

اثر شدت تمرین بر بیان ژن *HIF-1a* و محتوای تری گلیسیرید قلبی رت‌های مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی

مهدی باقریان^۱، عبدالعلی بنایی فر^{۲*}، سجاد ارشدی^۲، محمدعلی آذربایجانی^۲

مقاله پژوهشی

مقدمه: *HIF-1a* یک تنظیم‌کننده مهم در پاسخ به هیپوکسی است که بر روی ژن‌های مختلف درگیر در مسیر متابولیسم انرژی تأثیر می‌گذارد. هدف این پژوهش بررسی تأثیر شدت تمرین بر بیان ژن *HIF-1a* و محتوای تری گلیسیرید قلبی رت‌های مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی بود.

روش بررسی: مطالعه حاضر به صورت تجربی بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد. موش‌ها به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه‌های کنترل، تمرین استقامتی کم شدت (LIET) و تمرین اینتروال شدید (HIIT) که به مدت ۱۶ هفته غذای پرچرب مصرف کردند و سپس دو گروه تمرینی به مدت ۸ هفته در تمرینات ورزشی شرکت نمودند. هم‌چنین گروه شم که در این مدت از غذای استاندارد استفاده نمود. در پایان میزان بیان *HIF-1a* و میزان چربی درون بافتی قلب ۴ گروه اندازه‌گیری شد. سنجش بیان *HIF-1a* با استفاده از تکنیک Real-time PCR و سنجش TG روی دستگاه اتو آنالیزور انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS version 16 و آزمون تحلیل واریانس استفاده شد.

نتایج: نتایج پژوهش نشان داد تفاوت معنی‌داری در بیان ژن *HIF-1a* بین گروه کنترل با گروه‌های شم، HIIT و LIET ($P=0/001$) وجود دارد. هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در میزان (Triglyceride)TG بین گروه‌های HIIT و LIET در مقایسه با گروه شم و گروه کنترل مشاهده شد، اما بین گروه‌های HIIT و LIET تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/0001$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد تمرینات تناوبی شدید و تمرینات تداومی کم شدت احتمالاً از طریق کاهش بیان *HIF-1a* و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب باعث کاهش محتوای TG بافت قلبی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی کم شدت، تمرین اینتروال شدید، عامل قابل القا هیپوکسی - ۱، آلفا، تری گلیسیرید، بافت قلبی

ارجاع: باقریان مهدی، بنایی فر عبدالعلی، ارشدی سجاد، آذربایجانی محمدعلی. اثر شدت تمرین بر بیان ژن *HIF-1a* و محتوای تری گلیسیرید قلبی رت‌های مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۷): ۵۰۶۲-۷۶.

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران.

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۲۲۲۵۱۷۷۹، پست الکترونیکی: alibanaeifar@yahoo.com، صندوق پستی: ۱۸۹۳۱۵۹۵۵۴

ویژگی‌های اصلی پاتولوژیک هستند که باعث ایجاد سیگنالینگ سلولی و اصلاح پروتئین‌ها و لیپیدها از طریق تولید واسطه‌های متابولیسمی می‌شوند (۷) که در این شرایط به دلیل عدم تعادل بین جذب و اکسیداسیون اسیدهای چرب، تجمع چربی در قلب افزایش می‌یابد (۸،۹). توان فیزیولوژیکی جذب چربی و اکسیداسیون چربی توسط قلب مانع از تجمع لیپیدهای اضافی می‌شود. چند فرایند از جمله: ایسکمی، چاقی، دیابت، سندرم متابولیک و اکثر موارد نارسایی قلبی، بر عملکرد قلب تأثیر می‌گذارد و می‌تواند منجر به تغییر اکسیداسیون اسید چرب و همچنین تجمع چربی شوند (۱۰). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش بسیاری از لیپیدها عملکرد قلبی را تغییر داده و منجر به آسیب ساختاری میوکارد، از جمله فیبروز قلب، آپوپتوز میوسیت و کاهش انقباضات می‌شود که به نظر می‌رسد به علت اختلال عملکرد میتوکندری می‌باشد (۱۰). *HIF-1* Hypoxia-inducible factor 1 یک تنظیم کننده مرکزی برای متابولیسم سلولی در شرایط هیپوکسی است که در هماهنگی با سطح Lipid droplets (LD) باعث تجمع چربی درون سلولی می‌شود (۱۱) و نقش مهمی در پاسخ به تغییرات در دسترس بودن اکسیژن دارد و شامل دو زیر واحد *a* و *b* می‌باشد (۱۲). *HIF-1a* تعداد و اندازه LD را افزایش می‌دهد (۱۳) و چندین پروتئین مرتبط با LD را فعال می‌شود. علاوه بر این *HIF-1a* با حمایت از سنتز اسیدهای چرب از طریق متابولیسم گلوتامین (۱۴)، کاهش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب (۱۵) و افزایش سنتز چربی خنثی وابسته به لیپین ۱- و تشکیل سنتز قطرات چربی در متابولیسم چربی دخیل است (۱۶). شواهدی وجود دارد که *HIF-1a* از قلب در برابر ایسکمی حاد از طریق بیان ژن‌ها و متابولیسم گلوکز که برای زمان‌های متابولیک بی‌هواری ضروری هستند، محافظت می‌کند (۱۷). همچنین مشاهده شده است برخی خصوصیات *HIF-1a* در موش‌های جوان با پیشرفت نارسایی قلبی همراه بود. مسیرهای *HIF-1a* ممکن است در ابتدا سودمند باشند با این حال اگر به صورت پایدار باشد ممکن است به‌طور جدی به نارسایی قلب کمک کند (۱۷) و موجب تجمع تری‌آسیل‌گلیسرول در کاردیومیوسیت‌ها شود (۱۸). بیان

