



Open Access

مقاله پژوهش

دوازده هفته تمرین تناوبی شدید مستقل از هایپوکسی موجب بیوژنز میتوکندریایی کبد رت های نر با رژیم غذای پر چرب می شود

فائقه قاسمی^۱، دکتر حمید محبی^{*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۰ تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۱۰/۲۵

چکیده

مقدمه: مصرف رژیم غذایی پرچرب منجر به اختلال در بیوژنز میتوکندری کبد می‌شود. تمرینات ورزشی و هایپوکسی که به‌عنوان راهبردهای پیشگیری یا درمانی جدید برای بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) ناشی از چاقی می‌باشند، احتمالاً می‌توانند عملکرد میتوکندری مختل شده را بهبود بخشند. هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثر تغذیه، تمرین و هایپوکسی بر بیوژنز میتوکندری کبد در رت‌های نر ویستار بود. **روش پژوهش:** ۳۲ سر رت نر (سن: ۶ هفته؛ میانگین وزن: ۱۶۷/۲۵ گرم) به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی شامل گروه‌های رژیم غذایی نرمال (ND)، رژیم غذایی پرچرب (HFD)، رژیم غذایی پرچرب و تمرین در شرایط نورموکسی (HFD-HIIT)، رژیم غذایی پرچرب و تمرین در شرایط هایپوکسی (HFD-HHIIT) تقسیم شدند. پس از تعیین حداکثر سرعت هوازی (MAV) در شرایط نورموکسی (ارتفاع حدود ۵۰ متر) و هایپوکسی-هیپوباریک (ارتفاع حدود ۳۰۰۰ متر)، پروتکل HIIT به مدت ۱۲ هفته و ۳ جلسه در هفته اجرا شد که شامل اجرای ۳ تا ۸ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدتی معادل ۸۰ تا ۹۳ درصد MAV و با دوره‌های استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای با شدت ۵۰ درصد MAV بود. در پایان، سطوح ژن‌های PGC-1 α و Tfam از طریق RT-PCR و محتوی چربی کبدی از طریق رنگ‌آمیزی Oil Red در بافت کبد اندازه‌گیری شد. **یافته‌ها:** دو گروه HFD-HIIT و HFD-HHIIT افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های PGC-1 α و Tfam و کاهش معنی‌داری در محتوای چربی کبدی نسبت به گروه HFD نشان دادند ($p < 0.05$). با این حال، گروه HFD+HHIIT افزایش معنی‌داری در بیان ژن Tfam و کاهش معنی‌داری در محتوی چربی کبد نسبت به HFD+HIIT نشان داد ($p < 0.05$). **نتیجه‌گیری:** به‌نظر می‌رسد، تمرین HIIT مستقل از شرایط هایپوکسی توانسته است، PGC-1 α را افزایش دهد. در حالی که، هایپوکسی با افزایش معنی‌دار بیان ژن Tfam که در بهبود ظرفیت عملکرد میتوکندری نقش دارد، منجر به کاهش بیشتر محتوی چربی کبدی نسبت به شرایط نورموکسی شد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، هایپوکسی، بیوژنز میتوکندری، کبد چرب غیر الکلی، رژیم غذایی پرچرب.

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: mohebbi@guilan.ac.ir



مقدمه

است. به عنوان مثال، مصرف بیش از حد چربی منجر به سرکوب فعالیت و بیان پروتئین‌های کمپلکس فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری و تغییر وضعیت آن در سلول‌های کبدی می‌شود (۲۸) و همچنین می‌تواند منجر به افزایش پاتولوژیک در محتوای چربی کبد شود و به دنبال آن منجر به ایجاد NAFLD یا NASH شود (۳۶، ۴۶). تغذیه با رژیم غذایی پرچرب تجمع چربی و پاسخ‌های التهابی در کبد را تحریک می‌کند (۶۳). همچنین، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که مصرف HFD منجر به اختلال در بیوژنز میتوکندری می‌شود که از طریق کاهش بیان PGC-1 α mRNA در عضله اسکلتی (۵۳) و mtDNA میوکارد قلبی (۹) باعث کاهش تراکم میتوکندری و اختلال عملکرد میتوکندری می‌شود.

شواهد نشان می‌دهد که افزایش تعداد میتوکندری و عملکرد بافت کبد باعث افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌شود که ممکن است با کاهش تجمع TAG کبدی نقش محافظتی ایفا کند (۳۵، ۴۵، ۵۵). تمرینات ورزشی یکی از عواملی است که باعث تحریک بیوژنز میتوکندری در کبد می‌شود (۲۹). همانطوری که مطالعات نشان داده‌اند فعالیت ورزشی با بازگرداندن بیوژنز طبیعی میتوکندری، پیشرفت NAFLD را کند می‌کند (۱۴). تنظیم‌کننده اصلی در فرآیند بیوژنز میتوکندری در پاسخ به فعالیت ورزشی PGC-1 α است (۴۶). مطالعات نشان داده‌اند که بیان بیش از حد PGC-1 α از طریق افزایش محتوای و عملکرد میتوکندری منجر به کاهش ذخیره و ترشح TAG و همچنین افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب کبدی می‌شود (۳۵). همچنین، فعال شدن PGC-1 α باعث رونویسی تعدادی از ژن‌ها از جمله فاکتور رونویسی میتوکندری (Tfam) می‌شود

مصرف رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش چاقی و ایجاد سندرم متابولیک در جوندگان و انسان می‌شود (۵، ۱۶، ۴۹). مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که حدود یک سوم افراد مبتلا به چاقی از NAFLD رنج می‌برند و نیمی از بیماران مبتلا به NAFLD چاقی دارند (۳۹). بنابراین چاقی و NAFLD ارتباط تنگاتنگی با یکدیگر دارند (۵۷). مصرف رژیم غذایی پرچرب می‌تواند منجر به تجمع غیرطبیعی تری‌گلیسیریدها در کبد شود که ناشی از عدم تعادل بین برداشت، سنتز، انتقال و اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌باشد (۴۲، ۶۲). در نهایت، این عدم تعادل بین برداشت چربی کبدی، لیپوژنز *de novo* و کلیرانس لیپید منجر به NAFLD و استئاتوز کبدی می‌شود (۶۱). کبد به‌عنوان یک بافت متابولیکی فعال، نقش مهمی در عملکردهای بیوانرژتیک و سم-زدایی دارد و اختلال در عملکرد آن ممکن است منجر به حالات مختلف پاتولوژیک شود (۴). میتوکندری‌های موجود در سلول‌های کبدی مسئول ایجاد فرآیند گلوکونوژنز هستند که در آن اسیدهای چرب از بافت کبد لیپولیز می‌شوند و ATP را تولید می‌کنند (۷) بنابراین، عملکرد میتوکندری در کبد بسیار مهم است زیرا محل اولیه اکسیداسیون اسیدهای چرب و فسفوریلاسیون اکسیداتیو است (۸) و اختلال در متابولیسم لیپید ناشی از اختلال عملکرد میتوکندری منجر به تجمع بیش از حد تری‌گلیسیریدها (بیش از ۵ درصد) در سلول‌های کبدی و استئاتوز کبدی می‌شود (۳، ۴۴، ۶۴). به همین دلیل، اختلال عملکرد میتوکندری در سلول‌های کبدی، اغلب با اختلالات متابولیک مشاهده شده در بیماری‌های کبد چرب همراه

