

اثر تمرینات مقاومتی و تناوبی با شدت بالا بر بیان ژنهای PPAR- α ، PPAR- β/δ و PPAR- γ در بافت کبد موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

مهلا تشکری زاده^۱، رزیتا فتحی^۲، خدیجه نصیری^۳

چکیده

اهداف: کبد در متابولیسم انرژی تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله گیرنده‌های فعال شده توسط تکثیرکننده‌ی پرآکسی‌زوم (PPARs) قرار دارد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات تمرین مقاومتی و تناوبی شدید بر بیان PPAR- α ، PPAR- β/δ و PPAR- γ در بافت کبد موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

روش مطالعه: ۱۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (250 ± 25 گرم) و سن هشت هفته به سه گروه تمرین مقاومتی، تمرین تناوبی با شدت بالا و کنترل تقسیم شدند. گروه تمرین مقاومتی تمرین را هر هفته ۳ جلسه به مدت ۸ هفته با استفاده از نردبانی به ارتفاع ۱ متر با ۲۶ پله و با شدت ۵۰ تا ۱۰۰ درصد از حداکثر ظرفیت حمل وزنه انجام دادند. گروه تمرین تناوبی دوییدن با شدت بالا (شش دوره ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۵ درصد از حداکثر مصرف اکسیژن، همراه با ۳ دقیقه استراحت فعال بین هر دوره با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد از حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی نوارگردان) را به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته انجام دادند. بیان ژن‌های PPAR- α ، PPAR- β/δ و PPAR- γ با روش Real Time PCR در بافت کبد اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل یافته‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه صورت گرفت.

یافته‌ها: آزمون تحلیل واریانس نشان داد که میانگین سطوح بیان هیچ‌یک از ژن‌های PPAR- α ($F=0/3$ ، $P=0/7$ ، $\eta^2=0/05$)، PPAR- β/δ ($F=0/6$ ، $P=0/5$ ، $\eta^2=0/10$) و PPAR- γ ($F=1/01$ ، $P=0/3$ ، $\eta^2=0/14$) در بافت کبد موش‌های سه گروه کنترل، تمرین مقاومتی و تمرین تناوبی شدید، تفاوت معناداری با یکدیگر ندارد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که هشت هفته تمرین مقاومتی و تناوبی شدید تأثیر معناداری بر بیان ژن‌های PPAR- α ، PPAR- β/δ و PPAR- γ در بافت کبد نداشت که این موضوع بر پیچیدگی تنظیم متابولیسم انرژی در کبد تأکید دارد.

واژه‌های کلیدی: گیرنده‌های فعال‌شونده پروکسیزوم (PPARs)، متابولیسم کبد، تمرین مقاومتی، تمرین تناوبی با شدت بالا

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

^۲ استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران. قطب علمی پایش سلامت ورزشی و پوشش قهرمانی دانشگاه مازندران نویسنده مسئول: r.fathi@umz.ac.ir

^۳ استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

مقدمه

کبد نقش حیاتی در متابولیسم انرژی و هموستاز متابولیک دارد. این اندام از طریق فرآیندهایی چون گلوکونئوز، گلیکوژنولیز و بتا-اکسیداسیون اسیدهای چرب تعادل گلوکز خون و متابولیسم لیپیدها و پروتئین‌ها را برقرار می‌کند (Rui, 2014). اختلال در این فرآیندها ممکن است به تجمع چربی در کبد و افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های متابولیک نظیر کبد چرب غیرالکلی، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی-عروقی منجر شود. از این رو، کبد به عنوان یکی از عوامل کلیدی در حفظ تعادل متابولیک بدن و پیشگیری از بیماری‌های مزمن شناخته شده است (Frankowski et al., 2023). در این میان، گیرنده‌های فعال شده توسط تکثیرکننده‌ی پراکسی‌زوم (PPARs) ، به‌عنوان فاکتورهای رونویسی فعال شده با لیگاند، نقش تنظیمی مهمی در متابولیسم لیپیدها، هموستاز گلوکز و تعادل انرژی در بافت‌های مختلف و به خصوص در کبد ایفا می‌کنند (Monroy-Ramirez et al., 2021). این گیرنده‌ها شامل سه زیرگونه‌ی $\text{PPAR-}\alpha$ ، $\text{PPAR-}\beta/\delta$ و $\text{PPAR-}\gamma$ هستند که وظایف متابولیکی خاص خود را دارند (Ahmed et al., 2007).

$\text{PPAR-}\alpha$ که عمدتاً در کبد وجود دارد در سه مسیر اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد (بتا اکسیداسیون پراکسی‌زومی، میتوکندری و ω -اکسیداسیون میکروزومی) مشارکت دارد و از این طریق، تعادل چربی و انرژی را در بدن کنترل می‌کند. علاوه بر این، این فاکتور نقش مهمی در سنتز لیپوپروتئین‌ها و پاسخ‌های التهابی دارد و با بروز سرطان کبد در مدل‌های حیوانی ارتباط دارد (Pyper, Viswakarma, Yu, & Reddy, 2010). اگرچه $\text{PPAR-}\beta/\delta$ عمدتاً در عضلات اسکلتی بیان می‌شود، اما در کبد نیز حضور دارد و نقش مهمی در متابولیسم اسیدهای چرب و هموستاز انرژی ایفا می‌کند. فعال‌سازی $\text{PPAR-}\beta/\delta$ می‌تواند به افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش تجمع چربی در کبد منجر شود (Blunder, Pavel, Minzaghi, & Dubrac, 2021). $\text{PPAR-}\gamma$ نیز در بافت چربی به طور چشمگیری بیان می‌شود و در تنظیم تمایز سلول‌های چربی و ذخیره‌ی انرژی نقش دارد. گزارش گردیده $\text{PPAR-}\gamma$ در کبد، کلیه، ریه و رکتوم نیز بیان می‌شود و بیان بیش از حد آن می‌تواند باعث تجمع لیپید در این بافت‌ها شود (Wu, Li, & Shen, 2020).