امروزه بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) *None* alcoholic fatty liver disease به علت شیوع بالای آن به یک موضوع مهم بهداشتی تبدیل شده است (۱). این بیماری اغلب با مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲، چاقی و بیماری‌های قلبی عروقی ارتباط دارد (۲). همچنین مصرف بیش از حد مواد غذایی از اصلی‌ترین علل تجمع لیپیدهای اضافی در هپاتوسیت‌هاست و براساس برآوردها بیش از ۶۰۰ میلیون نفر در سراسر دنیا و ۳۰ درصد جمعیت اروپا دچار اضافه وزن هستند که مستقیماً منجر به رشد و تجمع قطرات چربی و پیشرفت بیماری کبد چرب در آنها شده است (۳). در چند سال گذشته شواهد معتبری ارتباط قوی بین NAFLD و افزایش خطر بیماری‌های قلبی عروقی (Cardiovascular Disease (CVD) را در افراد با یا بدون سندرم متابولیک اثبات کرده است (۴). شواهد اپیدمیولوژیک و مطالعات بالینی نه تنها نشان می‌دهد که NAFLD ممکن است در توسعه و پیشرفت فنوتیپ قلبی عروقی شرکت کند، بلکه CVD با سطح غیر عادی از آسیب‌های کبدی مرتبط است. مطالعات متعدد به‌طور پیوسته یک ارتباط بین آنزیم‌های غیرطبیعی کبد مانند آلانین آمینوترانسفراز (ALT) *Alanine aminotransferase* و افزایش بروز حوادث قلبی را گزارش کرده‌اند (۵،۶). مطالعات نشان داده است اکثر افرادی که دچار چاقی، مقاومت به انسولین و دیابت هستند دارای هیپرتری‌گلیسریدمی و افزایش سطح چربی در پلاسما هستند. اسیدهای چرب وقتی وارد قلب می‌شوند یا برای تولید انرژی استفاده می‌شوند و یا می‌توانند در قطرات چربی در قلب ذخیره شوند. لیپیدهای داخل میوکارد که بیش از ظرفیت ذخیره و اکسیداسیون قلب هستند، می‌توانند موجب لیپوتوکسیک *lipotoxicity* شوند که باعث کاردیومیوپاتی می‌شود که به آن کاردیومیوپاتی دیابتی *Diabetic Cardiomyopathy* می‌گویند. از ویژگی‌های بالینی کاردیومیوپاتی دیابتی، هایپرتروفی قلب و اختلال عملکرد دیاستولیک است که منجر به نارسایی قلبی می‌شود. اگرچه پاتوژنز کاردیومیوپاتی چند عاملی است، اما دیس‌لیپیدمی دیابتی و تجمع چربی داخل میوکارد از

± 30.2 میلی‌لیتر) شده است. این در حالی بود که میزان گلوکز در بین دو گروه تفاوت معناداری نداشت (۲۳). موتا (۲۰۱۶) در پژوهشی به بررسی تاثیر تمرینات HIIT بر روی بهبود متابولیسم و شرایط بیماری‌زای مزمن موش‌های چاق پرداخت. نتایج نشان داد تمرینات HIIT منجر به کاهش قابل توجهی در توده بدن، قند خون، تحمل گلوکز و پروفایل لیپیدی گردید. هم‌چنین این نوع تمرینات منجر به کاهش سطح پلاسمایی سیتوکین‌های التهابی، بهبود حساسیت به انسولین، کاهش چربی احشایی و استئاتوز کبدی گردید (۲۴). با توجه به افزایش شیوع بیماری کبد چرب و ارتباط آن با بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی و عروقی و تایید اثرات مفید تمرینات ورزش بر کاهش عوامل خطر زا در این بیماری‌ها، خلأ پژوهشی که در آن به تاثیر تمرینات ورزشی بر میزان HIF-1 α و محتوای TG بافت قلب موش‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی و ماهیت‌های مختلف ورزشی و مشخصاً مدت و شدت‌های گوناگون ورزش در بروز این پاسخ‌های سازشی بپردازد احساس می‌شود. چرا که تمرین استقامتی کم شدت Low Intensity Endurance Training (LIET) و تمرین شدید اینتروال (HIIT) به لحاظ استفاده از سوبسترا و مواد سوختی، متابولیت‌های تولیدی، مکانیسم‌های ایجاد خستگی، ریکاوری و بسیاری از سازگاری‌های سلولی-ملکولی متفاوت هستند. به همین دلیل این مطالعه به دنبال این است که تاثیر تمرین استقامتی کم شدت (LIET) و تمرین اینتروال شدید (HIIT) بر میزان بیان ژن HIF-1 α و محتوای TG عضله قلب موش‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی را بررسی نماید.

روش بررسی

این پژوهش تجربی بر روی ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن ۵ هفته و وزن $155/4 \pm 24/6$ گرم که از موسسه رویان اصفهان خریداری شدند، انجام شد و براساس اصول نگهداری حیوانات آزمایشگاهی و دسترسی آسان به آب و غذا (تعداد ۵ رت در هر قفس) و شرایط یکسان چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با میانگین دمای ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰ درصد نگهداری شدند (۲۵). پس از گذشت یک هفته آشنایی

بیش از حد شکل فعال HIF-1 α در کاردیومیوسیت‌ها باعث تجمع چربی درون سلولی تحت نورموکسی می‌شود (۱۹). تجمع چربی یکی از ویژگی‌های مشترک بیماری کبد چرب است. در واقع، بیان HIF-1 α در بیماری‌های کبد چرب افزایش می‌یابد (۲۰). دستفانو و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی به بررسی نقش Hypoxia- Inducible Protein 2 (HIG2) (ژن هدف HIF-1 α) در افزایش رسوب تری‌گلیسیرید کبدی از طریق مهار لیپولیز پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که بیان پروتئین HIG2 بر روی LDs کبد موش‌هایی که تحت یک رژیم پر چرب قرار گرفته بودند افزایش یافته و منجر به افزایش رسوب TG در LDs کبد آن‌ها شده است. این در حالی است که کاهش میزان بیان پروتئین HIG2 با استفاده از پیش برنده یوبیکوئیتین، منجر به کاهش محتوا و اندازه TG در کبد موش‌ها شد. این محققان در جمع‌بندی پژوهش خود اذعان کردند که کاهش محتوای پروتئین HIG2 کبدی منجر به افزایش لیپولیز TG، نوسازی و اکسیداسیون اسید چرب و هم‌چنین بهبود تحمل گلوکز در قیاس با گروه کنترل شده است (۲۱). برخی مطالعات نشان داده اند که فعالیت‌های ورزشی مختلف با توجه به شدت و نوع فعالیت می‌تواند بر میزان بیان ژن HIF-1 α و فاکتورهای موثر در ایجاد هیپوکسی و هم‌چنین محتوای TG بدن تاثیر گذار باشد. مونیر و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اجرای ۳ هفته تمرین متناوب تحت شرایط هیپوکسی، کاهش معنادار در بیان ژن HIF-1 α در سطح mRNA عضلات اسکلتی دوندگان مرد نخبه را گزارش کردند (۲۲). هالسورت و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی به بررسی تاثیر نوعی تمرین HIIT بر کاهش چربی کبدی و بهبود عملکرد قلبی در افراد دارای NAFLD پرداختند. این محققان از ۲۳ بیمار NAFLD با بیش از ۵٪ چربی درون کبدی استفاده کردند. پروتکل تمرین شامل سه جلسه ۳۰-۴۰ دقیقه‌ای بود که به مدت ۱۲ هفته انجام شد. نتایج نشان داد که تمرینات HIIT باعث کاهش چربی کبدی و توده چربی (از 35 ± 7 به 33 ± 8 کیلوگرم) آلانین (۵۲ \pm ۲۹) به 20 ± 42 واحد در هر لیتر) و آسپارات‌آمینوترانسفراز AST (۳۶ \pm ۱۸) به 15 ± 33 واحد در هر لیتر) و هم‌چنین افزایش پر شدن دیاستولی (۸۴ \pm ۲۴) به ۱۰۷

گروه‌ها و هم‌چنین محدودیت اجرای پژوهش، میانگین حداکثر سرعت برای کل گروه‌ها در نظر گرفته شد (۲۸). هر دو پروتکل تمرین شامل سه قسمت گرم کردن و سرد کردن (۵ دقیقه با ۳۰ درصد سرعت بیشینه) و تمرین اصلی بود.