کاهش فشار اکسیژن دمی باعث هایپوکسی می-شود که هایپوکسی هیپوباریک^۱ (HH) نامیده می‌شود (۶۰). فاکتور القای هایپوکسی^۲ (HIF-1) هموستاتیک سلولی و سیستمیک به هایپوکسی نقش دارد (۵۰). جالب توجه است که HIF-1 α به عنوان یک تنظیم کننده مهم بیوژنز میتوکندری در عضله معرفی شده است (۸). در واقع، قرار گرفتن در معرض هایپوکسی منجر به افزایش بیان ژن در میتوکندری به روشی وابسته به HIF-1 α در موش می‌شود (۳۰). همانطوری که مطالعه‌ای نشان داد که ۸ هفته اقامت در ارتفاع بالا در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی ناشی از چاقی منجر به افزایش بیان ژن‌های مرتبط با بیوژنز میتوکندری و محتوای DNA میتوکندریایی شد (۵۲). و مطالعه‌ی دیگری بر روی بافت کبد نشان داد که قرار گرفتن طولانی مدت در چرخه‌های هایپوکسی و نوروکسی باعث افزایش mtDNA کبد در موش صحرایی می‌شود (۳۱). به همین دلیل، احتمالاً شرایط هایپوکسی بتواند سازگاری‌های بهتری را در ارتباط با بهبود عملکرد میتوکندری داشته باشد. همچنین، مطالعه‌ای دیگر نشان داد که قرار گرفتن در معرض هایپوکسی هیپوباریک به مدت ۹ ماه در ارتفاع ۴۴۰۰ متری (ارتفاع شبیه‌سازی‌شده) در موش‌های صحرایی مورفولوژی، کمیت، تنفس و فعالیت آنزیم کمپلکس IV را تغییر می‌دهد و با افزایش توده یا تعداد میتوکندری در کبد سازگاری بافت را افزایش می‌دهد و انتشار ۲O درون سلولی را با اتخاذ یک توزیع داخل سلولی همگن‌تر میتوکندری در کبد بهبود می‌بخشد (۱۳). در نتیجه یافته‌ها نشان می‌دهد که

که از طریق تعامل با DNA پرموتور میتوکندری، بیان ژن هسته‌ای و میتوکندری را افزایش می‌دهد (۵۶، ۵۹). زیرا افزایش میتوکندری در کبد با اصلاح اپی‌ژنتیکی mtDNA و بهبود شدت NAFLD ارتباط دارد (۴۱).

از آنجایی که، مطالعات کمی بر روی کبد صورت گرفته است و نتایج نشان می‌دهند فعالیت ورزشی با افزایش بیان PGC-1 α باعث بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش استئاتوز کبدی، التهاب و فیبروز می‌شود (۴۳). تأثیر تمرینات ورزشی می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلف تمرینی از جمله شدت، مدت و نوع تمرین باشد. با این حال، محققان به این نتیجه رسیدند که شدت تمرین، به جای حجم تمرین، ممکن است عامل مهمی باشد که بر تغییرات ناشی از ورزش در محتوای پروتئین PGC-1 α هسته‌ای تأثیر - گذارد (۲۰). همانطوری که، نتایج مطالعات نشان داده‌اند افزایش محتوای میتوکندری تحت تأثیر یک تنظیم وابسته به شدت فعالیت ورزشی هستند (۱۸) و با توجه به نتایج مطالعات، تمرینات تناوبی با شدت بالا اثرات بهتری بر دو شاخص مهم بالینی NAFLD، درمان حساسیت به انسولین و کاهش مقاومت به انسولین دارد (۵۱). و از طرفی، تمرین HIIT یک استراتژی با زمان کارآمد است که به طور قابل توجهی باعث ایجاد بیوژنز می‌شود و به عنوان یک روش بالقوه بازسازی میتوکندری عمل می‌کند.

از طرفی، هایپوکسی را که به عنوان کمبود اکسیژن در سطح بافت تعریف می‌شود (۱۰)، می‌توان به عنوان یک محیط شدید در نظر گرفت که با چالش‌های متابولیک فیزیولوژیکی در بافت-های طبیعی همراه است. ارتفاع زیاد به دلیل

hypoxia-inducible factor1 (HIF-1)^۲Hypoxia Hypobaric^۱

جدید به طور تصادفی به چهار گروه هشت تایی شامل: کنترل با رژیم غذایی نرمال (ND)، کنترل با رژیم غذایی پرچرب (HFD)، تمرین HIIT در شرایط نورموکسی (HFD-HIIT)، تمرین HIIT در شرایط هایپوکسی (HFD-HHIIT)، تقسیم شدند. رژیم غذایی نرمال برای گروه کنترل سالم در این پژوهش شامل ۱۰ درصد چربی، ۲۰ درصد پروتئین و ۷۰ درصد کربوهیدرات و رژیم غذایی پرچرب شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد پروتئین و ۲۰ درصد کربوهیدرات بود (۲۳، ۴۰). غذای پرچرب به سفارش پژوهشگر توسط انستیتو سرم سازی رازی تهیه شد و چربی اضافه شده به رژیم غذایی از روغن حیوانی (چربی گوسفند) بود. گروه‌های تمرینی (HFD-HIIT و HFD-HHIIT) ۳ جلسه در هفته و به مدت ۱۲ هفته به فعالیت بر روی نوارگردان در شرایط نورموکسی و هایپوکسی پرداختند. همچنین، رت‌های گروه‌های کنترل (ND و HFD) در طول این ۱۲ هفته هیچ نوع برنامه تمرینی را دریافت نکردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، تمامی رت‌ها با استفاده از ترکیب داروی کتامین-زایلازین بی‌هوش شده و بافت کبد سریعاً جدا و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی در میکروتیوب‌های عاری از RNAase و DNAase جهت جلوگیری از هرگونه آلودگی برای انجام تلخیص mRNA و RT-PCR) قرار داده شد و فوراً در نیتروژن مایع در دمای ۸۰- منجمد گردید. بخش دیگری از بافت کبدی در فاکون‌های حاوی فرمالین ۱۰ درصد برای عکس برداری توسط روش رنگ‌آمیزی Oil Red قرار داده شد. همچنین وزن بدن رت‌ها در طول مداخله هر هفته کنترل شد.

هایپوکسی ناشی از ارتفاع بالا ممکن است عملکرد میتوکندری مختل شده را بهبود بخشد (۵۲). از آنجایی که، هایپوکسی مزمن در ارتفاعات احتمالاً می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی پیشگیری یا درمانی جدید برای NAFLD ناشی از چاقی باشد (۵۲). با این حال، اطلاعات کمی در مورد تأثیر هایپوکسی و تمرینات ورزشی بر روی بیوژنز میتوکندری کبد شناخته شده است. از طرفی، تعیین مسیریایی که پاسخ‌های سازگاری به تمرینات ورزشی را در کبد تنظیم می‌کنند، حائز اهمیت است زیرا منجر به بهبود وضعیت بیماری می‌شود (۴۶، ۵۴). بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط نورموکسی و هایپوکسی بر بیان ژن‌های PGC- α و Tfam در کبد رت‌های تحت رژیم غذایی پرچرب بود.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع توسعه ای و به روش تجربی بود. ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار (۶ هفته سن) با محدوده وزنی $12/65 \pm 167/25$ گرم از موسسه پاستور (کرج، ایران) خریداری و به حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان منتقل شدند. حیوانات در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، رطوبت نسبی ۵۰ درصد و با دسترسی آزاد آب و غذا، در قفس‌های ۴ تایی نگهداری شدند. تمامی مداخلات حیوانی مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی مؤسسات ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تهران (با کد IR.SSRC.REC.1401.128) انجام شد. پس از یک هفته آشناسازی و سازگاری رت‌ها با محیط

و ۴۰ متر بر دقیقه؛ در شرایط هایپوکسی: ۲۰، ۳۰ و ۳۲ متر بر دقیقه بود (جدول ۱). در این پژوهش برای ایجاد شرایط هایپوکسی و کاهش فشار اکسیژن مطابق آنچه در ارتفاع رخ می‌دهد از روش کاهش فشار هوا (هایپوکسی هیپوباریک) استفاده شد (۱۵، ۳۲، ۴۷). برای این منظور از اتاقک کم‌فشار شبیه‌سازی شده ارتفاع معادل ۳۰۰۰ متر (فشار جو: ۶۹۷ mmHg) طراحی شده در دانشگاه گیلان استفاده شد (۲۲).

