵ درصد وزن آن) (۴ و ۵). NAFLD طیف گسترده‌ای از آسیب کبدی شامل استئاتوز ساده یا تجمع تری‌گلیسرید درون هپاتوسیت (IHL)^(۳) تا التهاب کبدی ناشی از رسوب چربی (NASH)^(۴)، فیبروز و سیروز کبدی را در برمی‌گیرد (۴).

شواهد نشان می‌دهد که میزان شکل‌گیری و هیدرولیز LD با پروتئین‌های متصل به آن (LDAPs)^(۵) مرتبط است (۶). آرایش برخی از این پروتئین‌ها در سطح LD به گونه‌ای است که آنها را قادر به کنترل میزان دسترسی لیپازها به استرهای چربی و درون هسته می‌کند. از طرفی، این پروتئین‌ها قادر هستند با تشکیلات مهم سلولی برای بیورژن‌LD نیز وارد تعامل شوند (۷). اخیراً پروتئین حاصل القاء ژن ۲ هیپوکسی (HIG2)^(۶) در آدیپوز و هپاتوسیت شناسایی شده است که در تعامل نزدیکی با LD قرار دارد و رابطه مستقیمی بین میزان آن با بیورژن لیپیدها و احتمالاً بروز استئاتوز وجود دارد (۸). مشخص شده

است که عوامل القاء هیپوکسی (HIFs)^(۷) از طریق تنظیم مثبت پروتئین HIG2 باعث افزایش تشکیل و رشد LD در کبد می‌شود (۹). HIG2 به لحاظ فضایی در محل قرارگیری برخی پروتئین‌های محدود کننده لیپولیز مانند پری‌لیپین ۲ و ۳ واقع شده و به عنوان نشانگری برای هیپوکسی کبدی نیز در نظر گرفته می‌شود (۱۰). HIG2 و مشخصاً ژن هدف آن یعنی HIF-1 یک تنظیم کننده مرکزی برای متابولیسم سلولی در شرایط هیپوکسی است که احتمالاً با تعامل پیچیده‌ای با سطح LD و ایجاد نقص در اکسیداسیون اسید چرب باعث تجمع بیشتر IHL و بروز استئاتوز می‌شود (۱۱ و ۱۲).

فعالیت بدنی، به عنوان نقطه اتصال میزان لیپوژنز و بتا‌اکسیداسیون در کبد، از اصلی‌ترین مصادیق تغییر سبک زندگی به شمار می‌رود. ورزش هم‌زمان با افزایش بتا‌اکسایش و کاهش لیپوژنز، یکی از تنظیم کننده‌های اصلی متابولیسم کبد محسوب می‌شود (۱۳) و با کاهش تنظیمی بیان برخی از پروتئین‌های مرتبط با LD و تأثیر آنها بر لیپازهایی چون ATGL^(۸) کبدی موجب کاهش ذخایر TG و افزایش بتا‌اکسیداسیون به صورت مستقل از تغییر بیان ژن‌های کبدی یا TG سرمی می‌شود (۷).

به طور سنتی، غالب پروتکل‌های تمرینی که برای افزایش لیپولیز طراحی شده‌اند شامل پیاده‌روی

- 1- Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases
- 2-Lipid Droplet
- 3-Intra Hepatocyte Lipid
- 4-Non-Alcoholic Steatohepatitis
- 5-LD-Associated Proteins (LDAPs)
- 6-Hypoxia- Inducible Protein 2
- 7-Hypoxia-Inducible Factors
- 8-Adipose Triglyceride Lipase

و جاگینگ بوده است که به تمرین در حالت پایدار^(۱) یا تمرین استقامتی با شدت کم (LIET)^(۲) شهرت دارد. این گونه تمرین‌های با افزایش بتااکسیداسیون و کاهش وزن چربی و هم‌چنین افزایش حساسیت انسولینی باعث ایجاد آبخاری از رویدادهای تنظیمی مؤثر در کاهش ذخایر چربی کبدی می‌شوند (۱۴). با این حال، استفاده طولانی مدت این تمرین‌ها، به لحاظ ماهیت تکراری آن می‌تواند باعث کاهش انگیزه و رغبت در انجام آن شود (۱۶). امروزه شیوه جدیدی از تمرین، تحت عنوان تمرین اینتروال شدید (HIIT)^(۳) مورد توجه قرار گرفته است که امکان انجام آن به وسیله افراد غیر فعال و دارای اضافه وزن نیز وجود دارد و می‌تواند تأثیر بیشتری در بهبود ترکیب بدنی و کاهش وزن داشته باشد (۱۷). مشخصه اصلی این گونه تمرین‌های حجم کم آن است که علاوه بر صرفه‌جویی در زمان، در بسیاری از موارد نسبت به ایجاد یا بهبود وضعیت آمادگی جسمانی و ارتقاء سلامت اثر بخش‌تر از پروتکل‌های سنتی تمرین‌های هوازی می‌باشد. از دیگر مزایای این گونه تمرین‌ها می‌توان به مصرف اکسیژن بیشتر پس از فعالیت (EPOC)^(۴) (۱۸)، هم‌چنین ره‌ایش بیشتر عامل آزادسازی کورتیکوتروپین (CRF)^(۵) نسبت به تمرین‌های LIET اشاره کرد که به ترتیب به مصرف بیشتر انرژی و کاهش طولانی‌تر اشتهای می‌انجامد (۲۰ و ۱۹). اختلاف بارز در میزان کاتکولامین و لاکتات تولید شده در طی این گونه فعالیت‌ها و سازوکارهای متعدد تعدیل آن

نیز می‌تواند در تفاوت سازگاری‌های ایجاد شده مؤثر باشد (۲۱). از طرفی، در پی استفاده از این‌گونه تمرین‌های شدید میزان قابل توجهی مایوکاین در عضلات تولید و پس از ره‌ایش در خون به بافت‌های هدف می‌رسند. مایوکاین‌ها به عنوان زبان مشترک بین بافتی در بدن باعث ایجاد تعامل مفیدی بین عضلات و کبد خواهند شد (۲۲). نمونه‌ای از این تأثیرات شامل افزایش مصرف انرژی به صورت گرمایی است که باعث تبدیل چربی سفید به نوع قهوه‌ای شده و مانع از تجمع چربی در LD خواهد شد (۲۳ و ۲۲).