پروتکل‌های تمرینی: پروتکل تمرین HIIT مجموعه‌ای منظم از تمرینات شدید و کم شدت بود که به ترتیب شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول، ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته سوم و ۹۰ درصد سرعت بیشینه در هفته چهارم تا پایان تمرین بود. دفعات استراحت فعال شامل دو دقیقه با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اول تا پایان هفته سوم و ۲۰ درصد از ابتدای هفته چهارم تا انتهای دوره تمرینات بود. در انتهای هر جلسه و پس از آخرین فعالیت شدید، رت‌ها به جای تمرین در شدت پایین، به مدت پنج 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 (جدول ۱). پروتکل تمرینی LIET نیز مطابق با مسافت طی شده در گروه HIIT در هر هفته بود که این مسافت را با 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).

نمونه‌گیری بافت: ۲۴ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۶ ساعت ناشتایی (۲۹)، کلیه حیوانات با تزریق سدیم پنتوباریتال (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند (۳۰) و پس از استخراج قلب و شستشوی آن با سالین، بافت مربوطه به میکروتیوپ منتقل و علامت‌گذاری شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان انجام مراحل آزمایشگاهی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۳۰). به منظور استخراج RNA، از کیت استخراج ایرایزول RNA، ساخت شرکت زیست فن‌آوران رنا (کد دسترسی

رت‌ها با محیط، رت‌ها به‌طور تصادفی به گروه تجربی ($n=30$) با رژیم غذایی پر چرب شامل ۶۰ درصد چربی (۹۰ درصد چربی فرآوری شده حیوانی و ۱۰ درصد روغن دانه سویا، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین) و گروه شم ($n=10$) با رژیم غذایی شامل: ۲۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۱۰ درصد پروتئین تقسیم شدند (۲۵). پس از گذشت ۱۶ هفته مصرف غذای پرچرب توسط رت‌های گروه تجربی، نمونه خونی از انتهای دم آن‌ها گرفته شد و بلافاصله به لوله‌های محتوی ماده ضد انعقاد EDTA منتقل گردید و در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفت تا پلاسما مورد نیاز قابلیت تفکیک پیدا کند. سپس تا زمان سنجش آنزیم در دمای ۲۰- درجه به صورت منجمد نگهداری شد. برای سنجش میزان پلاسمایی (ALT) Alanine Transaminase از روش الیزا و کیت‌های ساخت شرکت پارس آزمون (ساخت ایران) استفاده شد. بررسی میزان سرمی آنزیم ALT به عنوان یکی از نشانگان اصلی بروز کبد چرب، مشخص کرد غذای چرب به خوبی توانسته است بیماری NAFLD را در گروه تجربی القاء نماید. سپس کلیه رت‌های گروه تجربی به‌طور تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی شامل یک گروه کنترل و دو گروه تمرینی (HIIT و LIET) تقسیم شدند و همچنان غذای پر چرب مصرف می‌کردند. گروه شم در کل پژوهش غذای استاندارد مصرف کردند و همانند گروه کنترل در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکردند (۲۵) گروه‌های تجربی (HIIT و LIET) در پروتکل‌های تمرینی ویژه خود به مدت ۸ هفته (۵ روز هفته) شرکت کردند. 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 (۲۶). جهت تعیین حداکثر سرعت رت‌ها از آزمون ۱۰ مرحله‌ای استفاده شد. سرعت در مرحله اول ۰/۳ کیلومتر بر ساعت (۵ متر در دقیقه) و در مراحل بعدی، در هر ۳ دقیقه ۰/۳ کیلومتر بر ساعت به سرعت نوار گردان اضافه می‌شد و سرعتی که در آخرین مرحله، حیوان علی‌رغم شوک الکتریکی قادر به دویدن نبود به‌عنوان حداکثر سرعت دویدن حیوان ثبت گردید (۲۷). سپس به‌جهت نزدیکی سرعت بیشینه

رنا استفاده گردید (۳۱). توالی پرایمرها برای ژن *HIF-1a* و TBP در جدول ۳ ارائه شده است. برای استخراج TG بافت قلب، ابتدا با استفاده از ترازوی دیجیتال، معادل ۰/۵ گرم (۵۰۰mg) از بافت قلب جدا شد و در داخل میکروتیوپ قرار گرفت. سپس معادل ۱ میلی‌لیتر ایزوپروپانول به هر میکروتیوپ اضافه شد و با استفاده از سواپ پلاستیکی، بافت قلب داخل میکروتیوپ را فشرده و تا قطعه قطعه کردن و متلاشی شدن کامل بافت جهت تسهیل هموژنیزاسیون این کار ادامه پیدا کرد. در ادامه، میکروتیوپ‌ها برای جداسازی بافت‌ها به مدت ۱ دقیقه به وسیله دستگاه هموژنایزر و با قدرت ۵۰۰۰ Hz هموژنیزه شد (HETYCH، مدل UP1000H). پس از آن میکروتیوپ‌ها 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)(۳۲).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم‌افزار version 16 SPSS و آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی شفه تجزیه و تحلیل شدند ($P < 0/05$).

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش در کمیته اخلاق تحقیقاتی علوم ورزشی و بر اساس انطباق با استانداردهای اخلاق در تحقیقات وزارت علوم با کد IR.SSRI.REC.1397.331 تایید شده است.

RB1001) استفاده شد. ابتدا میزان ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم از بافت فریز شده قلب به حاوان استریل منتقل و به همراه ۱ میلی‌لیتر بافر برای ایجاد بافتی همگن کوبیده شد. سپس این محلول به میکروتیوپ منتقل شد و ۲۰۰ میکرو لیتر کلروفرم به آن اضافه گردید و به مدت ۱۵-۱۰ ثانیه تکان داده و پس از آن به مدت ۵ دقیقه برای تفکیک لایه رویی که حاوی RNA بود ثابت نگه داشته شد. سپس این مایع با ۱۰۰۰ میکرو لیتر اتانول ۱۰۰ درصد سرد مخلوط و به مدت ۸ دقیقه در داخل فریزر ۲۰- قرار داده شد. سپس تیوپ سانتریفیوژ شد و مایع باقیمانده حذف شد و اتانول ۸۰ درصد به لکه‌های سفید رنگ باقیمانده در بدنه و کف تیوپ اضافه شد و مجدداً سانتریفیوژ تکرار شد و پس از خارج کردن اتانول و خشک کردن محتوای داخل تیوپ (در این مرحله روش air-dry مورد استفاده قرار گرفت) ۲۰ تا ۵۰ میکرو لیتر آب دو بار تقطیر شده، متناسب با میزان رسوب به آن اضافه و با پیپت RNA داخل تیوپ حل شد. سپس ۵ ماکرو لیتر از آن به منظور تائید کیفیت بر روی ژل آگارز ۱ درصد ران شد تا پس از تائید، 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 Telomere Binding Protein (TBP) به‌عنوان کنترل سنتز cDNA در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز و طبق پیشنهاد شرکت سازنده پرایمر در شرکت زیست فناوری