استخراج RNA و رونویسی معکوس Real Time PCR-

برای سنجش سطوح ژن‌های PGC-1 α و Tfam از روش RT-PCR استفاده شد. برای تعیین میزان بیان ژن‌ها و استخراج RNA از کیت سیناکلون ساخت کشور ایران (Cat No EX6101) و کمیت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، Nano drop مدل Thermo scientific ساخت کشور آمریکا بررسی شد. کیفیت RNA کل با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد مورد بررسی قرار گرفت. برای سنتز cDNA از کیت سنتز cDNA شرکت سینا کلون ساخت کشور ایران (Cat No RT5201) استفاده شد. توالی ژن‌ها از سایت NCBI دریافت شده و برای ژن‌های PGC-1 α ، Tfam و ژن GAPDH به‌عنوان ژن مرجع از طریق نرم افزار primer3 plus آغازگرهای اختصاصی طراحی شد (جدول ۲). برای تکثیر قطعات از مستر میکس RT-PCR شرکت سیناکلون ساخت کشور ایران (Cat No MM2062) طبق دستورالعمل آن استفاده شد. برنامه تکثیر قطعات cDNA در دستگاه

پروتکل تمرین HIIT در شرایط نورموکسی و هایپوکسی

پس از یک هفته آشناسازی، رت‌های گروه‌های تمرینی با راه رفتن و دویدن بر روی نوارگردان (با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه به مدت ۱۰ دقیقه در روز) (۲۴)، حداکثر سرعت هوازی ۳ (MAV) رت‌ها برای تعیین شدت تمرینات ورزشی، به‌طور غیر مستقیم برآورد شد. بدین منظور سرعت نوار گردان در سه دقیقه ابتدایی ۱۰ m/min بود و پس از آن هر سه دقیقه ۵m/min به سرعت نوارگردان اضافه شد و این پروتکل ادامه یافت تا علی‌رغم شوک الکتریکی حیوانات دیگر قادر به دویدن نبودند (۱۲).

در شرایط هایپوکسی نیز پروتکل مشابه اجرا شد با این تفاوت که سرعت نوارگردان در سه دقیقه نخست ۵m/min بود. سرعت ثبت شده احتمالاً بیانگر حالتی است که vO₂ در آن به فلات می‌رسد. پروتکل تمرین HIIT به مدت ۱۲ هفته، هر هفته ۳ جلسه به صورت غیر متوالی به صورت پیش‌رونده با شیب صفر درجه اجرا شد (۱). در ابتدا و انتهای برنامه‌های تمرینی، گرم کردن و سرد کردن به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه انجام شد. پروتکل HIIT شامل اجرای ۳-۸ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ تا ۹۳ درصد MAV و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای با شدت ۵۰ درصد MAV بود که تعداد وهله‌های تمرین به صورت پیش‌رونده تا پایان هفته دوازدهم افزایش می‌یافت. به منظور حفظ شدت مناسب تمرین در پایان هفته‌های چهارم و هشتم آزمون حداکثر سرعت هوازی مجدداً اجرا شد که به ترتیب در شرایط نورموکسی: ۲۵، ۳۵

³ Maximal Aerobic Velocity

آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد و برای مقایسه تغییرات بین گروهی از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده گردید. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی‌داری حداقل $p < 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

تغییرات وزن رت‌ها پس از مداخلات تغذیه‌ای و تمرینی در در طول اجرای پروتکل در نمودار ۱ آمده است. نتایج تحلیل داده‌ها نشان داد که وزن بدن رت‌ها به طور پیوسته در همه گروه‌ها افزایش داشت. مقادیر وزن بدن رت‌ها در گروه‌های رژیم غذایی پرچرب، HFD-HIIT و HFD-HHIIT به ترتیب در حدود ۲۳/۵۴ درصد، ۶/۷ درصد و ۶/۰۸ درصد افزایش نسبت به گروه رژیم غذایی نرمال نشان داد. وزن بدن گروه HFD نسبت به ND افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). همچنین، هر دو گروه HFD-HIIT و HFD-HHIIT نسبت به HFD کاهش معنی‌داری (به ترتیب در حدود ۱۳/۶۳ درصد، ۱۴/۱۳ درصد) را نشان دادند ($p < 0.05$). با وجود این، بین گروه‌های تمرینی (HFD-HIIT و HFD-HHIIT) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

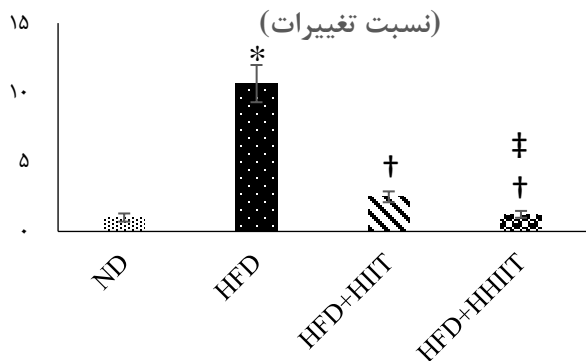
RT-PCR Rotorgen Q ساخت کشور آمریکا استفاده شد و به صورت واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت سه دقیقه، ۴۰ سیکل تکثیر با واسرشته سازی در دمای ۹۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اختصاصی اتصال آغازگر به مدت ۲۰ ثانیه، تکثیر در دمای ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و در انتها محاسبه نقطه ذوب محصولات از دمای ۶۵ تا ۹۵ درجه تنظیم شد. کارایی تکثیر برای هر آغازگر به صورت جداگانه محاسبه و کارایی بین ۹۰ تا ۱۱۰ برای محاسبه بیان هر ژن مطلوب در نظر گرفته شد. صحت ساخت cDNA، با ژن GAPDH و با مستر میکس آماده شرکت سیناکلون (Cat No MM2062) مورد سنجش قرار گرفت. برای کنترل متغیرها تمام داده‌های PCR در مقابل بیان ژن GAPDH نرمال سازی و سطح بیان نسبی mRNA ژن‌های هدف با استفاده از معادله $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد. عکس برداری نمونه‌ها از روش رنگ‌آمیزی Oil Red استفاده شد و در هر گروه با استفاده از میکروسکوپ نوری و فلورسنت شرکت Germany-AXIOM مدل BM-600 LED EPI و FLUORESCENT و دوربین میکروسکوپ Mshot ساخت کشور چین و نرم‌افزار image لمساحت و تعداد قطرات چربی مورد ارزیابی قرار گرفت.

تحلیل آماری

برای گزارش توصیفی داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. پس از این‌که نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیروویلک تأیید شد، برای مقایسه بین دو گروه رژیم غذایی پرچرب و رژیم غذایی استاندارد از آزمون t مستقل و برای مقایسه تأثیر تمرین ورزشی در گروه‌های رژیم غذایی پرچرب از

HFD-HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط نورموکسی، HFD-HHIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هایپوکسی.

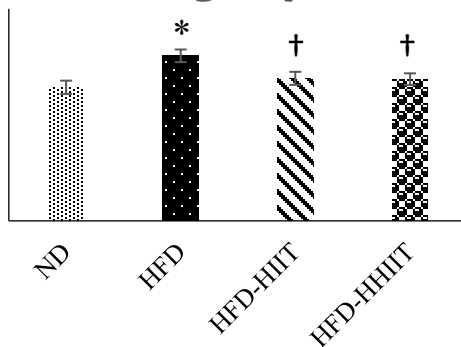
شدت رنگ آمیزی روغن O



نمودار ۲. تغییر محتوای چربی کبد رت‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش. ND: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFD-HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط نورموکسی، HFD-HHIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هایپوکسی * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ND؛ † تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه HFD (p<0/05).