با توجه به شیوع گسترده بیماری کبد چرب و ارتباط متقابل آن با بیماری سندروم متابولیک و هم‌چنین ارتباط پروتئین‌های متصل به قطره چربی با تجمع چربی درون آن و بروز درجات مختلف NAFLD، توجه به نقش تغییر سبک زندگی و به ویژه روش‌های نوین فعالیت‌های بدنی در این تغییرات و نیز شناسایی جنبه‌های مختلف سازوکار بروز و درمان این بیماری و هم‌چنین انتخاب مؤثرترین نوع مداخله ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین با توجه به تنوع تمرین‌های ورزشی و آثار احتمالاً متفاوت آنها معلوم نیست که آیا تمرین‌های اینتروال شدید نیز می‌تواند تأثیرات مفید تمرین‌های استقامتی کم شدت را در بهبود NAFLD

1-Steady State
2-Low Intensity Endurance Training
3-High Intensity Interval Training
4-Excess Post-Exercise Oxygen Consumption
5-Corticotrophin-Releasing Factor

کرده بودند، گروه‌های کنترل و تجربی هم‌چنان غذای پرچرب مصرف می‌کردند و گروه‌های تجربی (HIIT و LIET) به مدت هشت هفته (۵ روز در هفته) در پروتکل تمرینی خود شرکت کردند. گروه ششم در کل این پژوهش تنها غذای استاندارد مصرف کرده و همانند گروه کنترل در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکرد (۲۴). قبل از شروع پروتکل تمرین، حیوانات به مدت یک هفته، روزانه ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای آشناسازی و تطبیق بر روی تردمیل تمرین کردند (۲۵). جهت تعیین حداکثر سرعت رت‌ها از آزمونی ۱۰ مرحله‌ای استفاده شد که سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر بر ساعت (۵ متر در دقیقه) بود و در مراحل بعدی، در هر ۳ دقیقه ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوارگردان اضافه می‌شد و سرعتی که در آخرین مرحله، حیوان علی‌رغم وجود شوک الکتریکی قادر به دویدن نبود به عنوان حداکثر سرعت دویدن ثبت گردید (۲۶). سپس به جهت نزدیکی سرعت بیشینه گروه‌ها و همچنین محدودیت اجرای پژوهش، میانگین حداکثر سرعت برای کل گروه‌ها در نظر گرفته شد (۲۷). هر دو پروتکل تمرین شامل سه قسمت گرم کردن و سرد کردن (۵ دقیقه) و با ۳۰ درصد سرعت بیشینه و تمرین اصلی بود. پروتکل تمرین HIIT مجموعه‌ای منظم از تمرین شدید و کم شدت بود که به ترتیب شامل ۲ دقیقه دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵ درصد در هفته سوم

داشته باشد یا خیر؟ بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین اینتروال شدید و تمرین استقامتی کم شدت بر بیان ژن Hlg2 و محتوای چربی درون کبدی رت‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی تعیین شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن ۵ هفته و وزن $155/4 \pm 24/6$ گرم از موسسه رویان اصفهان خریداری شدند و بر اساس اصول اخلاقی نگهداری حیوانات آزمایشگاهی (مقاله اخلاق، با کد اخلاق IR.SSRI.REC.1397.331) و دسترسی آزادانه به آب و غذا و شرایط یکسان (۱۲:۱۲ تاریکی و روشنایی، رطوبت ۵۰ درصد، دما ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و تعداد ۵ رت در هر قفس) نگهداری شدند (۲۴). پس از گذشت یک هفته آشنایی رت‌ها با محیط، رت‌ها به طور تصادفی به گروه ششم (تعداد=۱۰) با رژیم غذایی شامل: ۲۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۱۰ درصد پروتئین و هم‌چنین گروه‌های تمرین اینتروال شدید (HIIT)، (تعداد=۱۰)، تمرین تداومی کم شدت (LIET)، (تعداد=۱۰) و کنترل با رژیم غذایی شامل: ۶۰ درصد چربی (۹۰ درصد چربی فرآوری شده حیوانی و ۱۰ درصد روغن دانه سویا، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین) تقسیم شدند (۲۴). پس از گذشت ۱۶ هفته اعمال رژیم‌های غذایی (۲۴) و بروز NAFLD در رت‌هایی که غذای پرچرب مصرف

و ۹۰ درصد در هفته چهارم تا پایان تمرین بود. دفعات استراحت فعال شامل ۲ دقیقه با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اول تا پایان هفته سوم و ۲۰ درصد از ابتدای هفته چهارم تا انتهای دوره تمرین‌ها بود. در انتهای هر جلسه و پس از آخرین فعالیت شدید، رت‌ها به جای تمرین در شدت پایین، به مدت ۵ دقیقه با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه به سرد کردن می‌پرداختند. تعداد تکرارها به گونه‌ای تنظیم شد؛ که در هفته اول ۲ مرتبه تکرار، هفته دوم ۴ مرتبه، هفته سوم ۶ مرتبه و از هفته چهارم تا پایان ۸ مرتبه فعالیت با شدت بالا تکرار شد. پروتکل تمرینی LIET نیز مطابق با کل مسافت طی شده 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، هفته دوم ۳۰، هفته سوم ۳۶ و از هفته چهارم به بعد ۴۵ دقیقه این مسافت را طی می‌کردند (جدول ۱). شایان ذکر است، تعداد یک سر رت نیز از هر سه گروه کنترل، HIIT و LIET در طول دوره طولانی این پژوهش تلف شد.

۲۴ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۶ ساعت ناشتایی (۲۸)، کلیه حیوانات با تزریق سدیم پنتوباریتال (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند (۲۹) و پس از استخراج کبد و شستشوی آن با سالین، به جهت فشار سهمی متفاوت در بخش‌های مختلف کبد، لوب راست آن جدا و بلافاصله در

نیترژن مایع منجمد شد و تا زمان انجام مراحل آزمایشگاهی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۹).

استخراج TG تقریباً ۰/۵ گرم (۵۰۰ میلی‌گرم) از بافت کبد جدا شد، سپس معادل ۱ میلی‌لیتر ایزوپروپانول به هر میکروتیوب اضافه شد و با استفاده از سوآپ پلاستیکی، بافت کبد داخل میکروتیوب را فشرده و تا قطعه قطعه کردن و متلاشی شدن کامل بافت جهت تسهیل هموژیناسیون این کار ادامه پیدا کرد. در ادامه، میکروتیوب‌ها برای جداسازی بافت‌ها به مدت ۱ دقیقه به وسیله دستگاه هموژنایزر و با قدرت ۵۰۰۰ Hz هموژنایز شدند (HETYCH، مدل UP1000H). پس از آن میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه و با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند تا لایه رویی آن قابل تفکیک شود. در نهایت این لایه برای سنجش TG بر روی دستگاه اتو آنالیزور مورد استفاده قرار گرفت (مدل BT3000) (۳۰).

