Original Article

Effect of eight weeks of high-intensity intermittent training (HIIT) and low- intensity endurance training (LIET) with a high-fat diet on the expression of PPARα and PLIN5 of skeletal tissue in overweight male rats

Sadeghi S, Taghian F

Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 2021/12/13 | Accepted: 2022/07/30

Abstract:

Background: Obesity is a metabolic disorder in which proteins involved in fat metabolism are altered. Because obesity is a growing disease among people living in today's societies, the purpose of this study was to compare the effects of 8 weeks of high-intensity intermittent training and low- intensity endurance training on PPARα and PLIN5 gene expression in skeletal muscle of overweight rats.

Materials and Methods: Forty male Wistar rats, 5 weeks old, weighing 148.4 ±22.8 g were randomly divided into four equal groups (n=10): control, LIET, HIIT which fed high fat diet, and sham group which fed standard diet. Forty-eight hours after the end of the training program (eight weeks of intense intermittent exercise or HIIT and continued low-intensity exercise or (LIET) the rat adipose tissue was isolated under sterile conditions. Finally, expression levels of PPARα and PLIN5 of skeletal tissue were measured by the Real-time PCR method.

Results: The data indicated that the expression level of the PPARα and PLIN5 was significantly increased in HIIT and LIET groups compared to the control group (P= 0.001).

Conclusion: HIIT and LIET exercises increased the expression of the PLINS gene in skeletal muscle by increasing the expression of the PPARα gene in lipid droplets of skeletal muscle.

Keywords: High-intensity intermittent exercise, Low-intensity exercise, Peroxisome alpha proliferator active receptor, PLIN5

***Corresponding Author**
Email: f_taghian@yahoo.com
Tel: 0098 913 308 0241
Fax: 0098 313 500 2353

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, September, 2022; Vol. 26, No 4, Pages 407-415

Please cite this article as: Sadeghi S, Taghian F. Effect of eight weeks of high-intensity intermittent training (HIIT) and low- intensity endurance training (LIET) with a high-fat diet on the expression of PPARα and PLIN5 of skeletal tissue in overweight male rats. ***Feyz*** 2022; 26(4): 407-15.

مقایسه تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین استقامتی کم‌شدت (LIET) به‌همراه رژیم پرچرب بر میزان بیان ژن PPARα و PLIN5 عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر چاق

سمیرا صادقی[۱]، فرزانه تقیان[۲*]

خلاصه:

سابقه و هدف: چاقی اختلالی متابولیک با درگیری پروتئین‌های مؤثر در متابولیسم چربی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، مقایسه اثرات ۸ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تمرین استقامتی کم‌شدت (LIET) بر میزان بیان ژن‌های PPARα و PLIN5 عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر دارای اضافه‌وزن بود.

مواد و روش‌ها: ۴۰ سر رت نر ویستار ۵هفته‌ای با وزن ۲/۸±۱۵۵/۴ گرم به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. گروه کنترل، HIIT و LIET غذای پرچرب و گروه شم غذای استاندارد به‌مدت ۱۶ هفته مصرف کردند. تمرینات گروه HIIT شامل دو دقیقه با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه بود که به‌صورت تدریجی تا ۹۰ درصد سرعت بیشینه در هفته چهارم ادامه می‌یابد. فعالیت با شدت پایین شامل دو دقیقه با شدت ۳۰ درصد از هفته اوّل تا هفته سوم و ۲۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته چهارم تا انتهای دوره بود. تمرین گروه LIET (شامل سه قسمت گرم کردن با ۳۰ درصد سرعت بیشینه به‌مدت ۵ دقیقه، تمرین اصلی و سرد کردن با ۳۰ درصد سرعت بیشینه به‌مدت ۵ دقیقه) بود. در پایان، میزان بیان ژن‌های PPARα و PLIN5 عضله اسکلتی به‌روش Real-time pcr اندازه‌گیری شد.

نتایج: یافته‌ها نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار بیان ژن PPARα و PLIN5 در گروه‌های HIIT و LIET نسبت به گروه کنترل بوده است (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: تمرینات HIIT و LIET با افزایش بیان ژن PPARα عضله اسکلتی باعث افزایش بیان ژن PLIN5 قطرات چربی بافت عضلانی می‌شود.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی شدید، تمرین استقامتی کم‌شدت، PPARα، PLIN5

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۴، مهر - آبان ۱۴۰۱، صفحات ۴۱۵-۴۰۷