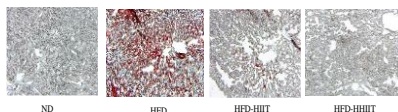
نتایج آزمون آماری t مستقل نشان داد دوازده هفته رژیم غذایی پرچرب منجر به کاهش معنی‌داری در بیان ژن PGC-1α در گروه HFD نسبت به ND شد (p<0/05). در مقابل، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی افزایش معنی‌داری را در گروه‌های تمرینی HFD-HIIT و HFD-HHIIT نشان دادند (p<0/05). در حالی که تغییرات بین گروه‌های تمرینی HFD-HIIT و HFD-HHIIT در مقادیر بیان ژن PGC-1α معنی‌دار نبود (نمودار ۳).

تغییرات وزنی رت‌ها

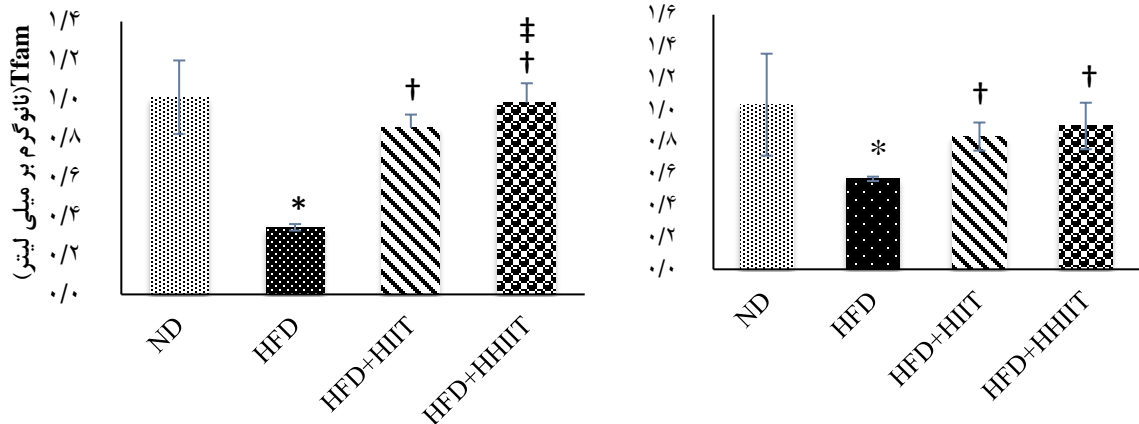


نمودار ۱. تغییرات وزنی رت‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش. ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFD-HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط نورموکسی، HFD-HHIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هایپوکسی. * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ND؛ † تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه HFD (p<0/05).

همچنین، بر اساس نتایج کیفی (شکل ۱) و کمی (نمودار ۲) با روش رنگ آمیزی Oil Red Oil Stain محتوای چربی کبد رت‌ها در گروه دارای رژیم غذایی پرچرب افزایش معنی‌داری نسبت به ND داشت (p<0/05). این در حالی است که محتوای چربی کبد رت‌ها در هر دو گروه تمرینی (HFD-HIIT و HFD-HHIIT) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه HFD نشان دادند (p<0/05). همچنین، گروه HFD-HHIIT کاهش معنی‌داری نسبت به گروه HFD-HIIT نشان داد (p<0/05).



شکل ۱. رنگ آمیزی به روش Oil-Red بافت کبد در گروه‌های مختلف پژوهش. ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب،



نمودار 4. مقادیر بیان ژن Tfam بافت کبد در گروه‌های مختلف پژوهش. ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFD-HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط نورموکسی، HFD-HHIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هایپوکسی. * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ND؛ ‡ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه HFD ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد تمرین HHIIT به همراه مصرف رژیم غذایی پرچرب در شرایط نورموکسی و هایپوکسی توانسته است بیوژنز میتوکندری کبد را با افزایش بیان ژن‌های PGC-1 α و Tfam نسبت به گروه HFD افزایش و محتوای چربی کبدی را کاهش دهد. با این حال، گروه HFD+HHIIT افزایش معنی‌داری در بیان ژن Tfam و کاهش معنی‌داری در محتوای چربی کبد نسبت به HFD+HIIT نشان داد ($p > 0.05$). بر اساس یافته‌های پژوهش، وزن بدن رت‌ها به‌طور پیوسته در طول دوازده هفته در تمامی گروه‌ها افزایش یافت. با این حال، دوازده هفته رژیم

نمودار 3. مقادیر بیان ژن PGC-1 α بافت کبد در گروه‌های مختلف پژوهش. ND: رژیم غذایی نرمال، HFD: رژیم غذایی پرچرب، HFD-HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط نورموکسی، HFD-HHIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هایپوکسی. † تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه HFD ($p < 0.05$).

همچنین، نتایج آزمون آماری t مستقل نشان داد دوازده هفته رژیم غذایی پرچرب منجر به کاهش معنی‌داری در بیان ژن Tfam در گروه HFD نسبت به ND شد ($p < 0.05$). در مقابل، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی افزایش معنی‌داری را در گروه‌های تمرینی HFD-HIIT و HFD-HHIIT نسبت به گروه HFD نشان دادند ($p < 0.05$). همچنین، همچنین، گروه HFD-HHIIT افزایش معنی‌داری نسبت به گروه HFD-HIIT نشان داد ($p < 0.05$).

به همین دلیل، در بیماری کبد چرب اختلال عملکرد میتوکندری در سلول‌های کبدی مشاهده می‌شود (۲۷، ۴۶) و مطالعات نشان داده‌اند ورزش در کاهش پیامدهای ناشی از بیماری کبد چرب موثر است. تمرینات ورزشی پروتئین‌های سلولی و میتوکندریایی کبد را که مربوط به سیگنالینگ کنترل کیفیت میتوکندریایی هستند، افزایش می‌دهد که می‌تواند باعث بازسازی میتوکندری کبد و نوسازی سلول‌های کبدی شود (۴۸). همچنین، تمرینات ورزشی بی‌وزن میتوکندری را القا می‌کند و منجر به بهبود ظرفیت اکسیداسیون سوپسترا، محتوای میتوکندری بیشتر و یا افزایش تنفس میتوکندری می‌شود (۶، ۱۷، ۱۹، ۲۱).

مطالعه‌ای نشان داد هر دو تمرین HIIT و هم تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) می‌توانند منجر به سازگاری و بهبودی NAFLD در موش‌های صحرایی نر مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی ناشی از رژیم غذایی پرچرب شوند (۵۱). با این حال، پیشنهاد شده است تمرینات ورزشی با شدت بالا می‌تواند به طور موثری عملکرد سلول‌های کبدی را بازیابی کند و جایگزین‌های مناسبی برای مدیریت کبد چرب هستند (۵۱).

غذایی پرچرب منجر به افزایش بیشتر وزن بدن (۲۳/۵ درصد) نسبت به رژیم غذایی نرمال شد. همچنین، اندازه گیریهای بافت شناسی نشان داد که محتوی چربی کبد رت‌ها در گروه دارای رژیم غذایی پرچرب افزایش معنی‌داری نسبت به ND نشان داد که بیانگر آن بود که دوازده هفته رژیم غذایی پرچرب سبب افزایش قطرات چربی ذخیره‌شده در کبد گردید که همسو با پژوهش‌های دیگر می‌باشد که نشان دادند رژیم غذایی پرچرب سبب بروز NAFLD پس از ۱۰ تا ۱۲ هفته خواهد شد (۱۶).

افزایش محتوی چربی کبد در گروه‌های دارای رژیم غذایی پرچرب همسو با مطالعاتی است که نشان می‌دهند سبک زندگی غیرفعال و رژیم غذایی پرچرب احتمال افزایش ابتلا به کبد چرب را افزایش می‌دهد (۵۸).

همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد، تمرین ورزشی همراه با رژیم غذایی پرچرب در طول دوازده هفته، باعث تخفیف در افزایش چربی کبدی نسبت به گروه HFD می‌شود. یکی از مکانیسم‌هایی که احتمالاً سبب تجمع چربی کمتر در کبد رت‌های گروه تمرینی شده است افزایش تام اکسیداسیون چربی‌ها به منظور مشارکت در تولید انرژی در حین تمرینات ورزشی می‌باشد (۳۷). از طرفی مطالعات قبلی وجود دارد که نشان می‌دهد که مصرف رژیم غذایی پرچرب می‌تواند منجر به تغییر عملکرد میتوکندری کبد می‌شود (۴۶).

جدول ۱. جزئیات تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)

هفته	گرم کردن		تمرین اصلی								سرد کردن		
	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)	حد اکثر سرعت (%MAV _{max})	سرعت (متر بر دقیقه)	سرعت (دقیقه)	تکرار	سرعت استراحت فعال (m/min)	سرعت (دقیقه)	زمان استراحت فعال (دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)		
				هائپوکسی نورموکسی				هائپوکسی نورموکسی					
۱	۸	۳	%۸۰	۲۰	۱۶	۴	۳	%۵۰	۱۲	۱۰	۲	۸	۳
۲	۸	۳	%۸۰	۲۰	۱۶	۴	۳	%۵۰	۱۲	۱۰	۲	۸	۳
۳	۸	۳	%۹۳	۲۳	۱۹	۴	۴	%۵۰	۱۲	۱۰	۲	۸	۳
۴	۸	۳	%۹۳	۲۳	۱۹	۴	۵	%۵۰	۱۲	۱۰	۲	۸	۳
۵	۸	۳	%۹۳	۳۲	۲۷	۴	۵	%۵۰	۱۷	۱۵	۲	۸	۳
۶	۸	۳	%۹۳	۳۲	۲۷	۴	۵	%۵۰	۱۷	۱۵	۲	۸	۳
۷	۸	۳	%۹۳	۳۲	۲۷	۴	۶	%۵۰	۱۷	۱۵	۲	۸	۳
۸	۸	۳	%۹۳	۳۲	۲۷	۴	۶	%۵۰	۱۷	۱۵	۲	۸	۳
۹	۸	۳	%۹۳	۳۶	۲۹	۴	۷	%۵۰	۱۹	۱۶	۲	۸	۳
۱۰	۸	۳	%۹۳	۳۶	۲۹	۴	۷	%۵۰	۱۹	۱۶	۲	۸	۳
۱۱	۸	۳	%۹۳	۳۶	۲۹	۴	۸	%۵۰	۱۹	۱۶	۲	۸	۳
۱۲	۸	۳	%۹۳	۳۶	۲۹	۴	۸	%۵۰	۱۹	۱۶	۲	۸	۳

جدول ۲. مشخصات و توالی آغازگرهای استفاده شده در پژوهش

ژن	توالی آغازگرها
PGC-1 α	CAATGGCTTCATCACCCGAG-3' -F 5' ATCCCCTCCTGCAACTTCTC -3' -R 5'
Tfam	GGGGCTAAGGATGAGTCACC-3' -F 5' TGAGATCACTTCGCCCAACT -3' -R 5'
GAPDH	AACGACCCCTTCATTGACCT -3' -F 5' CCCCATTTGATGTTAGCGGG -3' -R 5'

معنی‌دار در محتوی چربی کبد و افزایش بیان ژن $PGC-1\alpha$ و $Tfam$ در میتوکندری کبد شد. همانطوری که مطالعات نشان داده‌اند تمرینات ورزشی با بازگرداندن بیوژنز طبیعی میتوکندری، پیشرفت NAFLD را کند می‌کند (۱۴). علاوه بر این، ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری کبد را افزایش می‌دهد، که به نوبه خود باعث بهبود مقاومت به انسولین می‌شود که استئاتوز کبدی را تحریک می‌کند (۱۱).

مکانیسم‌های تنظیمی بیوژنز میتوکندری در طی فعالیت ورزشی به صورت رونویسی از طریق فعال شدن $PGC-1\alpha$ کنترل می‌شود (۴۶). $PGC-1\alpha$ با استیل زدایی و فسفریله شدن فعال می‌شود و باعث رونویسی تعدادی از ژن‌ها از جمله فاکتور رونویسی میتوکندری $A(Tfam)$ می‌شود که از طریق تعامل با DNA پرموتور میتوکندری، بیان ژن هسته‌ای و میتوکندری را افزایش می‌دهد (۵۶، ۵۹). از آنجایی که فعالیت ورزشی برای کاهش TAG کبدی و کاهش سطح TAG

همچنین، افزایش محتوای میتوکندری تحت تأثیر یک تنظیم وابسته به شدت تمرینات ورزشی است (۱۸). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند تمرینات HIIT می‌توانند در زمانی بسیار کوتاه‌تر منجر به سازگاری‌های متابولیکی مشابه با تمرینات استقامتی شود (۳۳). در این راستا، اوه^۱ و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی اثرات درمانی انواع مدل‌های تمرینی (تمرین تناوبی با شدت بالا، تداومی با شدت متوسط و تمرین مقاومتی) برای مدیریت NAFLD پرداخت و نتایج یافته‌ها نشان داد محتوای چربی کبدی (بدون تغییرات معنی‌دار در وزن بدن و چربی احشایی) به میزان مشابه‌ای در همه‌ی گروه‌ها کاهش (حدود ۱۴ درصد) یافت. با این حال، تنها تمرین تناوبی با شدت بالا در بهبود سفتی کبد و بازگرداندن عملکرد سلول‌های کوپفر مؤثر بود و به نظر می‌رسد شدت تمرین عامل مهمی در بهبود فیبروز کبدی و التهاب باشد (۳۸). همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد که هر دو گروه تمرین HIIT در شرایط نورموکسی و هایپوکسی منجر به کاهش

¹ Oh et al

که به عنوان یک حسگر انرژی سلولی عمل می‌کند، فعال کرد. بنابراین، α -PGC-1 فعال شده توسط تمرینات ورزشی منجر به تحریک متوالی چندین فاکتور رونویسی، از جمله فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ۱ و ۲ (NRFs) می‌شود که بیان ژن‌های هسته‌ای را که مسئول کنترل رونویسی اکثر زیر واحدهای کمپلکس‌های میتوکندری (مثل Tfam و mtDNA) هستند، افزایش می‌دهد (۲۶). به عبارت دیگر، Tfam نقش مهمی در القای رونویسی DNA میتوکندری و در نتیجه بیوژنز میتوکندری ایفا می‌کند (۲۵، ۴۶).

از طرفی دیگر، قرار گرفتن در معرض هایپوکسی با القا کردن α -HIF می‌تواند به عنوان یک تنظیم کننده مهم بیوژنز میتوکندری باشد (۸). با توجه به نتایج پژوهش حاضر، تمرین HIIT در شرایط هایپوکسی در مقایسه با شرایط نورموکسی منجر به افزایش معنی‌داری را در بیان ژن Tfam و کاهش معنی‌داری در محتوی چربی کبد نشان داد ($p < 0.05$).

مطالعات نشان می‌دهند که هایپوکسی حاد می‌تواند تکثیر DNA میتوکندری (mtDNA) و رونویسی و ترجمه آنزیم‌های

در گردش خون شناخته شده است، فعال شدن α -PGC-1 ممکن است نقش مهمی در این پاسخ‌ها داشته باشد (۳۵). مطالعات نشان داده‌اند که بیان بیش از حد α -PGC-1 از طریق افزایش محتوای و عملکرد میتوکندری منجر به کاهش ذخیره و ترشح TAG و همچنین افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب کبدی می‌شود (۳۵). جالب توجه است، چون ورزش بیان α -PGC-1 را افزایش می‌دهد، α -PGC-1 ممکن است نقش مهمی در توانایی ورزش برای کاهش ترشح TAG داشته باشد (۳۵). و نشان داده شده است که α -PGC-1 نقش کلیدی در سازگاری میتوکندری کبدی ناشی از فعالیت ورزشی دارد (۳۵).