اگرچه این PPARs به صورت مستقل عمل می‌کنند، شواهد نشان می‌دهد که فعالیت آن‌ها می‌تواند به‌طور غیرمستقیم مرتبط باشد؛ به عنوان مثال، فعال‌سازی $\text{PPAR-}\alpha$ با افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش تجمع چربی، اثرات $\text{PPAR-}\gamma$ را تعدیل می‌کند. تنظیم همزمان PPARs می‌تواند به بهبود متابولیسم کبد و پیشگیری از بیماری‌های کبدی کمک کند (Wang, 2010).

سازوکار عملکرد PPARs از طریق فعال‌سازی یا مهار ژن‌های هدف صورت می‌گیرد. با اتصال لیگاندها به PPARs، تغییر شکل ساختاری اتفاق می‌افتد که به آن‌ها امکان اتصال به توألی‌های خاص DNA و تنظیم بیان ژن‌های هدف را می‌دهد. این تنظیم ژنی به تغییرات متابولیکی مانند افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب، کاهش سنتز گلوکز و افزایش حساسیت به انسولین منجر می‌شود (Rakhshandehroo, Knoch, Müller, & Kersten, 2010). لیگاندهای PPARs می‌توانند شامل لیگاندهای درون‌زا مانند اسیدهای چرب و ایکوزانوئیدها و نیز لیگاندهای برون‌زا نظیر داروها و ترکیبات گیاهی باشند (Grygiel-Górniak, 2014).

شواهد موجود نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی می‌تواند تأثیر مستقیمی بر عملکرد لیگاندهای PPAR داشته باشد (Santos et al., 2016). این تأثیر عمدتاً از طریق آزادسازی انرژی ذخیره‌شده و افزایش اسیدهای چرب آزاد

صورت می‌گیرد که به‌عنوان لیگاندهای طبیعی برای فعال‌سازی PPARs عمل می‌کنند و متابولیسم چربی و عملکرد کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Thomas et al., 2012). گزارش شده که تمرینات تناوبی با شدت بالا به‌طور چشمگیری سطح PPAR- α را در کبد موش‌ها افزایش می‌دهد. این تغییرات همراه با بهبود پروفایل آنزیم‌های کبدی و کاهش تجمع چربی در کبد بوده است که نشان‌دهنده‌ی اثرات مثبت این نوع تمرینات بر بهبود عملکرد کبد و تنظیم متابولیسم چربی است (Jowhari, Daryanoosh, Koushkie Jahromi, & Nekooeian, 2023; Marcinko et al., 2015). همچنین، فعالیت ورزش طولانی‌مدت در مدل‌های حیوانی مانند موش‌ها منجر به افزایش بیان PPAR- α و بهبود پارامترهای متابولیکی نظیر کاهش تری‌گلیسیریدها و کلسترول شده است (Zhang et al., 2011). از طرفی گزارش گردیده که تمرینات شنا باعث کاهش بیان PPAR- γ می‌شود که با کاهش تجمع چربی و مقاومت به انسولین در ارتباط است و می‌تواند در بهبود بیماری‌های کبدی مانند NAFLD مؤثر باشد (Ye & Hua, 2023). همچنین، تمرینات کانکارنت منجر به کاهش بیان PPAR- γ و ژن‌های هدف آن شده و در موش‌های تغذیه شده با رژیم پرچرب منجر به بهبود متابولیسم چربی شده است (Zheng & Cai, 2019).

برخی مطالعات نشان دادند که تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرینات مقاومتی هر دو نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های کبدی، به ویژه بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) دارند. گزارش شده است که تمرین تناوبی شدید عملکرد میتوکندری را افزایش می‌دهد و استرس شبکه آندوپلاسمی را کاهش می‌دهد (Gu, Ma, Mo, & Wang, 2022). همچنین نشان داده شده است که تمرینات مقاومتی سطوح آنزیم‌های کبدی را بهبود می‌بخشد (Jafarikhah et al., 2023). از آنجایی که بررسی مسیرهای مولکولی درگیر در پاتوژنز و درمان نمونه‌های انسانی دشوار و گاه غیرممکن است، ضرورت انجام مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی افزایش یافته است. اگرچه مطالعات انجام شده روی موش‌ها اثر مفید تمرینات تناوبی با شدت بالا و تمرین مقاومتی را بر کبد نشان داده‌اند، اما تأثیر مستقل انواع مختلف ورزش با سیستم‌های انرژی متفاوت بر بیان ژن‌های PPAR- α ، PPAR- β/δ و PPAR- γ روشن نشده است. بنابراین، این پژوهش با هدف پر کردن این شکاف، به بررسی اثرات ۸ هفته تمرین مقاومتی و تناوبی شدید بر بیان ژن‌های PPAR- α ، PPAR- β/δ و PPAR- γ در بافت کبد موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار می‌پردازد.