مقدمه

چاقی ذخیره بیش از حدّ انرژی به‌صورت چربی بوده، یک مشکل جدّی پزشکی، اجتماعی و اقتصادی می‌باشد. شیوع چاقی در جهان از سال ۱۹۷۵ به بعد تقریباً سه برابر شده است [۱]. در سال ۲۰۱۶، ۳۹ درصد از بزرگسالان ۱۸ سال و بالاتر، اضافه‌وزن داشتند و ۱۳ درصد از آن‌ها چاق بودند [۲]. همچنین مشخص شده است که میزان شیوع چاقی در ایران حدود ۴۳/۳ درصد در سال ۲۰۲۰ افزایش یافته است [۳]. تری‌گلیسیریدهای درون‌عضلانی (IMTG) Intera Muscle Triglyceride یکی از مهم‌ترین سوخت‌های درون عضله است. ذخیره‌سازی بالای IMTG در افراد تمرین‌کرده و ورزشکار استقامتی یک سازگاری فیزیولوژیک است، اما در افراد چاق چنین هماهنگی وجود ندارد [۴]. قطرات چربی توسط پروتئین‌های خاص، شامل پروتئین‌های خانواده PAT family proteins (PAT) پوشیده شده است. پری‌لیپین Perilipin (PLIN) یکی از این PAT پروتئین‌ها است که یک مارکر تمایز آدیپوسیت نیز محسوب می‌شود؛ بنابراین می‌توان از آن به‌عنوان یک ژن گزارشگر برای شناسایی تنظیم‌کننده‌های آدیپوژنز نیز استفاده کرد [۵]. مطالعات نشان داده‌اند که میزان بیان PLIN5 بر اندازه قطره چربی تأثیرگذار است [۶]. نشان داده شده است که PLIN5 در بافت‌هایی که میزان زیادی از اکسیداسیون چربی را دارند؛ مانند عضلات اسکلتی، قلب و کبد، بیشتر بیان می‌شود. بر این اساس، PLIN5 با تعامل با گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم (PPARs) Peroxisome Proliferator-activated Receptors میزان اکسیداسیون اسیدهای چرب را بالا می‌برند. PPARs یکی از اعضای بالادستی خانواده گیرنده هسته‌ای است که سه ایزوتایپ مختلف آن‌ها شامل: PPARα، PPAR γ و PPARβ/δ در پستانداران وجود دارد و نقش تنظیمی مهمّی در متابولیسم چربی

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲. دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**

اصفهان، ارغوانیه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان) ، دانشکده علوم ورزشی

تلفن: ۰۹۱۳۳۰۸۰۲۴۱ **دورنویس:** ۰۳۱۳۵۰۰۲۳۵۳

پست الکترونیک: f_taghian@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۱/۵/۸

دارند [۷]. به‌نظر می‌رسد میزان پروکسی‌زوم‌ها و به‌تبع آن پروتئین‌های مرتبط با قطره چربی در افراد دارای اضافه‌وزن به‌خوبی تحت‌تأثیر تغییر سبک زندگی افراد قرار می‌گیرد. اعتقاد بر این است که شدت تمرین، تعیین‌کننده ظرفیت اکسیداتیو بسیاری از بافت‌ها ازجمله بافت عضلانی است [۸]. گزارش شده است که حداقل شدت تمرینی برای تأثیرگذاری مطلوب بر لیپیدها، فعالیت بدنی با شدت ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب است [۹]. از این‌رو توجه به شدت و مدت ورزش (به‌عنوان مهم‌ترین متغیرهای تمرینی) در رهایش اسیدهای چرب به‌عنوان یکی از عوامل فعال‌کننده PPARα می‌تواند توجه به تمرین در شدت‌های مختلف را توجیه کند. پروتکل‌های تمرینی تناوبی شدید (HIIT) high intensity intermittent exercise موجب بهبود هموستاز گلوکز کلّ بدن از طریق افزایش حساسیت به انسولین در کبد و آدیپوز موش‌هایی شد که از یک رژیم پرچرب استفاده می‌کردند [۶،۱۰،۱۱]. توجه به ماهیت و نوع فعالیت بدنی و استفاده از متغیرهای گوناگون تمرینی می‌تواند یکی از چالش‌های اساسی در بین راهکارهای درمانی باشد. در برخی تحقیقات نشان داده شده است که در تمرینات HIIT میزان تری‌گلیسیرید درون‌عضلانی (IMTG) بیشتری مصرف می‌گردد و پس از ورزش میزان بیشتری IMTG ذخیره می‌شود [۱۲]. Solomon و همکاران (۲۰۰۸) با تمرینات استقامتی با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، Machann و همکاران (۲۰۱۰) با تمرینات استقامتی با شدت متوسط، کاهش تری‌گلیسیرید درون‌عضلانی را به‌دنبال فعالیت ورزشی نشان دادند [۱۳،۱۴]. مطالعه Dubé و همکاران (۲۰۰۸ و ۲۰۱۱) با شدت متوسط، Lee و همکاران (۲۰۱۲) با شدت ۷۵-۶۰ درصد VO2peak بود [۱۷-۱۵]. علیرغم پژوهش‌های پراکنده‌ای که تاکنون در این حیطه انجام شده، خلأ پژوهشی که در آن به بررسی و یا مقایسه تأثیر تمرین استقامتی کم‌شدت (LIET) Low intensity endurance training و تمرینات اینتروال شدید (HIIT) بر میزان بیان ژن‌های PPARα و PLIN5 در عضلات افراد چاق بپردازد، احساس می‌شود. از سویی پروتکل‌های تمرینی با توجه به میزان شدت، تکرار و مدت تأثیرات متفاوتی بر روی تری‌گلیسیرید درون‌عضلانی داشته است و براساس مطالعات انجام‌شده بیان ژن‌های PLIN5 و PPARα نقش بسیار مهمّی بر میزان تری‌گلیسیرید درون‌عضلانی و نقش تنظیمی مهمّی در متابولیسم چربی دارد. بنابراین، با توجه به مطالب فوق و تبیین نسبی نقش گیرنده هسته‌ای پروکسی‌زوم آلفا و پروتئین پری‌لیپین ۵ مرتبط با قطره چربی و همچنین نقش تمرینات ورزشی بر میزان بیان ژن این پروتئین‌ها این پژوهش به بررسی تأثیر یک دوره تمرینات استقامتی کم‌شدت (LIET) و تمرینات متناوب شدید (HIIT) بر میزان بیان ژن‌های PLIN5 و PPARα در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر دارای اضافه‌وزن پرداخت.