همچنین، در طی فعالیت ورزشی α -PGC-1 توسط AMPK زمانی که سطح ATP پایین است القا می‌شود. همچنین، فعالیت ورزشی سطوح کلسیم درون سلولی را افزایش می‌دهد و به پروتئین وابسته به کلسیم/کالمودولین و با فعال کردن کلسیم کالمودولین منجر به فعال شدن CREB و به دنبال آن α -PGC-1 می‌شود (۲، ۲۵). علاوه بر این α -PGC-1 را می‌توان با کاهش سطوح AMP/ATP با واسطه AMPK

تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا ... دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی، بهار و تابستان ۱۴۰۳، جلد چهاردهم، شماره ۲

مرتبط با متابولیسم را مهار کند، در حالی که هایپوکسی مزمن معمولاً به دلیل بهبود نسبی عملکردی، تأثیر مثبتی بر عملکرد میتوکندری دارد (۳۴). با این حال، مطالعات کمی در مورد تأثیر ارتفاع و تمرینات ورزشی بر روی بیوژنز میتوکندری کبد انجام گرفته است. همسو با نتایج حاضر، سانگ کنگ^۱ و همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه‌ای اثر ۸ هفته اقامت در ارتفاع بالا (۴۳۰۰ m) در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی ناشی از چاقی منجر به افزایش بیان ژن‌های مرتبط با بیوژنز میتوکندری، عملکرد تنفسی میتوکندری و محتوای DNA میتوکندریایی در گروه رژیم غذایی پرچرب در ارتفاع بالا نسبت به گروه رژیم غذایی پرچرب در ارتفاع پایین شد. همچنین در گروه رژیم غذایی پرچرب در ارتفاع بالا به طور قابل توجهی افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال را نشان دادند (۵۲). همچنین، مطالعه‌ای دیگر نشان داد که قرار گرفتن در معرض هیپوکسی هیپوباریک به مدت ۹ ماه در ارتفاع ۴۴۰۰ متری (ارتفاع شبیه‌سازی‌شده) منجر به افزایش تراکم

میتوکندری در کبد می‌شود (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر بر روی بافت کبد نشان داده شد که قرار گرفتن طولانی مدت در چرخه-های هایپوکسی و نوروکسی باعث افزایش mtDNA کبد در موش صحرائی می‌شود (۳۱). مکانسیم‌های تأثیرگذار در شرایط هایپوکسی علاوه بر فعال شدن HIF-1 α که منجر به فعال‌سازی PGC-1 α می‌شود (۸). همچنین، استرس اکسیداتیو باعث فعال شدن MAPK می‌شود تا بیان PGC-1 α را افزایش می‌دهد (۲۶). همچنین، هایپوکسی احتمالاً عملکرد میتوکندری مختل شده ناشی از رژیم غذایی پرچرب را با فعال کردن سیگنال‌دهی AMPK می‌تواند NAFLD را بهبود بخشد (۵۲).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا در شرایط هایپوکسی و نورموکسی منجر به افزایش سطوح ژن‌های PGC-1 α و Tfam کبد در رت‌های تحت رژیم غذایی پرچرب شد و توانست اثرات منفی رژیم پرچرب بر بیوژنز

¹ Song, Kang et.al



گیلان استخراج شده است. بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود از مسئولان محترم دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان را اعلام میدارم. همچنین، پژوهش حاضر بدون هیچگونه حمایت مالی انجام گرفته است.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

حامی مالی: ندارد.

میتوکندری کبد را معکوس کند و احتمالاً منجر به کاهش اختلال میتوکندری کبد و محتوی چربی کبد شود. همچنین، به نظر می‌رسد، تمرین HIIT مستقل از شرایط هایپوکسی توانسته است، $PGC-1\alpha$ را افزایش دهد. در حالی که، هایپوکسی با افزایش معنی‌دار بیان ژن Tfam که در بهبود ظرفیت عملکرد میتوکندری نقش دارد، منجر به کاهش بیشتر محتوی چربی کبدی نسبت به شرایط نورموکسی شد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از طرح رساله دکتری تخصصی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه

منابع

- Ahmadi A, Sheikholeslami-Vatani D, Ghaeni S, Baazm M. (۲۰۲۱). The effects of different training modalities on monocarboxylate transporters $mct1$ and $mct4$, hypoxia inducible factor- 1α ($hif-1\alpha$), and $pgc-1\alpha$ gene expression in rat skeletal muscles. *Mol Biol Rep.* ۴۸(۳):۶۱-۲۱۵۳
- Akimoto T, Sorg BS, Yan Z. (۲۰۰۴). Real-time imaging of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator- 1α promoter activity in skeletal muscles of living mice. *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* ۲۸۷(۳):C۷۹۰-C۶
- Aryapour E, Kietzmann T. (۲۰۲۲). Mitochondria, mitophagy, and the role of deubiquitinases as novel therapeutic targets in liver pathology. *J Cell Biochem.* ۱۲۳(۱۰):۴۶-۱۶۳۴

4. Ascensão A, Martins MJ, Santos-Alves E, Gonçalves IO, Portincasa P, Oliveira PJ, et al. (۲۰۱۳). Modulation of hepatic redox status and mitochondrial metabolism by exercise: Therapeutic strategy for liver diseases. *Mitochondrion*. ۱۳(۶):۷۰-۸۶۲
5. Axen KV, Dikeakos A, Sclafani A. (۲۰۰۳). High dietary fat promotes syndrome x in nonobese rats. *The Journal of nutrition*. ۱۳۳(۷):۹-۲۲۴۴
6. Bishop DJ, Granata C, Eynon N. (۲۰۱۴). Can we optimise the exercise training prescription to maximise improvements in mitochondria function and content? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. ۱۸۴۰(۴):۷۵-۱۲۶۶
7. Burgess SC, He T, Yan Z, Lindner J, Sherry AD, Malloy CR, et al. (۲۰۰۷). Cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase does not solely control the rate of hepatic gluconeogenesis in the intact mouse liver. *Cell metabolism*. ۵(۴):۲۰-۳۱۳
8. Carabelli J, Burgueño AL, Rosselli MS, Gianotti TF, Lago NR, Pirola CJ, et al. (۲۰۱۱). High fat diet-induced liver steatosis promotes an increase in liver mitochondrial biogenesis in response to hypoxia. *J Cell Mol Med*. ۱۵(۶):۳۸-۱۳۲۹
9. Chen D, Li X, Zhang L, Zhu M, Gao L. (۲۰۱۸). A high-fat diet impairs mitochondrial biogenesis, mitochondrial dynamics, and the respiratory chain complex in rat myocardial tissues. *J Cell Biochem*. ۱۱۹(۱۱):-۹۶۰۲
10. Chen M, Chen Z, Wang Y, Tan Z, Zhu C, Li Y, et al. (۲۰۱۶). Mitophagy receptor fundc ۱ regulates mitochondrial dynamics and mitophagy. *Autophagy*. ۱۲(۴):۷۰۲-۶۸۹
11. Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. (۲۰۱۱). Human fatty liver disease: Old questions and new insights. *Science*. ۳۳۲(۶۰۳۷):۲۳-۱۵۱۹
12. Çolak R, Ağaşcıoğlu E, Çakatay U. (۲۰۲۱). "Live high train low" hypoxic training enhances exercise performance with efficient redox homeostasis in rats' soleus muscle. *High Alt Med Biol*. ۲۲(۱):۸۶-۷۷
13. Costa LE, Boveris A, Koch OR, Taquini AC. (۱۹۸۸). Liver and heart mitochondria in rats submitted to chronic hypobaric hypoxia. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. ۲۵۵(۱):C۱۲۳-C۹
14. Fernandes MSdS, Silva LdLdSe, Kubrusly MS, Lima TRLDa, Muller CR, Américo ALV, et al. (۲۰۲۰). Aerobic exercise training exerts beneficial effects upon

oxidative metabolism and non-enzymatic antioxidant defense in the liver of leptin deficiency mice. *Front Endocrinol (Lausanne)*. ۱۱:۵۸۸۵۰۲