به این منظور از کیت استخراج ایرایزول RNA، ساخت شرکت زیست فن‌آوران رنا ایران (کد دسترسی RB1001) استفاده شد. ابتدا معادل ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بافت فریز شده کبد به هاون استریل منتقل و به همراه ۱ میلی‌لیتر بافر برای ایجاد بافتی همگن کوبیده شد. سپس این محلول به میکروتیوب منتقل شد و ۲۰۰ میکرولیتر کلروفورم به آن اضافه گردید و به مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه تکان داده و پس از آن ۵ دقیقه برای تفکیک لایه رویی که حاوی RNA بود

لون، کروسکال والیس و یومن ویتنی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

تحلیل داده‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن Hig2 بین گروه‌های مختلف این پژوهش وجود دارد ($K^2=12/42, p=0/006$). بر این اساس، تفاوت‌های معنی‌دار در میزان بیان ژن Hig2 بین گروه کنترل و گروه تمرین با شدت بالا ($p=0/031$) و گروه کنترل با گروه تمرین کم شدت ($p=0/012$) مشاهده شد. این در حالی است که تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن Hig2 بین گروه تمرین با شدت بالا و گروه تمرین با شدت کم مشاهده نشد ($p=0/453$) (نمودار ۱).

تحلیل داده‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری در میزان IHL گروه‌های مختلف در این پژوهش مشاهده شد ($K^2=32/84, p=0/001$). به طوری که تفاوت‌های معنی‌داری در میزان IHL بین گروه کنترل و گروه تمرین با شدت بالا ($p=0/001$) و همچنین بین گروه کنترل با گروه تمرین کم شدت ($p=0/001$) مشاهده شد. بر اساس این نتایج، تفاوت معنی‌داری در میزان IHL بین گروه تمرین با شدت بالا و گروه تمرین با شدت کم مشاهده شد ($p=0/003$) (نمودار ۲).

تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در بین دو گروه تجربی، تنها میانگین وزن رت‌های گروه تمرین کم شدت کاهش معنی‌داری یافته است ($P=0/001$), در حالی که این میانگین در گروه تمرین تناوبی شدید تغییر معنی‌داری نداشته است ($P=0/054$). همچنین

ثابت نگه داشته شد. سپس این مایع با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰ درصد سرد مخلوط و به مدت ۸ دقیقه در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس تیوب سانتریفیوژ شد و مایع باقیمانده حذف شد و اتانول ۸۰ درصد به لکه‌های سفید رنگ باقیمانده در بدنه و کف تیوب اضافه شد و مجدداً سانتریفیوژ تکرار شد و پس از خارج کردن اتانول و خشک کردن محتوای داخل تیوب (در این مرحله روش air-dry مورد استفاده قرار گرفت) ۲۰ تا ۵۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر شده، متناسب به آن اضافه شد. سپس ۵ میکرولیتر از آن به منظور تأیید کیفیت بر روی ژل آگارز ۱ درصد ران شد تا پس از تأیید، از آن در سنتز cDNA استفاده گردد.

سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (RB) زیست فناوری رنا و مطابق دستورات این شرکت انجام گرفت (جدول ۲) (۳۱).

تعیین بیان mRNA از طریق روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (Real-time RT-PCR) انجام شد و برای کسب شرایط دمایی بهینه برای تکثیر، ژن TBP به عنوان کنترل سنتز cDNA در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز و طبق پیشنهاد شرکت سازنده پرایمر در شرکت زیست فناوری رنا استفاده گردید (۳۱). توالی پرایمرها برای ژن Hig2 و TBP در جدول ۳ ارائه شده است.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک،

میانگین وزن گروه ششم و کنترل در طی این دوره افزایش معنی داری پیدا کرد ($P=0/001$).

جدول ۱: پروتکل تمرینی گروه HIIT و LIET

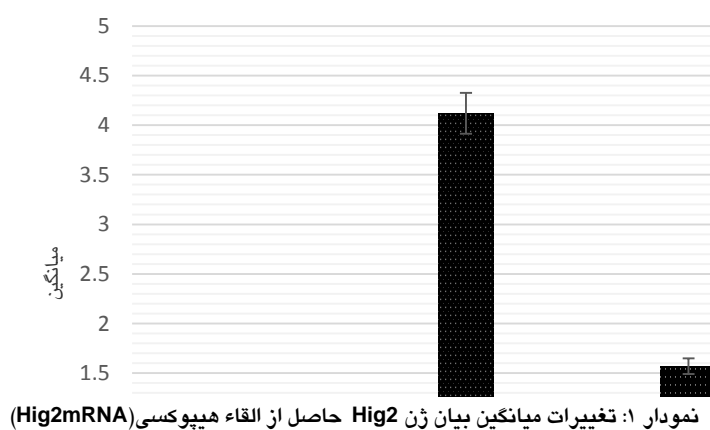
هفته	گروه	شدت هنگام تمرین (حداکثر سرعت)(درصد)	شدت هنگام استراحت (حداکثر سرعت)(درصد)	سرعت (متر/دقیقه)	تعداد و هله های تمرین شدید	کل حجم تمرین (دقیقه)	کل مسافت طی شده در هر جلسه (متر)
۱	تمرین اینتروال شدید	۷۵	۳۰	۳۰	۲	-	۲۴۶
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۱۷	۲۴۶
۲	تمرین اینتروال شدید	۸۰	۳۰	۳۲	۴	-	۴۴۵
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۲۸	۴۴۵
۳	تمرین اینتروال شدید	۸۵	۳۰	۳۴	۶	-	۵۸۸
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۲۶	۵۸۸
۴	تمرین اینتروال شدید	۹۰	۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۵	تمرین اینتروال شدید	۹۰	۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۶	تمرین اینتروال شدید	۹۰	۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۷	تمرین اینتروال شدید	۹۰	۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۸	تمرین اینتروال شدید	۹۰	۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	تمرین استقامتی با شدت کم	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸

جدول ۲: مراحل ساخت cDNA

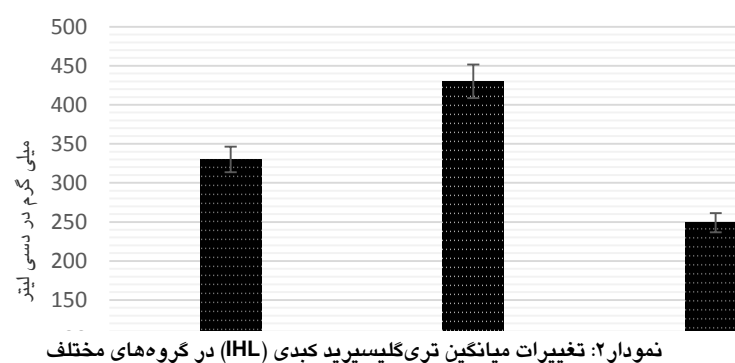
مقدار (میکرولیتر)	ماده
۵	RNA
۱	d NTP (۱۰ میلی مول)
۱	الیگو T (۱۰۰ میکرومول)
۸	آب دوبار تقطیر استریل
	۱۰ دقیقه دمای ۶۵ درجه
	۱۰ دقیقه روی یخ
۴	بافر (۵ X)
	آنزیم رونوشت بردار معکوس (۴۰۰)
۱	میکرولیتر
۲۰	حجم کل