مواد و روش‌ها

تمام مراحل آزمایش توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان با کد اخلاقی IR.IAU.KHUISF.REC.1397.199 تأیید شد. در این پژوهش تجربی از ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار در سنّ ۵هفتگی با میانگین وزنی ۲۲/۸±۱۴۸/۴ گرم که از مؤسسه زیست‌فناوری رویان تهیه شده بودند، استفاده شد. حیوانات در قفس‌های پلی‌کربناتی تیپ ۳ به‌صورت ۵تایی و با دسترسی آزاد به غذای استاندارد و آب و در یک شرایط عاری از بیماری نگهداری شدند. شرایط نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان و در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد و با رطوبت ٪۵۰ و شرایط ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی بود که شروع چرخه آن در ساعت ۸ در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۱ هفته (جهت تطابق با محیط)، رت‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه ۱۰تایی تقسیم شدند: ۱) شم با رژیم غذایی نرمال که ترکیبات رژیم غذایی شامل ۱۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین، ۲) کنترل با رژیم غذایی پرچرب حاوی ۶۰ درصد چربی که ترکیبات رژیم غذایی شامل ۵۰ درصد چربی فرآوری‌شده حیوانی و ۱۰ درصد روغن دانه سویا، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین، ۳) رژیم غذایی پرچرب + تمرینات کم‌شدت (LIET) و ۴) رژیم غذایی پرچرب + تمرینات اینتروال با شدت بالا (HIIT). این شرایط به‌مدت ۱۶ هفته ادامه پیدا کرد. در ادامه پژوهش، اگرچه همه گروه‌ها به جز گروه شم همچنان غذای پرچرب را مصرف می‌کردند، ولی تنها دو گروه تجربی LIET و HIIT در پروتکل‌های تمرینی ویژه خود به‌مدت ۵ روز هفته و برای ۸ هفته شرکت کردند. گفتنی است گروه کنترل در این مدت علیرغم مصرف غذای پر چرب در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکرد (جدول شماره ۱).

پروتکل‌های تمرینات شدید متناوب و استقامتی کم‌شدت

تمرین شامل دویدن حیوانات بر روی تردمیل جوندگان بود. قبل از شروع پروتکل تمرینی، حیوانات تحت یک دوره آشناسازی یک‌هفته‌ای با تردمیل قرار گرفتند [۱۸]. در طی این دوره حیوانات روزی یک‌بار به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه بر روی تردمیل با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه دویدند. تمرین HIIT شامل وهله‌های شدید و کم‌شدت بود که به‌ترتیب شامل دو دقیقه با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اوّل، ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته سوم، ۹۰ درصد سرعت بیشینه در هفته چهارم تا پایان تمرین است. فعالیت با شدت پایین شامل دو