جدول ۱: پروتکل تمرینی HIIT و LEIT

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

مهدی باقریان و همکاران

۷۴۸	-	۸	۳۶	۲۰	۹۰	HIIT	۵
۷۴۸	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	LIET	۵
۷۴۸	-	۸	۳۶	۲۰	۹۰	HIIT	۶
۷۴۸	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	LIET	۶
۷۴۸	-	۸	۳۶	۲۰	۹۰	HIIT	۷
۷۴۸	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	LIET	۷
۷۴۸	-	۸	۳۶	۲۰	۹۰	HIIT	۸
۷۴۸	۴۵	-	۱۸	-	۴۵	LIET	۸

جدول ۲: مراحل ساخت cDNA

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

جدول ۳: توالی پرایمرها برای ژن *HIF-1a* و *TBP*

نام پرایمر	توالی پرایمر
<i>HIF-1a</i>	F: TCAAGTCAGCAACGTGGAAG
	R: TATCGAGGCTGTGTCGACTG
<i>TBP</i>	F: CAGCCTTCCACCTTATGCTC
	R: TTGCTGCTGCTGTCTTTGTT

HIIT و LIET ($P=0/873$) و گروه شم و HIIT ($P=0/919$) و گروه شم و LIET ($P=0/483$) مشاهده نشد (نمودار ۱). هم‌چنین تحلیل آماری داده‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG بافت قلب بین گروه‌های مختلف این پژوهش وجود دارد. بر این اساس، تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG بافت قلب بین گروه کنترل و گروه HIIT، گروه کنترل و گروه LIET، گروه کنترل و گروه شم، گروه HIIT و گروه شم و گروه LIET مشاهده شد ($P=0/0001$). این در حالی است که تفاوت معنی‌داری در میزان محتوای TG بافت قلب بین گروه تمرین HIIT و LIET مشاهده نشد

نتایج

نتایج مقایسه آنزیم ALT: جهت اطمینان از القاء بیماری کبد چرب غیر الکلی در رت‌هایی که ۱۶ هفته غذای پرچرب استفاده کردند، میزان سرمی آنزیم ALT رت‌ها سنجیده شد و به تفکیک دو گروه غذایی مختلف ارائه شد (جدول ۴). تحلیل نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری در بیان ژن *HIF-1a* بین گروه کنترل و گروه HIIT ($P=0/001$) و گروه کنترل و گروه LIET ($P=0/009$) و گروه کنترل و گروه شم ($P=0/0001$) وجود دارد، اما تفاوت معنی‌داری در بیان ژن *HIF-1a* بین گروه

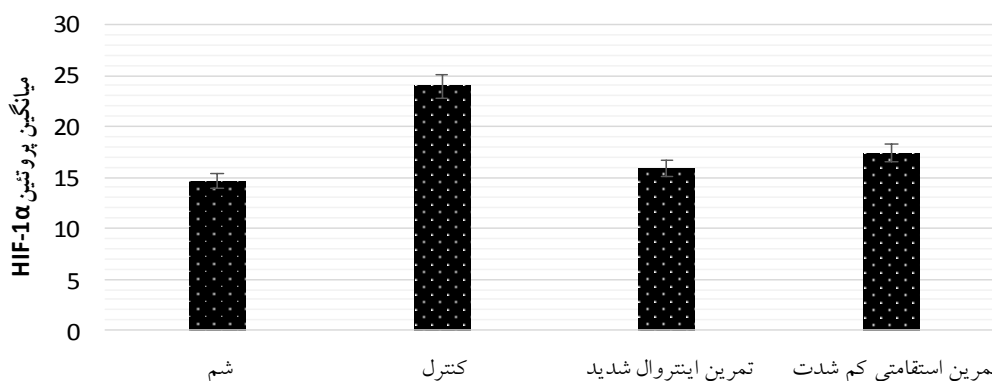
یافته است ($P=0/0001$) در حالی که این میانگین در گروه تمرین تناوبی شدید تغییر معنی‌داری نداشته است. ($P=0/005$). هم‌چنین میانگین وزن گروه کنترل و شم در طی این دوره افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($P=0/0001$).

(نمودار ۲) ($P=0/066$). هم‌چنین، بررسی‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان وزن رت‌های گروه‌های مختلف وجود دارد ($P=0/0001$). با توجه به بررسی نتایج جدول (۵) مشاهده گردید که بین دو گروه تجربی تمرینی، تنها میانگین وزن رت‌های گروه تمرین استقامت کم شدت کاهش معنی‌داری

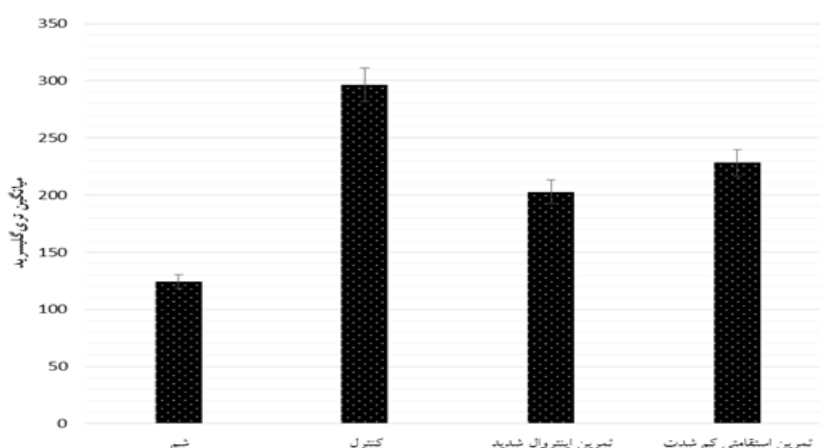
جدول ۴ نتایج آزمون T جهت مقایسه سطح سرمی آنزیم ALT (U/liter) در دو گروه غذایی مختلف

گروه	حداقل	حداکثر	Mean ± SD	درجه	t	P
غذای استاندارد	۵۱/۰۰	۶۷/۰۰	۶۰/۷ ± ۵/۵	۹	۳۴/۵۳	* ۰/۰۰۱
غذای پر چرب	۸۷/۰۰	۱۲۱/۰۰	۱۰۵/۱ ± ۹/۶	۲۶	۵۶/۳۷	* ۰/۰۰۱

* نشانه معناداری نسبت به قبل از تمرین ($P < 0/05$)



نمودار ۱: تغییرات میانگین بیان ژن HIF-1α بافت قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی در گروه‌های مختلف



نمودار ۲: تغییرات میانگین میزان TG بافت قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی در گروه‌های مختلف