جدول ۳: توالی پرایمرها برای ژن TBP و Hig2

نام	توالی
Hig2	F: 5-CATGTTGACCCTGCTTTCCAT-3 R: 5-GCTCTCCAGTAAGCCTCCCA-3
TBP	F: CAGCCTTCCACCTTATGCTC R: TTGCTGCTGCTGTCTTTGTT



نمودار ۱: تغییرات میانگین بیان ژن Hig2 حاصل از القاء هیپوکسی (Hig2mRNA)



نمودار ۲: تغییرات میانگین تری گلیسرید کبدی (IHL) در گروه‌های مختلف

بحث

پیرامون تغییر در بیان ژن Hig2 و ارتباط آن با

میزان چربی کبدی، نتایج این تحقیق با پژوهش‌های دی استفانو و همکاران (۷)، یانگ و همکاران (۳۲)، لفر و همکاران (۳۳) و ماتیسسن و همکاران (۲۸) هم‌سو است. اگرچه تاکنون پژوهشی به بررسی تأثیر تمرین بر Hig2 نپرداخته است، ولی چون پیش از این، تأثیر نهایی این پروتئین در متابولیسم چربی و به طور مشخص در کاهش میزان لیپولیز LDs مشخص شده بود (۲۸ و ۷)، می‌توان از ارتباط میزان بیان این ژن در کبد با IHL به عنوان یک تنظیم‌کننده مهم یاد کرد. شواهد نشان می‌دهد، میزان پروتئین Hig2 ارتباط مستقیمی با میزان هیپوکسی در بافت‌های مختلف

NAFLD تا حد زیادی نتیجه اختلال در مکانیسم‌های سنتز چربی و مسیرهای اکسیداتیو آن است. به طوری که تنظیم مثبت مسیرهای منتج به لیپوژنز، آسیب‌های سلولی و معیوب بودن زنجیره اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری و همچنین جلوگیری از خروج TG، سبب بروز و پیشرفت آن خواهد شد. پژوهش حاضر با هدف مقایسه تأثیر دو شیوه تمرین HIIT و LIET بر میزان بیان ژن Hig2 و IHL در کبد رت‌های دارای NAFLD انجام گرفت. بر اساس نتایج این پژوهش، ۸ هفته تمرین HIIT و LIET باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن Hig2 شد.

دارد. بر این اساس، ایسکمی و هیپوکسی هر دو باعث افزایش رسوب چربی درون سلولی می‌شوند (۳۴). در واقع افزایش بیان عوامل القاء هیپوکسی (HIFs) همزمان باعث تنظیم مثبت بیان ژن‌های مؤثر در سنتز اسید چرب (Crot, Cpt1, Acs1) و کاهش بیان ژن‌های درگیر در بتاکسیداسیون می‌شود (Acox1, Cpt2, Cpt-1a) و به طور (Ppra) (۳۵ و ۳۴). از این رو HIFs از طریق تنظیم مثبت بیان پروتئین‌های مرتبط با LD (Adfp) و به طور مشخص Hig2 باعث افزایش شکل‌گیری LD می‌شود (۹). به طوری که افزایش Hig2 در حیوانات منجر به افزایش ۴ برابری ذخایر TG بدون تغییر در ژن‌های درگیر در نوسازی لیپوژنز، بتاکسیداسیون و لیپولیز شده است (۲۸). از طرفی این افزایش منجر به کاهش قابل توجه ترشح و خروج TG از کبد شد (۲۸). بنابراین کاهش هماهنگ میزان بیان ژن Hig2 و IHL در پی استفاده از پروتکل‌های تمرینی مختلف، می‌تواند معرف نقش و ارتباط پروتئین Hig2 در تنظیم متابولیسم چربی در این بافت به دنبال تمرین ورزشی باشد. پروتئین Hig2 با قرارگیری بر LD و در تعامل نزدیک با پری لیپین ۲ و ۳ و ایجاد مکانیسم‌های مهار کننده لیپولیز باعث رسوب بیشتر لیپید در سلول می‌شود (۱۰ و ۷). از این رو هرگونه کاهش در میزان بیان ژن Hig2، باعث کاهش LDs و میزان رسوب TG در هپاتوسیت‌ها می‌شود که در پی افزایش میزان لیپولیز TG و همچنین انحراف FAs به میتوکندری‌ها و افزایش بتاکسیداسیون ایجاد می‌شود (۳۶). در این پژوهش میزان افزایش بیان ژن Hig2 در گروه کنترل با میزان

افزایش IHL در آن هماهنگ شده است. پژوهش‌هایی نیز به وجود ارتباط معکوس بین مقادیر Hig2 و بهبود تحمل گلوکز اشاره کرده‌اند که احتمالاً با بهبود حساسیت انسولینی مرتبط است (۷). اگرچه مسیر لیپولیز در کبد به خوبی شناخته نشده است، ولی مشخص شد که پروتئین Hig2 در رفتاری مشابه با سایر تنظیم‌کننده‌های منفی لیپولیز و مشخصاً در تعامل نزدیک با مهارکننده‌های ATGL در کبد عمل می‌کند. مهار ATGL کبدی به وسیله این پروتئین در حالی انجام می‌شود که تخلیه ATGL در کبد موش‌ها باعث افزایش قابل توجه TG کبدی شد (۷). همچنین افزایش بیان ATGL، مستقل از تغییر بیان ژن‌های کبدی یا میزان TGs سرمی موجب افزایش بتاکسیداسیون و کاهش TG کبدی شده است که شباهت زیادی به کبدهایی داشت که دارای نقص در بیان ژن Hig2 بودند (۷).