15. Flores K, Siques P, Brito J, Ordenes S, Arriaza K, Pena E, et al. (۲۰۲۰). Lower body weight in rats under hypobaric hypoxia exposure would lead to reduced right ventricular hypertrophy and increased ampk activation. *Front Physiol*. ۱۱:۳۴۲

16. Gauthier M-S, Favier R, Lavoie J-M. (۲۰۰۶). Time course of the development of non-alcoholic hepatic steatosis in response to high-fat diet-induced obesity in rats. *Br J Nutr*. ۹۵(۲):۸۱-۲۷۳

17. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. (۲۰۱۲). Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of physiology*. ۵۹۰(۵):۸۴-۱۰۷۷

18. Granata C, Jamnick NA, Bishop DJ. (۲۰۱۸). Principles of exercise prescription, and how they influence exercise-induced changes of transcription factors and other regulators of mitochondrial biogenesis. *Sports Med*. ۴۸(۷):۵۹-۱۵۴۱

19. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. (۲۰۱۶). Mitochondrial adaptations to high-volume exercise training are rapidly reversed after a reduction in training volume in human skeletal muscle. *The FASEB journal*. ۳۰(۱۰):۲۳-۳۴۱۳

20. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. (۲۰۱۷). Sprint-interval but not continuous exercise increases pgc-1 α protein content and p ۵۳phosphorylation in nuclear fractions of human skeletal muscle. *Sci Rep*. ۷(۱):۴۴۲۲۷

21. Holloszy JO. (۱۹۶۷). Biochemical adaptations in muscle: Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem*. ۲۴۲(۹):۸۲-۲۲۷۸

22. Hosseini SM, Mohebbi H, Ghafoori H, Rezadoost MH. (۲۰۲۳). The effect of hypoxia and normoxia training on autophagy in male rats hepatocytes with a high-fat diet. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. (Articles in Press).

23. Ito M, Suzuki J, Tsujioka S, Sasaki M, Gomori A, Shirakura T, et al. (۲۰۰۷). Longitudinal analysis of murine steatohepatitis model induced by chronic exposure to high-fat diet. *Hepatology Research*. ۳۷(۱):۷-۵۰

24. Jendzjowsky NG, DeLorey DS. (۲۰۱۱). A prospective evaluation of non-interval-and interval-based exercise training progressions in rodents. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. ۳۶(۵):۹-۷۲۳



25. Jornayvaz FR, Shulman GI. (۲۰۱۰). Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays Biochem.* ۸۴-۴۷:۶۹
26. Kyriazis ID, Vassi E, Alvanou M, Angelakis C, Skaperda Z, Tekos F, et al. (۲۰۲۲). The impact of diet upon mitochondrial physiology. *Int J Mol Med.* ۵۰(۵):۲۶-۱
27. Larson-Casey JL, He C, Carter AB. (۲۰۲۰). Mitochondrial quality control in pulmonary fibrosis. *Redox biology.* ۳۳:۱۰۱۴۲۶
28. Li R, Toan S, Zhou H. (۲۰۲۰). Role of mitochondrial quality control in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Aging (Albany NY).* ۱۲(۷):۶۴۶۷
29. Little JP, Safdar A, Benton CR, Wright DC. (۲۰۱۱). Skeletal muscle and beyond: The role of exercise as a mediator of systemic mitochondrial biogenesis. *Applied physiology, nutrition, and metabolism.* ۳۶(۵):۶۰۷-۵۹۸
30. Luo Y, Lu G, Chen Y, Liu F, Xu G, Yin J, et al. (۲۰۱۳). Long-term cycles of hypoxia and normoxia increase the contents of liver mitochondrial DNA in rats. *Eur J Appl Physiol.* ۳۲-۱۱۳:۲۲۳
31. Luo Y, Lu G, Chen Y, Liu F, Xu G, Yin J, et al. (۲۰۱۳). Long-term cycles of hypoxia and normoxia increase the contents of liver mitochondrial DNA in rats. *Eur J Appl Physiol.* ۱۱۳(۱):۲۲-۲۲۳
32. Maiti P, Muthuraju S, Ilavazhagan G, Singh SB. (۲۰۰۸). Hypobaric hypoxia induces dendritic plasticity in cortical and hippocampal pyramidal neurons in rat brain. *Behav Brain Res.* ۱۸۹(۲):۴۳-۲۳۳
33. Marquis-Gravel G, Hayami D, Juneau M, Nigam A, Guilbeault V, Latour É, et al. (۲۰۱۵). Intensive lifestyle intervention including high-intensity interval training program improves insulin resistance and fasting plasma glucose in obese patients. *Preventive medicine reports.* ۸-۲:۳۱۴
34. Martin D, Windsor J. (۲۰۰۸). From mountain to bedside: Understanding the clinical relevance of human acclimatisation to high-altitude hypoxia. *Postgrad Med J.* ۸۴(۹۹۸):۷-۶۲۲
35. Morris EM, Meers GM, Booth FW, Fritsche KL, Hardin CD, Thyfault JP, et al. (۲۰۱۲). Pgc-1 α overexpression results in increased hepatic fatty acid oxidation with reduced triacylglycerol accumulation and secretion. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.* ۳۰۳(۸):G۹۷۹-G.۹۲



36. Murray CJ, Barber RM, Foreman KJ, Ozgoren AA, Abd-Allah F, Abera SF, et al. (۲۰۱۵). Global, regional, and national disability-adjusted life years (dalys) for ۳۰۶ diseases and injuries and healthy life expectancy (hale) for ۱۸۸ countries, ۱۹۹۰-۲۰۱۳: Quantifying the epidemiological transition. *The Lancet*. ۳۸۶(۱۰۰۰۹):۹۱-۲۱۴۵
37. Muscella A, Stefàno E, Lunetti P, Capobianco L, Marsigliante S. (۲۰۲۰). The regulation of fat metabolism during aerobic exercise. *Biomolecules*. ۱۰(۱۲):۱۶۹۹
38. Oh S, So R, Shida T, Matsuo T, Kim B, Akiyama K, et al. (۲۰۱۷). High-intensity aerobic exercise improves both hepatic fat content and stiffness in sedentary obese men with nonalcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*. ۷(۱):۴۳۰۲۹
39. Perumpail BJ, Khan MA, Yoo ER, Cholankeril G, Kim D, Ahmed A. (۲۰۱۷). Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. ۸۲۶۳:(۴۷)۲۳
40. Pino-de la Fuente F, Quezada L, Sepúlveda C, Monsalves-Alvarez M, Rodríguez JM, Sacristan C, et al. (۲۰۱۹). Exercise regulates lipid droplet dynamics in normal and fatty liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. ۱۸۶۴(۱۲):۱۵۸۵۱۹
41. Pirola CJ, Gianotti TF, Burgueño AL, Rey-Funes M, Loidl CF, Mallardi P, et al. (۲۰۱۳). Epigenetic modification of liver mitochondrial DNA is associated with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Gut*. ۶۳-۱۳۵۶:(۹)۶۲
42. Postic C, Girard J. (۲۰۰۸). Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: Lessons from genetically engineered mice. *The Journal of clinical investigation*. ۱۱۸(۳):۳۸-۸۲۹
43. Rabøl R, Petersen KF, Dufour S, Flannery C, Shulman GI. (۲۰۱۱). Reversal of muscle insulin resistance with exercise reduces postprandial hepatic de novo lipogenesis in insulin resistant individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. ۱۰۸(۳۳):۹-۱۳۷۰۵
44. Ramanathan R, Ali AH, Ibdah JA. (۲۰۲۲). Mitochondrial dysfunction plays central role in nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*. ۲۳(۱۳):۷۲۸۰
45. Rector RS, Thyfault JP, Uptergrove GM, Morris EM, Naples SP, Borengasser SJ, et al. (۲۰۱۰). Mitochondrial dysfunction precedes insulin resistance and hepatic steatosis and contributes to the natural history of non-alcoholic fatty liver disease in an obese rodent model. *J Hepatol*. ۵۲(۵):۳۶-۷۲۷