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

P	t	درجه آزادی	Mean±SD		شاخص‌های آماری متغیرها
			پایان پروتکل	شروع پروتکل	
*./۰۰۰۱	-۱۰/۶۰	۹	۴۱۸/۸±۰۰/۷۶	۳۹۱/۸±۰/۷۳	شم
*./۰۰۰۱	-۱۲/۵۸	۸	۴۵۵/۱۵±۱۱/۹۷	۴۲۰/۱۴±/۸۸	کنترل
*./۰۰۱	۴/۹۱	۸	۳۷۶/۲۹±۶۷/۳۶	۳۸۹/۸۰±/۳۹	تمرین استقامتی کم شدت
./۰۵۴	-۲/۲۵	۸	۴۰۴/۱۱±۷۸/۰۷	۴۰۱/۱۲±/۷۶	تمرین اینتروال شدید

*نشانه معناداری نسبت به قبل از تمرین ($P < 0.05$)

بحث

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد هشت هفته تمرین HIIT و LIET همراه با رژیم غذایی پرچرب تغییر معنی‌داری بر بیان ژن *HIF-1α* بافت قلبی موش‌های مبتلا به NAFLD داشته است. اگرچه تاکنون پژوهشی به بررسی تأثیر تمرین بر *HIF-1α* و محتوای TG بافت قلبی نپرداخته است، ولی پیش از این، تأثیر نهایی این ژن در متابولیسم چربی و به طور مشخص در کاهش میزان لیپولیز LDs مشخص شده است (۳۳). متابولیسم سلولی به‌طور چشمگیری در پاسخ به هیپوکسی با تأثیر بر گلیکولیز بی‌هوازی تغییر می‌کند که این امر تا حدی مربوط به افزایش رونویسی *HIF-1α* و ژن‌های گلیکولیسی می‌باشد (۳۴). برخی مطالعات نیز نشان داده‌اند که هیپوکسی باعث کاهش بیان peroxisome- (PPARα) proliferator-activated receptor-α، اکسیداسیون اسیدهای چرب و uncoupling protein 3 (UCP3) میتوکندری و افزایش متابولیسم کربوهیدرات می‌شود (۳۵). هیپوکسی همچنین باعث افزایش قابل توجه تجمع LD می‌شود و با توجه به تأثیر آن بر بیان لیپین ۱، *HIF-1α* تأثیر قوی‌تری بر محتوای LD نسبت به *HIF-2α* اعمال می‌کند. بنابراین، فعال‌سازی *HIF-1α* و تا حدی کمتر، فعال‌سازی *HIF-2α* برای تحریک تولید لیپین ۱ و LD حتی در شرایط نرموسیک کافی است (۳۶). در واقع افزایش بیان عوامل القاء هیپوکسی (*HIFs*) همزمان باعث تنظیم مثبت بیان ژن‌های مؤثر در سنتز اسید چرب (Crot) Carnitine O-Octanoyltransferase (Cpt1)، carnitine palmitoyltransferase-1 و Acyl-CoA (Acs11) می‌شود.

Synthetase Long Chain Family Member 1) و کاهش بیان ژن‌های درگیر در بتا‌اکسیداسیون می‌شود (Cpt-1a، Cpt 2، Acyl-CoA Oxidase 1 (Acox1) و peroxisome-) از این‌رو Ppar (proliferator-activated receptor) (۳۷). از این‌رو *HIFs* از طریق تنظیم مثبت بیان پروتئین‌های مرتبط با LD باعث افزایش شکل‌گیری LD می‌شود (۳۸). به طوری‌که افزایش *HIFs* در حیوانات منجر به افزایش ۴ برابری ذخایر TG بدون تغییر در ژن‌های درگیر در نوسازی لیپوژن، بتا‌اکسیداسیون و لیپولیز شده است (۳۹). در بررسی نوع تمرین و ایجاد هیپوکسی نشان داده شده است که تمرینات استقامتی، سطح *HIF-1α* را کاهش می‌دهد در حالیکه افزایش ناگهانی شدت تمرین در مدت کم سطح *HIF-1α* را بالا می‌برد (۴۰). رودریگز و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی که بر روی ۲۴ موش انجام دادند نشان دادند ۸ هفته تمرینات ورزشی برون‌گرا باعث افزایش بیان *HIF-1α* و واسطه‌های Vascular (VEGF) Endothelial Nitric (eNOS) و endothelial growth factor Oxide Synthase در عضلات اسکلتی گردید (۴۱). فلورا (۲۰۱۲) در تحقیق خود به مطالعه تأثیر تمرینات هوازی و بی‌هوازی با استفاده از ترمیم بر روی *HIF-1α* و *VEGF* بافت قلب پرداخت. نتایج نشان داد که هر دو نوع تمرین هوازی و بی‌هوازی باعث افزایش *HIF-1α* و *VEGF* گردید (۴۲). مونیر و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اجرای ۳ هفته تمرین تحت شرایط هایپوکسی، کاهش معنادار در بیان ژن *HIF-1α* در سطح mRNA عضلات اسکلتی دوندگان مرد نخبه گزارش کردند (۲۲). بر اساس نتایج برخی تحقیقات مبنی بر تفاوت بیان *HIF-1α* در پی شرکت در تمرین‌های تناوبی شدید و تمرین‌های

استقامتی در حالت پایدار، تاکنون تناقضات زیادی ارائه شده است. به نظر می‌رسد مهم‌ترین دلایل این تناقضات به عوامل متعددی چون وضعیت سلامتی و سطح آمادگی قلبی آزمودنی‌ها، شدت و مدت تمرین، آمادگی جسمانی شرکت‌کنندگان، وراثت و جنسیت مرتبط باشد (۴۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد، که در مقایسه پروتکل‌های تمرینی استقامتی کم شدت و تناوبی شدید تفاوت معنی‌داری در مقادیر *HIF-1a* مشاهده نشد، که این می‌تواند به دلیل استفاده از رژیم غذایی پرچرب در زمان تمرین در مقایسه با سایر پژوهش‌ها که از رژیم غذایی کم‌چرب استفاده کرده بودند، باشد (۴۴). هم‌چنین نتایج این پژوهش نشان داد هم تمرین‌های استقامتی کم شدت و هم تمرین‌های شدید تناوبی باعث کاهش معنی‌دار محتوای چربی بافت قلبی می‌شود. بنابراین کاهش هماهنگ میزان بیان ژن *HIF-1a* و TG در پی استفاده از پروتکل‌های تمرینی مختلف، می‌تواند معرف نقش و ارتباط پروتئین *HIF-1a* در تنظیم متابولیسم چربی در بافت قلبی به دنبال تمرین ورزشی باشد. در این پژوهش میزان افزایش بیان ژن *HIF-1a* در گروه کنترل با میزان افزایش TG در آن هماهنگ شده است. هم‌چنین نتایج نشان داد کاهش میزان TG در گروه پروتکل تمرینی HIIT مستقل از کاهش وزن بود. اگرچه بسیاری 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 (۴۵). به طوریکه حتی یک مرتبه فعالیت ورزشی شدید نیز می‌تواند با ایجاد تغییرات مثبت در مسیرهای متابولیکی، سم‌زدایی و جلوگیری از تجمع چربی تا حدی از شرایط نامطلوب حاصل از رژیم پرچرب بکاهد (۴۶). در رابطه با این یافته‌ها، نتایج پژوهش تراپ و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان داد که علی‌رغم کاهش معنی‌دار بیان ژن HIG2 و محتوای TG در گروه‌های مختلف تمرینی با شدت بالا، تغییرات کاهش وزن قابل قبولی در این زمینه مشاهده نگردید (۴۷). هم‌چنین در پژوهش هوگتون و همکاران (۲۰۱۷) که در ارتباط با اثر ورزش و بیماری NAFLD انجام شد، نتایج نشان داد که ۱۲ هفته