روش‌شناسی تحقیق

این پژوهش در کمیته تخصصی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه مازندران تأیید و با کد اخلاق (IR.UMZ.REC.1401.061) به تصویب رسیده است. ۱۵ موش نر ویستار (با وزن 25 ± 2.5 گرم) از مرکز تحقیقاتی موسسه پاستور آمل تهیه شده و به آزمایشگاه حیوانات دانشکده علوم ورزشی منتقل شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات در محیطی با متوسط دمای 22°C درجه سانتی‌گراد، رطوبت 55% و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. حیوانات به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند. پس از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، حیوانات به ۳ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه تمرین مقاومتی و گروه تمرینات تناوبی با شدت بالا.

تمرین تناوبی با شدت بالا: در مرحله آشنایی، موش‌ها یاد گرفتند که سه روز در هفته به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه روی تردمیل بدونند. این مرحله به مدت دو هفته ادامه داشت. سپس در مرحله اصلی تمرین،

موش‌ها پس از ۵ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی به مدت ۳۹ دقیقه تمرینات تناوبی را انجام دادند. این تمرینات شامل شش دوره ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۵ درصد از حداکثر مصرف اکسیژن بود که بین هر دوره، ۳ دقیقه استراحت فعال با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد از حداکثر مصرف اکسیژن انجام می‌شد. در پایان هر جلسه تمرین، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه برای مرحله سرد کردن دوباره روی تردمیل دویدند. برای ارزیابی حداکثر ظرفیت دویدن، قبل از شروع تمرینات، آزمونی انجام شد. در این آزمون، موش‌ها با سرعت ۶ متر در دقیقه و با شیب ۲۵ درصد به مدت ۵ دقیقه روی تردمیل دویدند. سپس هر دو دقیقه یک بار، سرعت تردمیل به میزان ۰/۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا جایی که موش‌ها خسته شدند. نقطه خستگی زمانی تعیین شد که موش برای بیش از ۵ ثانیه روی قسمت شوک تردمیل حتی با وجود تحریک به دویدن بماند. حداکثر ظرفیت دویدن به مرحله‌ای گفته می‌شد که موش بتواند حداقل ۵۰ ثانیه در آن مرحله بدود. برای یکسان‌سازی شرایط بین گروه‌های آزمایشی و کنترل، گروه کنترل نیز به مدت ۱۰ دقیقه در روز و یک بار در هفته با سرعت ۱۰ متر در دقیقه روی تردمیل دویدند. شرایط محیطی برای گروه کنترل دقیقاً مشابه گروه آزمایش بود (Costa et al., 2021).

در گروه تمرینات مقاومتی، از نردبانی به ارتفاع ۱ متر با ۲۶ پله که با زاویه ۸۰ درجه قرار گرفته بود، استفاده شد. وزنه‌هایی با استفاده از چسب و گیره به دم‌های موش‌ها متصل می‌شد و آنها این وزنه‌ها را بدون استفاده از شوک الکتریکی حمل می‌کردند. برنامه تمرینی شامل دو مرحله بود: مرحله تطبیق (۲ هفته): موش‌ها سه روز در هفته تمرین کردند و هر جلسه شامل ۴ تا ۵ بار تکرار با استراحت ۲ دقیقه‌ای بین هر تکرار بود. در این مرحله، موش‌ها یاد گرفتند که بدون حمل وزنه از نردبان بالا بروند و هیچ‌گونه شوک الکتریکی یا تحریک دیگری استفاده نشد. مرحله اصلی (۸ هفته): موش‌ها سه جلسه در هفته تمرین کردند. در ابتدای هر جلسه، آنها نردبان را در چهار مرحله بالا می‌رفتند. این مرحله شامل افزایش تدریجی بارها به ۵۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ درصد از حداکثر ظرفیت حمل وزنه با استراحت ۲ دقیقه‌ای بین هر فعالیت بود. پس از این که موش‌ها توانستند ۱۰۰ درصد از حداکثر ظرفیت حمل وزنه را حمل کنند، ۳۰ گرم وزنه به بار قبلی اضافه می‌شد و این فرآیند تا زمانی که موش‌ها به نقطه خستگی برسند، ادامه می‌یافت. حداکثر ظرفیت حمل وزنه هر هفته پس از وزن‌کشی موش‌ها اندازه‌گیری می‌شد. در این روش، ۷۵ درصد از وزن بدن هر موش تعیین می‌شد و ۳۰ گرم به آن اضافه می‌شد و موش‌ها این بار را روی نردبان حمل می‌کردند. افزایش ۳۰ گرم بار تا زمانی که موش‌ها بتوانند از نردبان بالا بروند، ادامه می‌یافت. نقطه خستگی به عنوان حداکثر ظرفیت حمل وزنه تعیین می‌شد. برای انجام مراحل گرم کردن و سرد کردن، دو بار بالا رفتن از نردبان بدون وزنه قبل و بعد از هر جلسه تمرین در نظر گرفته شد (Castro et al., 2021).

چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، به‌منظور حذف اثرات حاد تمرین و پس از ۶ ساعت ناشتا بودن، موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از زایلانین (۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بافت کبد از بدن موش‌ها برداشته شد. پس از شستشو، بافت‌ها در میکروتیوب‌های استریل قرار گرفتند. سپس تمامی نمونه‌ها بلافاصله با استفاده از نیتروژن مایع منجمد و به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای اندازه‌گیری‌های مولکولی، در ابتدا به منظور استخراج RNA کل از بافت کبد در موش‌های صحرایی ماده از کیت استخراج RNA ستونی شرکت دنایست آسیا (ایران) استفاده شد و همه مراحل روش استخراج RNA برطبق دستورالعمل کیت سازنده انجام گرفت. کیفیت و کمیت RNA استخراج‌شده با روش الکتروفورز روی

ژل آگارز و UV اسپکتروفتومتری (نانودراپ مینا ایرانیان، ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس سنتز cDNA با استفاده از کیت یکتا تجهیزآزما (ایران) انجام گرفت. در این پژوهش آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر ژن‌ها در جدول ۱ و β -Actin (ژن رفرنس) با استفاده از نرم افزار 5 Primer Premier طراحی شدند و در ادامه توالی آغازگرها توسط شرکت Bioneer (کره جنوبی) سنتز شدند. توالی آغازگرهای رفت و برگشت برای ژن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش لیواک ($2^{-\Delta\Delta CT}$) محاسبه شد.

جدول ۱. آغازگرهای مورد استفاده در فرآیند Real Time PCR

ژن	شماره دسترسی	توالی آغازگرها	طول (جفت باز)
β -actin	NM_031144.3	Forward: GTGTGACGTTGACATCCGTAAAGAC	۱۱۹
		Reverse: TGCTAGGAGCCAGGGCAGTAAT	
PPAR- α	NM_013196.2	Forward: ACCTTTCTCTTCCCAAAACTCCT	۱۰۴
		Reverse: GCGTCTGACTCGGTCTTCTTG	
PPAR- γ	NM_013124.3	Forward: CCTTTACCACGGTTGATTTCTC	۱۴۰
		Reverse: AGGCTCTACTTTGATCGCACTT	
PPAR- β/δ	NM_013141.2	Forward: TTGAGCCCCAAGTTCGAGTTTG	۱۰۰
		Reverse: CGGTCTCCACACAGAATGATG	

تحلیل آماری

آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه میانگین گروه‌ها انتخاب شد. قبل از استفاده از این آزمون آماری پارامتریک، پیش‌فرض‌های اصلی آن شامل طبیعی بودن توزیع داده‌ها در هر گروه و همگنی واریانس سه گروه برای هریک از متغیرها مورد بررسی و تأیید قرار گرفت. برای بررسی توزیع داده‌ها و همگنی واریانس گروه‌ها، به‌ترتیب آزمون‌های شاپیرو-ویلک و لون، بکار گرفته شدند. سپس، آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه تفاوت‌های بین گروهی مورد استفاده قرار گرفت. در صورت معنادار شدن آزمون آنووا، آزمون تعقیبی LSD برای مقایسه جفتی میانگین گروه‌ها در نظر گرفته شد. سطح معناداری تمامی آزمون‌ها $P < 0.05$ لحاظ گردید. علاوه بر معناداری آزمون‌های آماری، شاخص مجذور اتا (η^2) نیز به عنوان اندازه اثر آن‌ها، محاسبه و گزارش گردید تا میزان و شدت تفاوت میانگین گروه‌ها، فارغ از حجم نمونه، به‌صورت کمی مشخص شود. آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism 9 انجام شد.

نتایج

میانگین و انحراف استاندارد سطوح فاکتورهای PPAR- α ، PPAR- γ و PPAR- β/δ موش‌های سه گروه کنترل، تمرین مقاومتی و تمرین تناوبی شدید در جدول (۱) ارائه شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس نشان داد که میانگین سطوح بیان هیچ‌یک از ژن‌های PPAR- α ($\eta^2 = 0.05$)، PPAR- γ ($F(2, 12) = 0.3$ ، $P = 0.7$) و PPAR- β/δ ($\eta^2 = 0.14$)، PPAR- γ ($F(2, 12) = 1.0$ ، $P = 0.3$) و PPAR- β/δ ($F(2, 12) = 1.0$ ، $P = 0.3$) در بافت کبد موش‌های سه گروه کنترل، تمرین مقاومتی و تمرین تناوبی شدید، تفاوت معناداری با یکدیگر نداشت. با توجه به اینکه مقدار مجذور اتا برای سه فاکتور PPAR- α ، PPAR- γ و PPAR- β/δ در این پژوهش، به‌ترتیب برابر با ۰/۰۵، ۰/۱۰ و ۰/۱۴ حاصل شد، می‌توان گفت شدت و اندازه تفاوت میانگین

گروه‌ها در فاکتور $\text{PPAR-}\alpha$ در حد متوسط، در فاکتور $\text{PPAR-}\gamma$ در حد بالاتر از متوسط و در فاکتور $\text{PPAR-}\beta/\delta$ در حد زیاد بود.