بر اساس نتایج این پژوهش، هم تمرین‌های استقامتی کم شدت و هم تمرین‌های شدید تناوبی باعث کاهش معنی‌دار محتوای چربی کبدی شد. این در حالی بود که میزان کاهش IHL در گروه HIIT به طور معنی‌داری بیشتر از گروه LIET بود. نتایج این تحقیق با پژوهش‌های چو و همکاران (۲۴) ملیسا (۱۴)، شمس‌الدین و همکاران (۳۷) و شجاعی و همکاران (۳۸) پیرامون استفاده از تمرین‌های استقامتی کم شدت هم‌سو است. همچنین نتایج مطالعاتی که در آن از تمرین‌های تناوبی با شدت بالا با هدف تغییر در IHL استفاده شد و به وسیله هالسورت و همکاران (۳۹)، سیچانگ و

وزن بدن آنها مشاهده نشد. به نظر می‌رسد این گونه تمرین‌های شدید باعث افزایش فسفوریلاسیون و مهار آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز (ACC) به وسیله فعالیت پروتئین کیناز وابسته به AMP (AMPK) هم‌زمان در عضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد می‌شود. بنابراین مهار ACC باعث تغییر در متابولیسم اسید چرب کبدی، التهاب بافت چربی و همچنین مقاومت انسولینی می‌شود (۲۵). برخی پژوهش‌ها نیز به تأثیر تمرین‌های HIIT بر میزان انسولین ناشتای خون و مقاومت انسولینی پرداختند و اگرچه بیشترین میزان بهبود مربوط به افراد دیابتی نوع ۲ بوده است (۵۰)، ولی به طور میانگین ۲۳ تا ۵۸ درصد بهبود شاخص‌های مرتبط با آن را گزارش کرده‌اند (۵۱).

بر اساس نتایج برخی تحقیقات مبنی بر کاهش توده چربی در پی شرکت در تمرین‌های تناوبی شدید و همچنین نتایج این پژوهش در کاهش قابل توجه میزان IHL گروه HIIT نسبت به گروهی که از تمرین‌های استقامتی در حالت پایدار استفاده می‌کردند تاکنون تناقضات زیادی ارائه شده است. به نظر می‌رسد مهم‌ترین دلایل این تناقضات به عوامل متعددی چون وضعیت سلامتی و سطح آمادگی قبلی آزمودنی‌ها، مدت و شدت برنامه تمرینی وراثت و بسیاری از عوامل مرتبط با آن بر می‌گردد (۵۲ و ۵۳). بر این اساس، تراپ و همکاران با استفاده از یک برنامه ۱۵ هفته‌ای HIIT در زنان جوان و مقایسه آن با تمرین‌های هوازی با ۶۰ درصد VO_{2max} ، نشان داد که زنان گروه HIIT چربی زیر پوستی و چربی شکمی

همکاران (۴۰) و مین هوآ (۲۹) ارائه شد نیز با این پژوهش مشابه بود. بر اساس مطالعات زیادی، عامل اصلی بیوسنتز کلاسترول و اسیدهای چرب، عامل رونویسی هسته‌ای SREBP-1C و chREBP هستند که با بیان ژن‌های مؤثر در لیپوژنز بافت‌های مختلفی چون استیل کوآ کربوکسیلاز (ACC) و اسید چرب سنتتاز (۴۲ و ۴۱) و همچنین تعدیل ژن‌های لیپوژنیک کبدی و هم‌زمان رمزگذاری ورود گلوکز به مسیر گلیکولیتیک و نیز تسهیل مسیر سنتز TG از منابع کربوهیدراتی باعث تجمع چربی در هپاتوسیت‌ها می‌شود (۴۳). از طرفی، پژوهش‌های زیادی به تأثیر فعالیت بدنی منظم با شدت کم تا متوسط بر این مسیرها و افزایش مصرف چربی پرداخته‌اند (۴۴ و ۴۵). در حالی که استفاده از تمرین‌های شدید و تأثیر آن در مقایسه با تمرین در شرایط پایدار در کاهش استئاتوز و تجمع چربی کبدی به خوبی بررسی نشده است (۴۶). اگرچه بسیاری از فواید سودمند فعالیت طولانی مدت ورزشی در شدت کم تا متوسط را به کاهش وزن مرتبط می‌دانستند، عموماً تأثیرات مفید تمرین‌های شدید مستقل از کاهش وزن رخ می‌دهد (۴۷). به طوری که حتی یک مرتبه فعالیت ورزشی شدید نیز می‌تواند با ایجاد تغییرات مثبت در مسیرهای متابولیکی، سم زدایی و جلوگیری از تجمع چربی در کبد تا حدی از شرایط نامطلوب حاصل از رژیم پر چرب بکاهد (۴۸ و ۴۹). بر این اساس، علی‌رغم کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های Hlg2 و IHL رت‌های گروه HIIT، تغییر معنی‌داری در میانگین

بیشتری از دست داده‌اند) به طور متوسط ۲/۵ کیلوگرم برای هر فرد) و حساسیت انسولینی و توده خالص بیشتری به دست آورده‌اند (۵۲). دان و همکاران نیز به کاهش ۱۲ کیلوگرمی چربی شکمی در پی ۱۲ هفته تمرین‌ها با شدت زیاد در زنان دارای سندروم متابولیکی اشاره کرده‌اند (۵۴). پژوهش دیگری، ۴۸ درصد کاهش چربی احشایی را در مقایسه ۱۸ درصد کاهش آن متعاقب ۸ هفته تمرینی که به ترتیب از روش HIIT و تمرین در حالت پایدار در مردان و زنان دیابتی نوع ۲ نشان داد (۵۵).

در پژوهشی که به مدت ۲۴ هفته به مقایسه تمرین‌های HIIT و تمرین‌های هوازی در حالت پایدار و در یک حجم برابر پرداخت، مشخص شد که تمرین‌های HIIT باعث کاهش بیشتر چربی زیر پوستی شده است (۱۷). نکته قابل تأمل در مورد عدم کاهش وزن قابل توجه در پی تمرین‌های HIIT آن است که غالب افرادی که کاهش وزن را تجربه نکرده‌اند یا دارای BMI نرمال بوده‌اند و یا آنکه دوره تمرینی به اندازه کافی طولانی نبوده است (۵۲). این در حالی است که در پژوهش حاضر کاهش وزن تنها در گروه LIET رخ داد و تغییر محسوس‌تری در میانگین وزن رت‌های گروه HIIT ایجاد نشد. بنابراین احتمالاً تغییر در ترکیب بدنی و به طور مشخص، افزایش نسبت توده خالص به توده چربی اصلی‌ترین دلیل عدم کاهش وزن در گروه HIIT می‌باشد که منجر به تأثیرات سودمند چنین تمرین‌هایی

در کاهش HIg2 و IHL به طور مستقل از کاهش وزن شده است.

با توجه به تأثیرات مفید تمرین‌های HIIT در این پژوهش و زمان بسیار کوتاه‌تر انجام آن نسبت به تمرین‌های LIET، توجه به سازوکار اثر بخشی بیشتر آن می‌تواند بسیاری از این ابهامات را روشن سازد. یکی از دلایل احتمالی اثربخشی بیشتر این گونه تمرین‌ها، بالاتر بودن مصرف اکسیژن اضافی پس از فعالیت (EPOC) است. از آنجایی که شدت بیشتر این‌گونه فعالیت‌ها به تولید بیشتر کاتکولامین‌ها، یون هیدروژون (H^+) و تخلیه بیشتر گلیکوژن منجر می‌گردد (۴۷)، باعث افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب پس از این گونه تمرین‌ها می‌شود که احتمالاً در پی افزایش نیاز بدن برای دفع لاکتات و H^+ و همچنین سنتز گلیکوژن اضافه رخ می‌دهد. همچنین افزایش سطوح GH پس از دفعات HIIT نیز ممکن است در افزایش هزینه انرژی و اکسیداسیون بیشتر چربی نقش داشته باشد (۲۱).