تمرین درمانی باعث کاهش ۱۶ درصدی TG هیپاتوسیت‌ها مستقل از کاهش وزن بیماران گردید (۴۸). هم‌چنین برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که کاهش TG می‌تواند ناشی از کاهش پروتئین انتقال دهنده تری‌گلیسیرید میکروزومی (MTP) *Microsomal triglyceride transfer protein* باشد. نقش اساسی و مرکزی در تنظیم ترشح TG و VLDL بازی می‌کند (۴۹). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که پس از ۸ هفته در گروه‌های شم و کنترل تغییرات افزایش وزن معنی‌داری مشاهده شد. هم‌چنین در گروه تمرینی استقامتی کم شدت تغییرات کاهش وزن معنی‌دار بود، که می‌تواند بیانگر فعال‌شدن مسیر لیپولیزی و افزایش بتا اکسیداسیون لیپیدها باشد (۴۴). ولی در گروه تمرینات تناوبی شدید تغییرات وزن معنی‌دار نشد. دلیل این امر می‌تواند این باشد که با انجام تمرینات شدید نسبت با تمرینات کم شدت استقامتی، ترشح هورمون‌های سمپاتیکی باعث فعال‌شدن مسیر گلیگولیز بی‌هوازی شده و مسیر لیپولیزی را بلوکه کرده است (۴۴). در این رابطه در پژوهشی که بودو و همکارانش (۲۰۰۳) به بررسی تأثیر تمرینات HIIT بر روی مردان دیابتی نوع ۲ پرداختند، دریافتند که پس از ۸ هفته تمرینات HIIT هیچ تغییری در وزن افراد رخ نداده است؛ با این حال، به میزان ۴۴ درصد کاهش بافت چربی احشایی و توده بدنی بیشتر شرکت‌کنندگان بعد از HIIT را نشان دادند (۵۰). مارسینکو و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر تمرینات اینتروال شدید بر بهبود حساسیت انسولینی بافت کبد و چربی پرداخته است. در این پژوهش اثر ۶ هفته تمرینات HIIT بر موش‌های چاق مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مصرف همزمان غذای پرچرب و تمرینات HIIT، علی‌رغم افزایش مصرف غذا، باعث کاهش میزان گلوکز خون و TG، افزایش حساسیت انسولینی و هم‌چنین افزایش میزان اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها می‌شود. نکته قابل توجه آن بود که کلیه تغییرات ذکر شده مستقل از تغییرات وزن موش‌ها رخ داد. به نظر می‌رسد اینگونه تمرینات باعث افزایش فسفوریلاسیون و مهار آنزیم استیل‌کوآکربوکسیلاز (ACC) *Acetyl-CoA carboxylase* توسط فعالیت پروتئین‌کیناز وابسته به AMP

الکلی باعث کاهش بیان ژن *HIF-1a* به عنوان یکی از اصلی ترین ژن های محدودکننده لیپولیز مرتبط با قطرات چربی می شود و از این طریق باعث کاهش محتوای تری گلیسیرید بافت قلبی در هر دو گروه شده است. بر این اساس، کاهش میزان تری گلیسیرید بافت قلبی در رت های مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی به خوبی نقش تمرین های ورزشی را نمایان می سازد. اگرچه مکانیسم های احتمالی درگیر در این مسیرها تا حدودی متفاوت است. لذا تغییر سبک زندگی با هدف افزایش هزینه انرژی به تنهایی و بدون استفاده از مداخلات دارویی قادر به کاهش ذخایر چربی درون سلولی بافت قلبی می شود.

سپاس گذاری

مقاله حاضر مستخرج از رساله دکترای مصوب گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب می باشد، لذا بدین وسیله از مسئولین و اساتید محترم دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب و هم چنین از همکاری پرسنل پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان که زمینه انجام تحقیق حاضر را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی می نماید.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

AMP-activated protein kinase (AMPK) در عضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد می شود. بنابراین مهار ACC باعث تغییر در تنظیم متابولیسم اسید چرب محتوای کبدی، التهاب بافت چربی و مقاومت انسولینی می شود. با این حال، این محققان اعلام کردند که همچنان مکانیسم های تاثیر تمرینات HIIT بر این مسیرها به خوبی شناسایی نشده اند (۵۱). کاهش TG درون قلبی گروه تمرینی را می توان با مصرف اکسیژن اضافه پس از تمرینات با شدت بالا که در پی رهایش بیشتر کاتکولامین ها و در نتیجه افزایش بیشتر فرایندهای دفع لاکتات در آن ها رخ می دهد، مرتبط دانست که باعث می شود هزینه انرژی مصرفی تا ساعت ها پس از تمرین همچنان زیاد باشد (۵۲). از طرفی، شواهد نشان می دهند که استفاده از تمرین های HIIT باعث تغییر در نوع تار و هیپرتروفی بیشتر تارهای نوع دو و نیز افزایش بیان Glucose transporter 4 (GLUT4) در این گونه تارها می شود که به بروز سازگاری های مثبت و کاهش TG در آن ها به طور مستقل از تغییر در وزن بدن منجر می شود (۵۳).

نتیجه گیری

در کل نتایج این پژوهش نشان داد که هشت هفته تمرین استقامتی کم شدت و تمرین تناوبی شدید حتی به همراه مصرف غذای پر چرب در رت های دارای بیماری کبد چرب غیر

References:

- 1-Hashimoto E, Tani M, Tokushige K. *Characteristics and Diagnosis of NAFLD /NASH*. J Gastroenterology and Hepatology 2013; 28(S4): 64-70.
- 2-Polyzos SA, Kechagias S, Tsochatzis EA. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Diseases: Associations and Treatment Considerations*. Alimentary pharmacology & therapeutics 2021; 54(8): 1013-25.
- 3-Stephen S, Baranova A, Younossi ZM. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Bariatric Surgery*. Expert Review of Gastroenterology & Hepatology 2012; 6(2): 163-71.
- 4-Kotronen A, Yki-Järvinen H. *Fatty Liver: A Novel Component of the Metabolic Syndrome*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2008; 27: 2276-83.
- 5-Flora R, Freisleben HJ, Ferdinal F, Wanandi SI, Sadikin M. *Correlation of Hypoxia Inducible*