جدول ۱. سطوح (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) بیان ژن‌های $\text{PPAR-}\alpha$ ، $\text{PPAR-}\gamma$ و $\text{PPAR-}\beta/\delta$			
گروه	$\text{PPAR-}\alpha$	$\text{PPAR-}\gamma$	$\text{PPAR-}\beta/\delta$
کنترل	$8/46 \pm 0/63$	$11/31 \pm 0/64$	$7/90 \pm 0/87$
تمرین مقاومتی	$7/92 \pm 1/35$	$10/87 \pm 0/67$	$7/34 \pm 0/86$
تمرین تناوبی شدید	$7/99 \pm 1/37$	$11/25 \pm 0/63$	$7/28 \pm 0/50$

بحث و بررسی:

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطوح بیان هیچ‌یک از ژن‌های $\text{PPAR-}\alpha$ ، $\text{PPAR-}\gamma$ و $\text{PPAR-}\beta/\delta$ در بافت کبد موش‌های سه گروه کنترل، تمرین مقاومتی و تمرین تناوبی شدید، تفاوت معناداری با یکدیگر ندارد. این نتایج با برخی از مطالعات قبلی در تناقض است. Zhang و همکاران به بررسی تأثیر رژیم کتوژنیک همراه با تمرین هوازی بر موش‌های دیابتی پرداخته‌اند. نتایج نشان داد که رژیم کتوژنیک در ترکیب با تمرین هوازی باعث کاهش $\text{PPAR-}\gamma$ و همچنین افزایش ژن $\text{PPAR-}\alpha$ و β -اکسیداسیون لیپید در کبد گردید (Zhang et al., 2018). از علل این تناقض می‌توان به زمینه متابولیکی آزمودنی‌ها اشاره کرد. در مطالعه حاضر از آزمودنی‌های سالم استفاده شده ولی در مطالعه مذکور دارای دیابت هستند. از طرفی تأثیرات هم‌افزایی رژیم کتوژنیک و تمرینات ورزشی ممکن است منجر به فعال‌سازی قوی‌تر مسیرهای ژنی شود. Cho و همکاران پس از ۱۵ هفته مصرف غذای پر چرب، اثرات ۸ هفته تمرین ورزشی هوازی (دویدن روی تردمیل، ۵ روز در هفته) را بر روش موش‌های دارای کبد چرب مورد مطالعه قرار دادند. آنها به این نتیجه رسیدند که بیان $\text{PPAR-}\alpha$ کاهش یافته است (Cho et al., 2014). دلیل اختلاف با مطالعه حاضر می‌تواند تفاوت در شرایط متابولیک آزمودنی‌ها باشد. کبد چرب به دلیل تعامل پیچیده عوامل ژنتیکی، اپی ژنتیکی و متابولیک، تغییرات بارزتری را در مقایسه با یک کبد سالم نشان می‌دهد. کبد سالم به دلیل توانایی‌های تنظیمی قوی، ممکن است به طور خودکار توانایی‌های خود را در پاسخ به نیازهای متابولیکی حفظ کند، حتی زمانی که تمرینات ورزشی به عنوان یک عامل مداخله‌ای وارد می‌شوند. در چنین شرایطی، ممکن است بدن به تغییرات ژنی بزرگ نیازی نداشته باشد و تنها با تنظیمات جزئی در مسیرهای متابولیکی پاسخ دهد (Trefts, Williams, & Wasserman, 2015). مطالعات نشان می‌دهد وقتی بدن در حالت متابولیکی سالم قرار دارد، سیستم‌های تنظیمی آن می‌توانند به خوبی پاسخ دهند و تعادل خود را حفظ کنند، حتی با تغییرات ژنی جزئی و غیرقابل توجه (Siddiqui et al., 2022). در این شرایط، تغییرات بیان ژن‌ها کوچک بوده و به‌طور فوری اثرات چشم‌گیری ندارند. اما اگر این تغییرات جزئی در بیان ژن‌ها به‌طور مداوم و در طول زمان ادامه داشته باشند، ممکن است به تدریج اثرات بیولوژیکی قابل توجهی روی سلامت فرد بگذارند (Capp, 2021). از طرفی همسو با مطالعه حاضر Nikroo و همکاران با مطالعه روی موش‌های نر دارای کبد چرب نشان داد که ۸ هفته تمرین هوازی، مقاومتی و ترکیبی به کنترل افزایش وزن ناشی از غذای پرچرب، کاهش سطح سرمی ALT و بهبود مقاومت به

انسولین کمک کرده و تمرینات مقاومتی نیز در بهبود کبد چرب مؤثرتر بوده است (Nikroo, Hosseini, Fathi, Sardar, & Khazaei, 2020).

با وجود اینکه تفاوت‌های آماری در بیان ژنهای PPARs مشاهده نشد، اما نباید از اهمیت تغییرات کوچک و غیرمعتادار در بیان این ژن‌ها غافل شد. زیرا که این تغییرات می‌توانند از لحاظ بیولوژیکی نقش مهمی ایفا کنند. برای مثال، تغییرات کوچک در بیان ژن‌ها می‌تواند بر مسیرهای متابولیکی و تنظیم انرژی در سطح میکروسکوپی تأثیر بگذارد و در بلندمدت به تغییرات فیزیولوژیکی مهمی منجر شود (Qiu, Zhang, Zeng, & Zhu, 2023; Varga, Czimmerer, & Nagy, 2011). محققان بیان کردند که PPAR- α نقش حیاتی در کاهش استتائوز کبدی دارد و تغییرات کوچک در بیان این ژن می‌تواند به مرور زمان اثرات مهمی بر سلامت کبد و متابولیسم عمومی داشته باشد (Todisco et al., 2022). مطالعات بر روی بافت عضلانی نشان داد حتی تغییرات کوچک و غیر معتادار در بیان PPAR- β/δ می‌تواند به بهبود اکسیداسیون چربی و افزایش ظرفیت استقامتی منجر شود (Crossland, Constantin-Teodosiu, & Greenhaff, 2021).