در مجموع به نظر می‌رسد، سازوکار احتمالی تأثیر اثربخش تر HIIT در میزان کاهش چربی کبدی، به افزایش اکسیداسیون بافت‌های مختلف بدن و کاهش اشتها به دلیل کاهش جریان خون مرکز تنظیم آن در پس از تمرین بر می‌گردد (۵۶ و ۲۰).

یکی از مزیت‌های تمرین‌های HIIT در کاهش محتوای چربی و بهبود NAFLD به زمان کمتر اجرای این گونه تمرین‌ها بر می‌گردد. تمرین‌های تناوبی شدید به جهت حجم کمتر، می‌تواند باعث صرفه‌جویی

نتایج این پژوهش نشان داد که تغییر سبک زندگی با هدف افزایش هزینه انرژی به تنهایی و بدون استفاده از مداخلات دارویی قادر به کاهش نخایر چربی درون هپاتوسیت‌ها است. بر این اساس، کاهش میزان بیان پروتئین H1g2 و همچنین کاهش هم‌زمان IHL در رت‌های مبتلاء به NAFLD به خوبی نقش تمرین‌های ورزشی را نمایان می‌سازد. اگرچه مکانیسم‌های احتمالی درگیر در این مسیرها تا حدودی متفاوت است. نتایج این پژوهش نشان داد که شیوه‌های مختلف تمرینی تأثیرهای متفاوتی بر NAFLD خواهد داشت. به طوری که مشخص شد کاهش محتوای چربی کبدی در پی تمرین‌های تناوبی شدید بیشتر از استفاده از تمرین‌های سنتی در حالت پایدار بوده است. بر این اساس، توجه به سبک‌های مختلف تمرینی می‌تواند اثرات سودمند فعالیت بدنی را اثر بخش تر کند.

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این پژوهش حاکی از آن است که هشت هفته تمرین استقامتی کم شدت و تمرین تناوبی شدید حتی به همراه مصرف غذای پر چرب در رت‌های دارای NAFLD نیز باعث کاهش بیان ژن H1g2 به عنوان یکی از اصلی‌ترین پروتئین‌های محدود کننده لیپولیز مرتبط با قطره چربی می‌شود و از این طریق با کاهش محتوای تری گلیسرید درون کبدی در هر دو گروه تمرینی مرتبط است. با این حال، تأثیر تمرین‌های تناوبی شدید در این کاهش به مراتب

بیشتری در وقت افراد شود. از طرفی، بسیاری از تأثیرات سودمند آن مستقل از کاهش وزن بوده و عمدتاً به ارتباط بین بافت‌های مختلف بدن مربوط می‌شود که تحت عنوان زبان مشترک بین بافت‌ها از آن یاد می‌شود (۴۷). شواهد نشان می‌دهد تمرین با شدت بالا می‌تواند موجب رهایش مایوکاین و ویژه‌ای تحت عنوان ایریزین شود. این مایوکاین باعث افزایش مصرف انرژی وابسته به ترموژنز (حرارت‌زایی) و ایجاد چربی قهوه‌ای بیشتر در آدیپوز می‌شود (۴۷). از کارکردهای مؤثر ایریزین در بهبود متابولیسم چربی بیماران NAFLD، می‌توان به مهار اسید پالمیتیک برای افزایش لیپوژنز به وسیله تنظیم SREBP-1C و آنزیم‌های لیپوژنیکی چون اسید چرب سنتتاز در هپاتوسیت‌ها اشاره کرد که باعث بهبود استئاتوز کبدی در موش‌ها شده است (۵۷). این در حالی است که افراد دارای NAFLD میزان سرمی ایریزین کمتری نسبت به افراد عادی دارند (۵۸). اخیراً در پژوهشی که به مقایسه دو شیوه تمرین مقاومتی و هوازی در افزایش میزان ایریزین سرمی پرداخت، مشخص شد این گونه تمرین‌ها باعث افزایش قابل توجه ایریزین شده است، این در حالی بود که چنین افزایشی در پی تمرین‌های هوازی رخ نداده است (۵۹). بنابراین به نظر می‌رسد، علی‌رغم هزینه انرژی مصرفی کمتر در تمرین‌ها HIIT و همچنین مقاومتی نسبت به تمرین‌های هوازی در بهبود NAFLD، وجود یک زبان مشترک بین عضلات اسکلتی و کبد از اصلی‌ترین دلایل مهار لیپوژنز هپاتوسیت‌ها و بهبود استئاتوز است. در کل

بیشتر از تأثیر تمرین‌های استقامتی کم شدتی بود که به لحاظ مسافت طی شده با هم برابر در نظر گرفته شده بود. بر اساس یافته‌های این پژوهش، پیشنهاد می‌شود استفاده از تمرین‌های تناوبی شدید نیز همپای تمرین‌های استقامتی در برنامه‌های مرتبط با پیشگیری و یا بهبود در بیماران کبد چرب قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتری فیزیولوژی ورزشی با گرایش بیوشیمی و متابولیسم ورزشی در دانشگاه شهرکرد می‌باشد. بنابراین، از پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان به خاطر همکاری، سپاسگزاری می‌گردد.