- Factor-1 α** and **Vascular Endothelium Growth Factor** in Rat Myocardium during Aerobic and Anaerobic Exercise. Medical Journal of Indonesia 2012; 21(3): 133-40.
- 6-Yardeni D, Toledano R, Novack V, Shalev A, Wolak A, Rotman Y, Etzion O. **The Association of Alanine Aminotransferase Levels with Myocardial Perfusion Imaging and Cardiovascular Morbidity.** J Cardiovasc Pharmacol Ther 2022; 27: 10742484221074585.
- 7-Nakamura M, Sadoshima J. **Cardiomyopathy in Obesity, Insulin Resistance and Diabetes.** J physiol 2020; 598(14): 2977-93.
- 8-Haemmerle G, Moustafa T, Woelkart G, Büttner S, Schmidt A, Van De Weijer T, et al. **ATGL-Mediated Fat Catabolism Regulates Cardiac Mitochondrial Function Via PPAR-A and PGC-1.** Nat Med 2011; 17(9): 1076-85.
- 9-Salvatore T, Pafundi PC, Galiero R, Albanese G, Di Martino A, Caturano A, et al. **The Diabetic Cardiomyopathy: The Contributing Pathophysiological Mechanisms.** Front Med 2021; 8: 695792.
- 10-Shen Y, Xu X, Yue K, Xu G. **Effect of Different Exercise Protocols on Metabolic Profiles and Fatty Acid Metabolism in Skeletal Muscle in High Fat Diet Fed Rats.** Obesity 2015; 23(5): 1000-6.
- 11-Kaelin Jr WG, Ratcliffe PJ. **Oxygen Sensing by Metazoans: The Central Role of the HIF Hydroxylase Pathway.** Mol Cell 2008; 30(4): 393-402.
- 12-Jewell UR, Kvietikova IV, Scheid AN, Bauer CH, Wenger RH, Gassmann M. **Induction of HIF-1 α In Response to Hypoxia is Instantaneous.** FASEB J 2001; 15(7): 1312-4.
- 13-Bostrom P, Magnusson B, Svensson PA, Wiklund O, Borén J, Carlsson LM, et al. **Hypoxia Converts Human Macrophages into Triglyceride-Loaded Foam Cells.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006; 26(8): 1871-6.
- 14-Sun RC, Denko NC. **Hypoxic Regulation of Glutamine Metabolism through HIF1 and SIAH2 Supports Lipid Synthesis that is Necessary for Tumor Growth.** Cell Metab 2014; 19(2): 285-92.
- 15-Huang D, Li T, Li X, Zhang L, Sun L, He X, Zhong X, Jia D, Song L, Semenza GL, Gao P. **HIF-1-Mediated Suppression of Acyl-Coa Dehydrogenases and Fatty Acid Oxidation is Critical for Cancer Progression.** Cell Rep 2014; 8(6): 1930-42.
- 16-Mylonis I, Sembongi H, Befani C, Liakos P, Siniossoglou S, Simos G. **Hypoxia Causes Triglyceride Accumulation by Hif-1-Mediated Stimulation of Lipin 1 Expression.** J Cell sci 2012; 125(14): 3485-93.
- 17-Hölscher M, Schäfer K, Krull S, Farhat K, Hesse A, Silter M, et al. **Unfavourable Consequences of Chronic Cardiac HIF-1 α Stabilization.** Cardiovascular Research 2012; 94(1): 77-86.
- 18-Perman JC, Boström P, Lindbom M, Lidberg U, StÅhlman M, Hägg D, et al. **The VLDL Receptor Promotes Lipotoxicity and Increases Mortality in Mice Following an Acute Myocardial Infarction.** The Journal of Clinical Investigation 2011; 121(7): 2625-40.
- 19-Belanger AJ, Luo Z, Vincent KA, Akita GY, Cheng SH, Gregory RJ, Jiang C. **Hypoxia-Inducible Factor**

- 1** *Mediates Hypoxia-Induced Cardiomyocyte Lipid Accumulation by Reducing the DNA Binding Activity of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor A/Retinoid X Receptor*. Biochemical and Biophysical Research Communications 2007; 364(3): 567-72.
- 20-** Suzuki T, Shinjo S, Arai T, Kanai M, Goda N. *Hypoxia and Fatty Liver*. World Journal of Gastroenterology: WJG 2014; 20(41): 15087.
- 21-** DiStefano MT, Danai LV, Flach RJ, Chawla A, Pedersen DJ, Guilherme A, Czech MP. *The Lipid Droplet Protein Hypoxia-Inducible Gene 2 Promotes Hepatic Triglyceride Deposition by Inhibiting Lipolysis*. J Biol Chem 2015; 290(24): 15175-84.
- 22-** Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, Coudert J, Fellmann N, Clottes E. *Effect of Intermittent Hypoxic Training on HIF Gene Expression in Human Skeletal Muscle and Leukocytes*. European J Applied Physiology 2009; 105(4): 515-24.
- 23-** Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, Cassidy S, Anstee QM, Day CP, Trenell MI. *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.
- 24-** Motta VF, Aguila MB, Mandarim-De-Lacerda CA. *High-Intensity Interval Training (Swimming) Significantly Improves the Adverse Metabolism and Comorbidities in Diet-Induced Obese Mice*. The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness 2015.
- 25-** Cho J, Koh Y, Han J, Kim D, Kim T, Kang H. *Adiponectin Mediates the Additive Effects of Combining Daily Exercise with Caloric Restriction for Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver*. Int J Obes 2016; 40(11): 1760-7.
- 26-** Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. *High Intensity Interval Training Improves Liver and Adipose Tissue Insulin Sensitivity*. Mol Metab 2015; 4(12): 903-15.
- 27-** PITHON-CURI TN. *A Program of Moderate Physical Training for Wistar Rats Based on Maximal Oxygen Consumption*. J Strength Cond Res 2007; 21(3): 751-6.
- 28-** Krug AL, Macedo AG, Zago AS, Rush JW, Santos CF, Amaral SL. *High Intensity Resistance Training Attenuates Dexamethasone Induced Muscle Atrophy*. Muscle Nerve 2016; 53(5): 779-88.
- 29-** 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*. J Biol Chem 2014; 289(28): 19279-93.
- 30-** Suk M, Shin Y. *Effect of High-Intensity Exercise and High-Fat Diet on Lipid Metabolism in the Liver of Rats*. J Exerc Nutrition & Biochem 2015; 19(4): 289-95.
- 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*. Eur J Pharmacol 2018; 826: 75-84.