در این مطالعه میزان بیان ژنهای PPAR- α و PPAR- β/δ در گروه‌های تمرینی کاهش یافت، میزان این کاهش در گروه تمرین تناوبی شدید بیشتر از تمرین مقاومتی بود. از طرفی، میزان بیان ژن PPAR- γ در گروه تمرینات مقاومتی کاهش بیشتری نسبت به گروه تمرینات تناوبی داشت. تفاوت در بیان ژنهای PPAR- α ، PPAR- β/δ و PPAR- γ بافت کبد در پاسخ به دو نوع تمرین تناوبی شدید و مقاومتی را می‌توان به نقش‌های خاص این ژن‌ها در تنظیم متابولیسم و حفظ تعادل انرژی نسبت داد. مطالعات نشان می‌دهد PPAR- α و PPAR- β/δ تنظیم‌کننده‌های کلیدی اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری هستند (Lin, Wang, & Li, 2022; Montaigne, Butruille, & Staels, 2021). کاهش بیان ژنهای PPAR- α و PPAR- β/δ پس از تمرین ممکن است بازتابی از یک مکانیسم تنظیمی برای جلوگیری از اکسیداسیون بیش از حد اسید چرب باشد، که در غیر این صورت می‌تواند منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) در طی استرس فیزیکی شدید شود (Powers et al., 2020). گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر محصولات جانبی طبیعی متابولیسم میتوکندری هستند، به ویژه در دوره‌هایی که تقاضای انرژی افزایش می‌یابد، مانند در زمان انجام تمرین تناوبی با شدت بالا، سطوح بالای ROS می‌تواند منجر به آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA شود که می‌تواند عملکرد سلولی را به خطر بیندازد (Jomova et al., 2023). با کاهش بیان PPAR- α و PPAR- β/δ ، بدن ممکن است میزان اکسیداسیون اسید چرب را محدود کند و در نتیجه تولید ROS را کاهش دهد و از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کند. این کاهش بیان ژن ممکن است بخشی از پاسخ تطبیقی به جلسات مکرر تمرین تناوبی با شدت بالا باشد. با گذشت زمان، بدن ممکن است با بهبود کارایی میتوکندری یا افزایش دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی سازگار شود که می‌تواند به مدیریت بهتر سطوح ROS کمک کند و همچنان نیازهای انرژی ورزش را برآورده کند (Koh et al., 2017).

در این مطالعه، کاهش بیان ژنهای PPAR- α و PPAR- β/δ پس از تمرین تناوبی شدید به احتمال زیاد یک مکانیسم حفاظتی برای تعادل تولید انرژی با مدیریت استرس اکسیداتیو است، که اطمینان حاصل می‌کند سلول‌ها می‌توانند تمرین با شدت بالا را بدون آسیب پایدار تحمل کنند. همچنین کاهش مشاهده شده در بیان PPAR- γ در گروه تمرین مقاومتی، اگرچه از نظر آماری معنی‌دار نبود، اما نشان‌دهنده روندی به سمت کاهش لیپوژنز است.

این کاهش می‌تواند با محدود کردن تجمع چربی‌های اکتوپیک در کبد، حساسیت به انسولین را بهبود بخشد. فعال‌سازی $\text{PPAR-}\gamma$ موجب ذخیره‌سازی اسیدهای چرب در بافت چربی می‌شود و در نتیجه میزان دسترسی آن‌ها در کبد و عضلات کاهش می‌یابد، که تجمع چربی اکتوپیک را کاهش داده و از مقاومت به انسولین جلوگیری می‌کند (Skat-Rørdam, Højland Ipsen, Lykkesfeldt, & Tveden-Nyborg, 2019). همچنین کاهش بیان $\text{PPAR-}\gamma$ ، می‌تواند از هیپرتروفی آدیپوسیت‌ها (بزرگ شدن سلول‌های چربی) جلوگیری کرده و به این ترتیب حساسیت به انسولین را بهبود بخشد (Yun, Nah, Lee, Wu, & Pae, 2023).

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تمرینات مقاومتی و تناوبی شدید به مدت ۸ هفته تأثیر معناداری بر بیان ژن‌های $\text{PPAR-}\alpha$ ، $\text{PPAR-}\gamma$ و $\text{PPAR-}\beta/\delta$ در بافت کبد موش‌های صحرایی سالم ندارند. این یافته‌ها ممکن است به دلیل توانایی‌های تنظیمی قوی کبد سالم و نیاز کمتر بدن به تغییرات ژنی گسترده باشد. با این حال، تغییرات کوچک در بیان ژن‌ها می‌تواند در بلندمدت تأثیرات بیولوژیکی مهمی داشته باشد که نیازمند تحقیقات بیشتر با نمونه‌های بیشتر و بررسی سایر مکانیسم‌های مرتبط است. با این وجود، محدودیت‌هایی از جمله اندازه نمونه کوچک، شدت تحریک تمرینی ناکافی و سلامت نمونه‌ها در این مطالعه وجود دارد که باید در نظر گرفته شود. پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده از نمونه‌های بزرگ‌تر، پروتکل‌های تمرینی با شدت و مدت متفاوت، و همچنین مدل‌های حیوانی با شرایط متابولیکی مختلف استفاده شود.