REFERENCES

1. Videla LA, Rodrigo R, Araya J, Poniachik J. Insulin resistance and oxidative stress interdependency in non-alcoholic fatty liver disease. *Trends in Molecular Medicine* 2006; 12(12): 555-8.
2. Jakobsen M, Berentzen T, Sørensen T, Overvad K. Abdominal obesity and fatty liver. *Epidemiologic Reviews* 2007; 29(1): 77-87.
3. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *PloS One* 2015; 10(10): e0140908.
4. Videla L. Oxidative stress and insulin resistance as interdependent pathogenic mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease associated with obesity. *Free Radical Pathophysiology Kerala, India: Transworld Research Network* 2008: 369-85.
5. Reue K. A thematic review series: lipid droplet storage and metabolism: from yeast to man. *ASBMB* 2011; 52(15): 1865-8.
6. Brown DA. Lipid droplets: proteins floating on a pool of fat. *Current Biology* 2001; 11(11): R446-R9.
7. DiStefano MT, Danai LV, Flach RJR, Chawla A, Pedersen DJ, Guilherme A, et al. The lipid droplet protein hypoxia-inducible gene 2 promotes hepatic triglyceride deposition by inhibiting lipolysis. *Journal of Biological Chemistry* 2015; 290(24): 15175-84.
8. Kumari M, Schoiswohl G, Chitraju C, Paar M, Cornaciu I, Rangrez AY, et al. Adiponutrin functions as a nutritionally regulated lysophosphatidic acid acyltransferase. *Cell Metabolism* 2012; 15(5): 691-702.
9. Rankin EB, Rha J, Selak MA, Unger TL, Keith B, Liu Q, et al. Hypoxia-inducible factor 2 regulates hepatic lipid metabolism. *Molecular and Cellular Biology* 2009; 29(16): 4527-38.
10. Gimm T, Wiese M, Teschemacher B, Deggerich A, Schödel J, Knaup KX, et al. Hypoxia-inducible protein 2 is a novel lipid droplet protein and a specific target gene of hypoxia-inducible factor-1. *The FASEB Journal* 2010; 24(11): 4443-58.
11. Kaelin JRWG, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Molecular Cell* 2008; 30(4): 393-402.
12. Byrne CD. Hypoxia and non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Science* 2010; 118(6): 397-400.
13. Murase T, Haramizu S, Shimotoyodome A, Nagasawa A, Tokimitsu I. Green tea extract improves endurance capacity and increases muscle lipid oxidation in mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2005; 288(3): R708-R15.
14. Linden MA, Sheldon RD, Meers GM, Ortinau LC, Morris EM, Booth FW, et al. Aerobic exercise training in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease related fibrosis. *The Journal of Physiology* 2016; 594(18): 5271-84.
15. Shaw KA, Gennat HC, O'Rourke P, Del Mar C. Exercise for overweight or obesity. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006; 4: 10.
16. Wu T, Gao X, Chen M, Van Dam R. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obesity Reviews* 2009; 10(3): 313-23.
17. Tremblay A, Simoneau JA, Bouchard C. Impact of exercise intensity on body fatness and skeletal muscle metabolism. *Metabolism* 1994; 43(7): 814-8.
18. Laforgia J, Withers RT, Gore CJ. Effects of exercise intensity and duration on the excess post-exercise oxygen consumption. *Journal of Sports Sciences* 2006; 24(12): 1247-64.
19. Rivest S, Richard D. Involvement of corticotropin-releasing factor in the anorexia induced by exercise. *Brain Research Bulletin* 1990; 25(1): 169-72.
20. Kawaguchi M, Scott KA, Moran TH, Bi S. Dorsomedial hypothalamic corticotropin-releasing factor mediation of exercise-induced anorexia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2005; 288(6): R1800-R5.
21. Nevill M, Holmyard D, Hall G, Allsop P, Van Oosterhout A, Burrin J, et al. Growth hormone responses to treadmill sprinting in sprint-and endurance-trained athletes. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 1996; 72(5-6): 460-7.
22. Karstoft K, Pedersen BK. Skeletal muscle as a gene regulatory endocrine organ. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 2016; 19(4): 270-5.
23. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481(7382): 463.

24. Cho J, Koh Y, Han J, Kim D, Kim T, Kang H. Adiponectin mediates the additive effects of combining daily exercise with caloric restriction for treatment of non-alcoholic fatty liver. *International Journal of Obesity* 2016; 40(11): 1760.
25. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Molecular Metabolism* 2015; 4(12): 903-15.
26. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2007; 21(3): 751.
27. Rezaei R, Nurshahi M, Bigdeli M, Khodaghli F, Parast A. The effect of eight weeks of continuous and periodic aerobic exercise on VEGF-A and VEGFR-2 levels of male brain Wistar rats. *Physiology of Exercise and Physical Activity* 2015; 8(3): 1213-21.
28. Mattijssen F, Georgiadi A, Andasarie T, Szalowska E, Zota A, Kronen-Herzig A, et al. Hypoxia-inducible lipid droplet-associated (HILPDA) is a novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) target involved in hepatic triglyceride secretion. *Journal of Biological Chemistry* 2014; 289(28): 19279-93.
29. Suk M, Shin Y. Effect of high-intensity exercise and high-fat diet on lipid metabolism in the liver of rats. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry* 2015; 19(4): 289.
30. Löfgren L, Forsberg GB, Ståhlman M. The BUMe method: a new rapid and simple chloroform-free method for total lipid extraction of animal tissue. *Scientific Reports* 2016; 6: 27688.
31. Sohrabipour S, Sharifi MR, Talebi A, Sharifi M, Soltani N. GABA dramatically improves glucose tolerance in streptozotocin-induced diabetic rats fed with high-fat diet. *European Journal of Pharmacology* 2018; 826: 75-84.
32. Yang X, Lu X, Lombès M, Rha GB, Chi Y-I, Guerin TM, et al. The G0/G1 switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase. *Cell Metabolism* 2010; 11(3): 194-205.
33. Lefere S, Van Steenkiste C, Verhelst X, Van Vlierberghe H, Devisscher L, Geerts A. Hypoxia-regulated mechanisms in the pathogenesis of obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2016; 73(18): 3419-31.
34. Gordon GB, Barcza MA, Bush ME. Lipid accumulation in hypoxic tissue culture cells. *The American Journal of Pathology* 1977; 88(3): 663.
35. Pigué AC, Stroka D, Zimmermann A, Dufour JF. Hypoxia aggravates non-alcoholic steatohepatitis in mice lacking hepatocellular PTEN. *Clinical Science* 2010; 118(6): 401-10.
36. Quiroga AD, Lehner R. Liver triacylglycerol lipases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular and Cell Biology of Lipids* 2012; 1821(5): 762-9.
37. Shamsoddini A, Sobhani V, Chehreh MEG, Alavian SM, Zaree A. Effect of aerobic and resistance exercise training on liver enzymes and hepatic fat in Iranian men with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatitis Monthly* 2015; 15(10): e31434.
38. Shojaee-Moradie F, Cuthbertson D, Barrett M, Jackson N, Herring R, Thomas E, et al. Exercise training reduces liver fat and increases rates of VLDL clearance but not VLDL production in NAFLD. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2016; 101(11): 4219-28.
39. Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, Cassidy S, Anstee QM, Day CP, et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Clinical Science* 2015; 129(12): 1097-105.
40. Oh S, So R, Shida T, Matsuo T, Kim B, Akiyama K, et al. High-intensity aerobic exercise improves both hepatic fat content and stiffness in sedentary obese men with nonalcoholic fatty liver disease. *Scientific Reports* 2017; 7: 43029.
41. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *The Journal of Clinical Investigation* 2002; 109(9): 1125-31.
42. Kakuma T, Lee Y, Higa M, Wang Z-w, Pan W, Shimomura I, et al. Leptin, troglitazone, and the expression of sterol regulatory element binding proteins in liver and pancreatic islets. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2000; 97(15): 8536-41.
43. Dentin R, Pégorier JP, Benhamed F, Foufelle F, Ferré P, Fauveau V, et al. Hepatic glucokinase is required for the synergistic action of ChREBP and SREBP-1c on glycolytic and lipogenic gene expression. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(19): 20314-26.
44. Elias MC, Parise ER, de Carvalho L, Szejnfeld D, Netto JP. Effect of 6-month nutritional intervention on non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition* 2010; 26(11): 1094-9.