- 32-Löfgren L, Forsberg GB, Ståhlman M. *The BUME Method: A New Rapid and Simple Chloroform-Free Method for Total Lipid Extraction of Animal Tissue*. Sci Rep 2016; 10; 6(1): 1-1.
- 33-DiStefano MT, Danai LV, Flach RJ, Chawla A, Pedersen DJ, Guilherme A, Czech MP. *The Lipid Droplet Protein Hypoxia-Inducible Gene 2 Promotes Hepatic Triglyceride Deposition by Inhibiting Lipolysis*. J Biol Chem 2015; 290(24): 15175-84.
- 34-Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. *Hypoxia-Inducible Factors and the Response to Hypoxic Stress*. Molecular Cell 2010; 40(2): 294-309.
- 35-Cole MA, Jamil AH, Heather LC, Murray AJ, Sutton ER, Slingo M, et al. *On the Pivotal Role of Ppara in Adaptation of the Heart to Hypoxia and Why Fat in the Diet Increases Hypoxic Injury*. FASEB J 2016; 30(8): 2684-97
- 36-Mylonis I, Sembongi H, Befani C, Liakos P, Siniouoglou S, Simos G. *Hypoxia Causes Triglyceride Accumulation by HIF-1-Mediated Stimulation of Lipin 1 Expression*. J Cell Sci 2012; 125(pt14): 3485-93.
- 37-Piguet AC, Stroka D, Zimmermann A, Dufour JF. *Hypoxia Aggravates Non-Alcoholic Steatohepatitis in Mice Lacking Hepatocellular PTEN*. Clin Sci 2010; 118(6): 401-10.
- 38-Rankin EB, Rha J, Selak MA, Unger TL, Keith B, Liu Q, Haase VH. *Hypoxia-Inducible Factor 2 Regulates Hepatic Lipid Metabolism*. Mol Cell Biol 2009; 29(16): 4527-38.
- 39-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*. J Biol Chem 2014; 289(28): 19279-93.
- 40-Lunde IG, Anton SL, Bruusgaard JC, Rana ZA, Ellefsen S, Gundersen K. *Hypoxia Inducible Factor 1a Links Fast- Patterned Muscle Activity and Fast Muscle Phenotype in Rats*. J physiol 2011; 589(6): 1443-54.
- 41-Rodriguez-Miguel P, Lima-Cabello E, Martínez-Flórez S, Almar M, Cuevas MJ, González-Gallego J. *Hypoxia-Inducible Factor-1 Modulates the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Endothelial Nitric Oxide Synthase Induced By Eccentric Exercise*. J Appl Physiol 2015; 118(8): 1075-83.
- 42-Flora R, Freisleben HJ, Ferdinal F, Wanandi SI, Sadikin M. *Correlation of Hypoxia Inducible Factor-1 α and Vascular Endothelium Growth Factor In Rat Myocardium During Aerobic And Anaerobic Exercise*. Med J Indonesia 2012; 21(3): 133-40.
- 43-Mounier R, Pialoux V, Roels B, Thomas C, Millet G, Mercier J, Coudert J, Fellmann N, Clottes E. *Effect of Intermittent Hypoxic Training on HIF Gene Expression in Human Skeletal Muscle and Leukocytes*. Eur J Appl Physiol 2009; 105(4): 515-24.
- 44-DiStefano MT, Danai LV, Flach RJ, Chawla A, Pedersen DJ, Guilherme A, et al. *The Lipid Droplet Protein Hypoxia-Inducible Gene 2 Promotes Hepatic Triglyceride Deposition by Inhibiting Lipolysis*. J Biol Chem 2015; 290(24): 15175-84.
- 45-Boutcher SH. *High-Intensity Intermittent Exercise and Fat Loss*. J Obesity 2011; 2011: 1-10.

- 46-Charbonneau A, Melancon A, Lavoie C, Lavoie JM. *Alterations in Hepatic Glucagon Receptor Density and in Gsa and Gia2 Protein Content with Diet-Induced Hepatic Steatosis: Effects of Acute Exercise*. American J Physiology-Endocrinology Metabolism 2005; 289(1): E8-14.
- 47-Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. *The Effects of High-Intensity Intermittent Exercise Training on Fat Loss and Fasting Insulin Levels of Young Women*. Int J Obes 2008; 32(4): 684-91.
- 48-Houghton D, Thoma C, Hallsworth K, Cassidy S, Hardy T, Burt AD, et al. *Exercise Reduces Liver Lipids and Visceral Adiposity in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis in a Randomized Controlled Trial*. Clin Gastroenterol Hepatol 2017; 15(1): 96-102.
- 49-Chapados NA, Seelaender M, Levy E, Lavoie JM. *Effects of Exercise Training on Hepatic Microsomal Triglyceride Transfer Protein Content in Rats*. Horm Metab Res 2009; 41(04): 287-93.
- 50-Boudou P, Sobngwi E, Mauvais-Jarvis F, Vexiau P, Gautier JF. *Absence of Exercise-Induced Variations in Adiponectin Levels despite Decreased Abdominal Adiposity and Improved Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetic Men*. Eur J Endocrinol 2003; 149(5): 421-4.
- 51-Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. *High Intensity Interval Training Improves Liver and Adipose Tissue Insulin Sensitivity*. Mol Metab 2015; 4(12): 903-15.
- 52-Nevill ME, Holmyard DJ, Hall GM, Allsop P, Van Oosterhout A, Burrin JM, Nevill AM. *Growth Hormone Responses to Treadmill Sprinting in Sprint-and Endurance-Trained Athletes*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1996; 72(5): 460-7.
- 53-Verdijk LB, Gleeson BG, Jonkers RA, Meijer K, Savelberg HH, Dendale P, et al. *Skeletal Muscle Hypertrophy Following Resistance Training is accompanied by a Fiber Type-Specific Increase in Satellite Cell Content in Elderly Men*. J Gerontol Series A: Biol Sci Med Sci 2009; 64(3): 332-9.

Effect of Training Intensity on *HIF-1a* Gene Expression and Cardiac TG Content in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

Mahdi Bagherian¹, Abdolali Banaeifar^{*2}, Sajad Arshadi², Mohammad Ali Azarbayjani²

Original Article

Introduction: HIF-1a is an important regulator in response to hypoxia that affects various genes involved in energy metabolism. The aim of this study was to investigate the effect of exercise intensity on *HIF-1a* gene expression and cardiac TG content in rats with non-alcoholic fatty liver disease.

Methods: The present study was performed experimentally on 40 male Wistar rats. Mice were randomly divided into 4 groups. The control groups, low-intensity endurance training and intense interval training, consumed high-fat food for 16 weeks, and then the two training groups participated in exercise for 8 weeks. Furthermore, sham group, which used standard food during this period, at the end of training, the expression level of *HIF-1a* and the amount of intra-tissue fat of the heart were measured in 4 groups. *HIF-1a* expression was assessed using real-time PCR and TG assay on an auto-analyzer. SPSS software version 16 and analysis of variance were used to analyze the data.

Results: The results showed that there was a significant difference in the expression of *HIF-1a* gene between the control and the sham groups, HIIT and LIET groups ($P=0.001$). Moreover, there was a significant difference in triglyceride between HIIT and LIET groups compared to the sham and control groups, but no significant difference was observed between HIIT and LIET groups ($P=0.0001$).

Conclusion: The results showed that intense intermittent exercise and low-intensity continuous exercise may reduce cardiac triglyceride content by decreasing *HIF-1a* expression and increasing fatty acid oxidation.

Keywords: Low intensity endurance Training, High intensity interval training, *HIF-1a*, Heart tissue, Triglyceride.

Citation: Bagherian M, Abdolali M, Arshadi S, Azarbayjani M.A. Effect of Training Intensity on HIF-1a Gene Expression and Cardiac TG Content in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 30(7): 5062-76.

^{1,2}Department of Sports Physiology, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09122251779, email: alibanaeifar@yahoo.com