تضاد منافع

این پژوهش هیچ‌گونه تضاد و تعارض منافی ندارد.

منابع.

- Ahmed, W., Ziouzenkova, O., Brown, J., Devchand, P., Francis, S., Kadakia, M., . . . Zandbergen, F. (2007). PPARs and their metabolic modulation: new mechanisms for transcriptional regulation? *Journal of internal medicine*, 262(2), 184-198.
- Blunder, S., Pavel, P., Minzaghi, D., & Dubrac, S. (2021). PPARdelta in affected atopic dermatitis and psoriasis: a possible role in metabolic reprogramming. *International journal of molecular sciences*, 22(14), 7354.
- Capp, J. P. (2021). Interplay between genetic, epigenetic, and gene expression variability: Considering complexity in evolvability. *Evol Appl*, 14(4), 893-901.
- Castro, A. P., Silva, K. K., Medeiros, C. S., Alves, F., Araujo, R. C., & Almeida, J. A. (2021). Effects of 12 weeks of resistance training on rat gut microbiota composition. *Journal of Experimental Biology*, 224(12), jeb242543 .
- Cho, J., Lee, I., Kim, D., Koh, Y., Kong, J., Lee, S., & Kang, H. (2014). Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*, 18(4), 339 .
- Costa, L. R., Castro, C. A. d., Marine, D. A., Fabrizzi, F., Furino, V. d. O., Malavazi, I., . . . Duarte, A. C. G. d. O. (2021). High-Intensity interval training does

- not change vaspin and omentin and does not reduce visceral adipose tissue in obese rats. *Frontiers in Physiology*, 12, 564862 .
- Crossland, H., Constantin-Teodosiu, D., & Greenhaff, P. L. (2021). The regulatory roles of PPARs in skeletal muscle fuel metabolism and inflammation: Impact of PPAR agonism on muscle in chronic disease, contraction and sepsis. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 9775 .
- Frankowski, R., Kobierecki, M., Wittczak, A., Różycka-Kosmalska, M., Pietras, T., Sipowicz, K., & Kosmowski, M. (2023). Type 2 Diabetes Mellitus, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, and Metabolic Repercussions: The Vicious Cycle and Its Interplay with Inflammation. *Int J Mol Sci*, 24(11).
- Grygiel-Górniak, B. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications-a review. *Nutrition journal*, 13, 1-10 .
- Gu, X., Ma, X., Mo, L., & Wang, Q. (2022). The role of exercise intensity on fatty liver in rats. *Chin J Physiol*, 65(6), 301-310.
- Jafarikhah, R., Damirchi, A., Rahmani Nia, F., Razavi-Toosi, S. M. T., Shafaghi, A., & Asadian, M. (2023). Effect of functional resistance training on the structure and function of the heart and liver in patients with non-alcoholic fatty liver. *Scientific Reports*, 13(1), 15475.
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress ,and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of toxicology*, 97(10), 2499-2574 .
- Jowhari, A., Daryanoosh, F., Koushkie Jahromi, M., & Nekooeian, A. A. (2023). Effect of High-intensity Intermittent Swimming Training on peroxisome proliferator-activated receptors- α and Liver Enzymes in Non-alcoholic Steatohepatitis Male Rats. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 30(10), 6034-6051.
- Koh, J.-H., Hancock, C. R., Terada, S., Higashida, K., Holloszy, J. O., & Han, D.-H. (2017). PPAR β is essential for maintaining normal levels of PGC-1 α and mitochondria and for the increase in muscle mitochondria induced by exercise. *Cell metabolism*, 25(5), 1176-1185. e1175 .
- Lin, Y., Wang, Y., & Li, P.-f. (2022). PPAR α : An emerging target of metabolic syndrome, neurodegenerative and cardiovascular diseases. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 1074911 .
- Marcinko, K., Sikkema, S. R., Samaan, M. C., Kemp, B. E., Fullerton, M. D., & Steinberg, G. R. (2015). High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol Metab*, 4(12), 903-915.
- Monroy-Ramirez, H. C., Galicia-Moreno, M., Sandoval-Rodriguez, A., Meza-Rios, A., Santos, A., & Armendariz-Borunda, J. (2021). PPARs as Metabolic Sensors and Therapeutic Targets in Liver Diseases. *Int J Mol Sci*, 22(15).
- Montaigne, D., Butruille, L., & Staels, B. (2021). PPAR control of metabolism and cardiovascular functions. *Nature Reviews Cardiology*, 18(12), 809-823.