46. Roberts FL, Markby GR. (۲۰۲۱). New insights into molecular mechanisms mediating adaptation to exercise; a review focusing on mitochondrial biogenesis, mitochondrial function, mitophagy and autophagy. *Cells*. ۱۰(۱۰):۲۶۳۹
47. SaiRam M, Sharma S, Dipti P, Pauline T, Kain A, Mongia S, et al. (۱۹۹۸). Effect of hypobaric hypoxia on immune function in albino rats. *Int J Biometeorol*. ۴۲(۱):۹-۵۵
48. Santos-Alves E, Marques-Aleixo I, Rizo-Roca D, Torrella J, Oliveira P, Magalhães J, et al. (۲۰۱۵). Exercise modulates liver cellular and mitochondrial proteins related to quality control signaling. *Life Sci*. ۳۰-۱۳۵:۱۲۴
49. Satia-Abouta J, Patterson RE, Schiller RN, Kristal AR. (۲۰۰۲). Energy from fat is associated with obesity in us men: Results from the prostate cancer prevention trial. *Prev Med*. ۳۴(۵):۵۰۱-۴۹۳
50. Semenza GL. (۱۹۹۸). Hypoxia-inducible factor ۱: Master regulator of o₂ homeostasis. *Curr Opin Genet Dev*. ۸(۵):۹۴-۵۸۸
51. Sini ZK, Afzalpour ME, Ahmadi MM, Sardar MA, Khaleghzadeh H, Gorgani-Firuzjaee S, et al. (۲۰۲۲). Comparison of the effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on indices of liver and muscle tissue in high-fat diet-induced male rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Egyptian Liver Journal*. ۱۲(۱):۶۳
52. Song K, Zhang Y, Ga Q, Bai Z, Ge R-L. (۲۰۲۰). High-altitude chronic hypoxia ameliorates obesity-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice by regulating mitochondrial and ampk signaling. *Life Sci*. ۲۵۲:۱۱۷۶۳۳
53. Sparks LM, Xie H, Koza RA, Mynatt R, Hulver MW, Bray GA, et al. (۲۰۰۵). A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Diabetes*. ۵۴(۷):۳۳-۱۹۲۶
54. Takahashi H, Kotani K, Tanaka K, Egucih Y, Anzai K. (۲۰۱۸). Therapeutic approaches to nonalcoholic fatty liver disease: Exercise intervention and related mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)*. ۵۸۸
55. Tiranti V, Rossi E, Ruiz-Carrillo A, Rossi G, Rocchi M, Didonato S, et al. (۱۹۹۵). Chromosomal localization of mitochondrial transcription factor a (tcf۶), single-stranded DNA-binding protein (ssbp), and endonuclease g (endog), three human housekeeping genes involved in mitochondrial biogenesis. *Genomics*. ۲۵(۲):۶۴-۵۵۹

56. Tsilingiris D, Tzeravini E, Koliaki C, Dalamaga M, Kokkinos A. (۲۰۲۱) The role of mitochondrial adaptation and metabolic flexibility in the pathophysiology of obesity and insulin resistance: An updated overview. *Current Obesity Reports*. ۲۳-۱
57. Tsilingiris D, Tzeravini E, Koliaki C, Dalamaga M, Kokkinos A. (۲۰۲۱). The role of mitochondrial adaptation and metabolic flexibility in the pathophysiology of obesity and insulin resistance: An updated overview. *Current Obesity Reports*. ۲۳-۱
58. Undamatla R, Fagunloye O, Chen J, Edmunds L, Murali A, Mills A, et al. (۲۰۲۳). Reduced mitophagy is an early feature of nafld and liver-specific parkin knockout hastens the onset of steatosis, inflammation and fibrosis. *Sci Rep*. ۱۳(۱):.۷۵۷۵
59. Virbasius JV, Scarpulla RC. (۱۹۹۴). Activation of the human mitochondrial transcription factor a gene by nuclear respiratory factors: A potential regulatory link between nuclear and mitochondrial gene expression in organelle biogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. ۹۱(۴):.۱۳-۱۳۰۹
60. Wu F-F, Zhang K-L, Wang Z-M, Yang Y, Li S-H, Wang J-Q, et al. (۲۰۲۱). Benefit of a single simulated hypobaric hypoxia in healthy mice performance and analysis of mitochondria-related gene changes. *Sci Rep*. ۱۱(۱):.۱۸-۱
61. Younossi Z, Tacke F, Arrese M, Chander Sharma B, Mostafa I, Bugianesi E, et al. (۲۰۱۹). Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. ۶۹(۶):.۸۲-۲۶۷۲
62. Zeng C, Chen M. (۲۰۲۲). Progress in nonalcoholic fatty liver disease: Sirt family regulates mitochondrial biogenesis. *Biomolecules*. ۱۲(۸):.۱۰۷۹
63. Zhang W, Wang J, Wang L, Shi R, Chu C, Shi Z, et al. (۲۰۲۲). Alternate-day fasting prevents non-alcoholic fatty liver disease and working memory impairment in diet-induced obese mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. ۱۱۰:۱۰۹۱۴۶
64. Zheng Y, Wang S, Wu J, Wang Y. (۲۰۲۳). Mitochondrial metabolic dysfunction and non-alcoholic fatty liver disease: New insights from pathogenic mechanisms to clinically targeted therapy. *J Transl Med*. ۲۱(۱):.۵۱۰



Metabolism and Exercise
A biannual journal

Vol 14, Number 2, 2024



Twelve weeks high intensity interval training independently of hypoxia induced hepatic mitochondria biogenesis in male rats under high fat diet

Faeghe Ghasemi¹, Hamid Mohebbi^{1*}

Received: 10/12/2023

Accepted: 09/02/2024

Published: 15/03/2025

Abstract

Introduction: Consuming a high-fat diet leads to disruption of liver mitochondrial biogenesis. Training exercise and hypoxia, which are new preventive or therapeutic strategies for obesity-induced Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), may improve the impaired mitochondrial function. The aim of this study was to determine the effect of nutrition, training and hypoxia on liver mitochondrial biogenesis in male Wistar rats. **Methods:** Thirty-two male rats (age: 6 weeks old; average weight: 167.25 grams) were randomly divided into four groups of eight including normal diet (ND), high-fat diet (HFD), high-fat diet and training in normoxia (HFD-HIIT) and high-fat diet and training in hypoxia (HFD-HHIIT). After determining the maximum aerobic velocity (MAV) in normoxia and hypoxia-hypobaric, the HIIT protocol was performed for 12 weeks and three sessions per week, which included 3 to 8 bouts 4-minute activity with an intensity of 80 to 93 percent of MAV and 2-minute active rest periods with an intensity of 50 percent of MAV. At the end, the levels of PGC-1 α and Tfam genes were measured through RT-PCR and liver fat content was measured through Oil Red staining in liver tissue. **Results:** Both HFD-HIIT and HFD-HHIIT groups showed a significant increase in the expression of PGC-1 α and Tfam genes and a significant decrease in liver fat content compared to the HFD group ($p < 0.05$). However, the HFD-HHIIT group showed a significant increase in Tfam gene expression and a significant decrease in liver fat content compared to the HFD+HIIT group ($p < 0.05$). **Conclusions:** It seems that HIIT training has been able to increase PGC-1 α independent of hypoxia conditions. Whereas, hypoxia with a significant increase in the expression of the Tfam gene, which plays a role in improving the capacity of mitochondrial function, led to a greater decrease in liver fat content than in normoxia conditions.

Key words: High intensity interval training, Hypoxia, Mitochondrial biogenesis, NAFLD, High Fat Diet.

1. Exercise Physiology Department, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran) * **Corresponding author: mohebbi@guilan.ac.ir**