- 45.Kirk E, Reeds DN, Finck BN, Mayurranjan MS, Patterson BW, Klein S. Dietary fat and carbohydrates differentially alter insulin sensitivity during caloric restriction. *Gastroenterology* 2009; 136(5): 1552-60.
- 46.Ozaki H, Yasuda T, Ogasawara R, Sakamaki-Sunaga M, Naito H, Abe T. Effects of high-intensity and blood flow-restricted low-intensity resistance training on carotid arterial compliance: role of blood pressure during training sessions. *European Journal of Applied Physiology* 2013; 113(1): 167-74.
- 47.Boutcher SH. High-intensity intermittent exercise and fat loss. *Journal of Obesity* 2011; 10(10): 1155-868305.
- 48.Horowitz JF. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2003; 14(8): 386-92.
- 49.Charbonneau A, Melancon A, Lavoie C, Lavoie JM. Alterations in hepatic glucagon receptor density and in G α and G α 2 protein content with diet-induced hepatic steatosis: effects of acute exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2005; 289(1): E8-E14.
- 50.Boudou P, Sobngwi E, Mauvais-Jarvis F, Vexiau P, Gautier J. Absence of exercise-induced variations in adiponectin levels despite decreased abdominal adiposity and improved insulin sensitivity in type 2 diabetic men. *European Journal of Endocrinology* 2003; 149(5): 421-4.
- 51.Whyte LJ, Gill JM, Cathcart AJ. Effect of 2 weeks of sprint interval training on health-related outcomes in sedentary overweight/obese men. *Metabolism-Clinical and Experimental* 2010; 59(10): 1421-8.
- 52.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. *International Journal of Obesity* 2008; 32(4): 684.
- 53.Boutcher S, Dunn SL. Factors that may impede the weight loss response to exercise-based interventions. *Obesity Reviews* 2009; 10(6): 671-80.
- 54.Dunn SL. Effects of exercise and dietary intervention on metabolic syndrome markers of inactive premenopausal women. Sydney: University of New South Wales; 2009; 54(9): 146-13.
- 55.Mourier A, Gautier JF, De Kerviler E, Bigard AX, Villette JM, Garnier JP, et al. Mobilization of visceral adipose tissue related to the improvement in insulin sensitivity in response to physical training in NIDDM: effects of branched-chain amino acid supplements. *Diabetes Care* 1997; 20(3): 385-91.
- 56.Bi S, Scott KA, Hyun J, Ladenheim EE, Moran TH. Running wheel activity prevents hyperphagia and obesity in Otsuka long-evans Tokushima Fatty rats: role of hypothalamic signaling. *Endocrinology* 2005;146(4): 1676-85.
- 57.Park MJ, Kim DI, Choi JH, Heo YR, Park SH. New role of irisin in hepatocytes: The protective effect of hepatic steatosis in vitro. *Cellular Signalling* 2015; 27(9): 1831-9.
- 58.Polyzos SA, Kountouras J, Anastasilakis AD, Geladari EV, Mantzoros CS. Irisin in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism-Clinical and Experimental* 2014; 63(2): 207-17.
- 59.Kim HJ, Lee HJ, So B, Son JS, Yoon D, Song W. Effect of aerobic training and resistance training on circulating irisin level and their association with change of body composition in overweight/obese adults: a pilot study. *Physiological Research* 2016; 65(2): 271.

A Comparison Between the Effects of Eight Weeks of High Intensity Interval Training and Low Intensity Endurance Training on Expression of *Hig2* and Intrahepatic Lipid Content in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases

Bagheri M¹, Azamian Nazari A^{2*}, Bani Talebi E², Nasr Esfahani MH³

¹Department of Sports Physiology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, ²Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, ³Royan Biotechnology Research Center, Isfahan, Iran

Received: 9 June 2018 Accepted: 25 Des 2018

Abstract

Background & aim: Non-alcoholic liver disease is the main liver disease associated with malnourished diet and overweight habits. The purpose of this study was to compare the effects of 8 weeks of intense intolerant training (HIIT) and low intensity endurance training (LIET) on *Hig2* gene expression and liver triglyceride content in fatty liver (NAFLD) rats.

Methods: In the present experimental study, 40 male wistar rats were randomly divided into four equal groups. The control group, LIET and HIIT, who consumed high fatty foods for the first sixteen weeks with the aim of developing fatty liver, and the sham group that used standard food during this period. The HIIT group's practice consisted of stages of extreme riding based on a percentage of maximum speed, which was separated by low-intensity running as active rest. The practice of the LIET group was also matched according to the distance traveled by the HIIT group. At the end of 8 weeks of training, the expression of *Hig2* gene and liver fat content were measured. The collected data were analyzed using Kruskal-Wallis statistical tests.

Results: A significant difference was seen between the two groups in the expression of *Hig2* ($P = 0.026$) and IHL ($K2 = 32.84$, $p = 0.001$). Significant differences were observed in *Hig2* between the control group and the HIIT group ($p = 0.031$) and the control group with PID ($p = 0.012$), but no significant differences were observed in *Hig2* between the HIIT group and the IR group ($453/0 = p$). Also, there were significant differences in IHL between control group and HIIT ($p = 0.001$) and control group with PID ($p = 0.001$). Also, there were significant differences in IHL between HIIT group and IR group ($p = 0.003$).

Conclusion: Severe periodic exercises and low-intensity continuous exercises by reducing the expression of *Hig2* gene reduce the content of liver fat and improve NAFLD. Also, the reduction of liver fat in the severe periodic exercise group occurs independently of weight loss.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver, Severe periodic exercise, Low endurance training, Protein derived from gene 2 induction of hypoxia, intrahepatic fatty

Corresponding author: Azamian Nazari A, Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Email: azamianakbar@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Bagheri M, Azamian Nazari A, Bani Talebi E, Nasr Esfahani MH. A Comparison Between the Effects of Eight Weeks of High Intensity Interval Training and Low Intensity Endurance Training on Expression of *Hig2* and Intrahepatic Lipid Content in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases. Armaghane-danesh 2019; 23(6): 666-682