- Nikroo, H., Hosseini, S. R. A., Fathi, M., Sardar, M. A., & Khazaei, M. (2020). The effect of aerobic, resistance, and combined training on PPAR- α , SIRT1 gene expression, and insulin resistance in high-fat diet-induced NAFLD male rats. *Physiology & behavior*, 227, 113149.
- Powers, S. K., Deminice, R., Ozdemir, M., Yoshihara, T., Bomkamp, M. P., & Hyatt, H. (2020). Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? *Journal of sport and health science*, 9(5), 415-425.
- Pyper, S. R., Viswakarma, N., Yu, S., & Reddy, J. K. (2010). PPAR α : energy combustion, hypolipidemia, inflammation and cancer. *Nuclear receptor signaling*, 8(1), nrs. 08002.
- Qiu, Y.-Y., Zhang, J., Zeng, F.-Y., & Zhu, Y. Z. (2023). Roles of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Pharmacological Research*, 192, 106786.
- Rakhshandehroo, M., Knoch, B., Müller, M., & Kersten, S. (2010). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha target genes. *PPAR Res*, 2010.
- Rui, L. (2014). Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol*, 4(1), 177-197.
- Santos, M. H., Higuchi Mde, L., Tucci, P. J., Garavelo, S. M., Reis, M. M., Antonio, E. L., . . . Maranhão, R. C. (2016). Previous exercise training increases levels of PPAR- α in long-term post-myocardial infarction in rats, which is correlated with better inflammatory response. *Clinics (Sao Paulo)*, 71(3), 163-168.
- Siddiqui, N., Bhavana, P., Sarvani, V., Gurumanchi, S., Nambidi, S., Madhav, S., . . . Rao, K. (2022). Impact of Metabolic Regulation in Understanding the Status of Human Health and Diseases: A Review: Life Science-Biotechnology for Prospective Medical science. *International Journal of Life Science and Pharma Research*, 12(1), L19-L31.
- Skat-Rørdam, J., Højland Ipsen, D., Lykkesfeldt, J., & Tveden-Nyborg, P. (2019). A role of peroxisome proliferator-activated receptor γ in non-alcoholic fatty liver disease. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 124(5), 528-537.
- Todisco, S., Santarsiero, A., Convertini, P., De Stefano, G., Gilio, M., Iacobazzi, V., & Infantino, V. (2022). PPAR alpha as a metabolic modulator of the liver: role in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Biology*, 11(5), 792.
- Trefts, E., Williams, A. S., & Wasserman, D. H. (2015). Exercise and the regulation of hepatic metabolism. *Progress in molecular biology and translational science*, 135, 203-225.
- Varga, T., Czimmerer, Z., & Nagy, L. (2011). PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812(8), 1007-1022.
- Wang, Y.-X. (2010). PPARs: diverse regulators in energy metabolism and metabolic diseases. *Cell research*, 20(2), 124-137.

- Wu, H., Li, X., & Shen, C. (2020). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in white and brown adipocyte regulation and differentiation. *Physiol Res*, 69(5), 759-773.
- Yun, N., Nah, J., Lee, M. N., Wu, D., & Pae, M. (2023). Post-effects of time-restricted feeding against adipose tissue inflammation and insulin resistance in obese mice. *Nutrients*, 15(11), 2617
- Zhang, Q., Xu, L., Xia, J., Wang, D., Qian, M., & Ding, S. (2018). Treatment of diabetic mice with a combination of ketogenic diet and aerobic exercise via modulations of PPARs gene programs. *PPAR research*, 2018(1), 4827643

The Effects of Resistance and High-Intensity Interval Training on the Expression of PPAR- α , PPAR- β/δ , and PPAR- γ Genes in Liver Tissue of Male Wistar Rats

Mahla Tashakorizadeh, Rozita Fathi*, Khadijeh Nasiri

Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

*Corresponding author: r.fathi@umz.ac.ir

Abstract

Objectives: The liver is affected by various factors in energy metabolism, including peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs). The aim of the present study was to investigate the effects of high-intensity interval and resistance training on the expression of PPAR- α , PPAR- β/δ , and PPAR- γ in the liver tissue of male Wistar rats.

Methods: Fifteen male Wistar rats (250 ± 25 g) and 8 weeks of age were divided into three groups: resistance training, high-intensity interval training, and control. The resistance training group performed 3 sessions per week for 8 weeks using a 1-meter ladder with 26 steps and an intensity of 50 to 100% of maximum weight-bearing capacity. The high-intensity interval training group performed high-intensity running (six 4-minute periods at an intensity of 85 to 95% of maximum oxygen consumption, with 3 minutes of active recovery between each period at an intensity of 40 to 50% of maximum oxygen consumption on a treadmill) for 8 weeks and 5 sessions per week. The expression of PPAR- α , PPAR- β/δ , and PPAR- γ genes was measured in liver tissue by Real Time PCR. The findings were analyzed by one-way analysis of variance.

Results: Analysis of variance test showed that the mean expression levels of any of the genes PPAR- α ($P=0.7$), PPAR- γ ($P=0.5$) and PPAR- β/δ ($P=0.3$) in the liver tissue of rat in the three groups of control, resistance training and intense interval training were not significantly different from each other.

Conclusion: The results of this study showed that eight weeks of intense resistance and interval training did not have a significant effect on the expression of PPAR- α , PPAR- β/δ , and PPAR- γ genes in liver tissue, which emphasizes the complexity of regulating energy metabolism in the liver.

Key words: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARS), Liver Metabolism, Resistance Training, High-Intensity Interval Training.