دقیقه با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اوّل تا پایان هفته سوم و ۲۰ درصد سرعت بیشینه از ابتدای هفته چهارم تا انتهای دوره تمرینات بود. پروتکل تمرینی گروه LIET نیز مطابق با مسافت طی‌شده در گروه HIIT در هر هفته و براساس ۴۵ درصد حداکثر سرعت بیشینه طراحی شد [۱۹،۱۸]. پروتکل تمرین LIET شامل سه قسمت گرم کردن (۳۰ درصد سرعت بیشینه و مدت ۵ دقیقه)، تمرین اصلی و سرد کردن (۳۰ درصد سرعت بیشینه و مدت ۵ دقیقه) بود. مطابق این پروتکل، گروه LIET در هر جلسه با سرعت ثابت ۱۸ متر در دقیقه می‌دویدند که در هفته اوّل ۱۸، هفته دوم ۳۰، هفته سوم ۳۶ و از هفته چهارم به بعد ۴۵ دقیقه این مسافت را طی می‌کردند (جدول شماره ۱) [۲۰،۱۸]. گفتنی است گروه کنترل در این مدت علیرغم مصرف غذای پرچرب در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکرد.

استخراج بافت

پس از دوره ۸ هفته تمرین، رت‌های تمامی گروه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین (به‌جهت ازبین‌رفتن اثرات حادّ تمرین) و پس از ۱۶ ساعت ناشتایی کلیه حیوانات با تزریق سدیم پنتوباربیتال (۴۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) بیهوش شدند و پس از استخراج عضله دوقلو و شستشوی آن با سالین، بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان انجام مراحل آزمایشگاهی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید [۲۱].

استخراج RNA و سنتز cDNA

به‌منظور استخراج RNA، از کیت استخراج ایرایزول RNA، ساخت شرکت زیست فن‌آوران رنا و طبق دستورالعمل کیت و بدین‌صورت استفاده شد که میزان ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم از بافت عضله فریزشده رت به هاون استریل منتقل گردید و به‌همراه ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج ساییده شد تا به شکل محلول همگن درآید و تا مرحله نهایی و تهیه RNA خالص ادامه پیدا کرد. با استفاده از دستگاه نانودراپ نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ برای نمونه‌های استخراج‌شده سنجیده شد که همگی بین ۲ - ۱/۸ بودند و بیانگر کیفیت و خلوص RNA استخراج شده بود. سنتز cDNA با استفاده از ۵ میکروگرم از RNA استخراج گردید و با استفاده از دستورالعمل کیت سنتز cDNA زیست‌فناوران رنا انجام شد.

واکنش REAL TIME PCR

به جهت ارزیابی کمّی بیان ژن‌های PLIN5 و PPARα واکنش Real Time PCR بر روی cDNAهای سنتزشده طبق شرایط مندرج در جدول شماره ۲ و دمای پیشنهادی شرکت سازنده پرایمر زیست‌فناوران رنا انجام گردید. برای انجام quantitative Real Time PCR از دستگاه ترمال سایکلر Step one و مسترمیکس زیست‌فناوران رنا استفاده شد. ژن (TBP) TATA-Box Binding Protein، به‌عنوان کنترل سنتز cDNA در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز نتایج برای تعیین تغییرات در بیان mRNA با روش ۲ به توان منفی دلتا دلتا سی‌تی ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) انجام شد. پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش از شرکت زیست‌فناوران رنا تهیه گردیدند. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۳ آمده است.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۵ و آزمون شاپیروویلکز برای بررسی توزیع داده‌ها استفاده گردید. تحلیل داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون تعقیبی Tukey محاسبه شد. علاوه‌براین، در سطح آمار توصیفی نتایج به‌صورت میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد (SD) نشان داده شده است. گفتنی است $P<۰/۰۵$ به‌عنوان معنادار تلقی شد.

نتایج

اطلاعات توصیفی مربوط به وزن و شاخص توده بدنی رت‌های صحرایی نر در جدول شماره ۴ ارائه شده است. یافته‌های جدول شماره ۴ نشان می‌دهد که پس از مرحله اوّل (۱۶ هفته)، میانگین وزن سه گروه کنترل، LIET و HIIT به‌طور معناداری بیشتر از گروه شم بوده است ($P<۰/۰۵$) و بنابراین رژیم غذایی پرچرب باعث بروز چاقی شده است. همچنین پس از مرحله دوم (۸ هفته)، میانگین وزن گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل و گروه HIIT نسبت به گروه LIET به‌طور معناداری کمتر بوده است ($P<۰/۰۵$).

تأثیر پروتکل‌های تمرینی بر میزان بیان ژن PPARα عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان بیان ژن PPARα عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر دارای اضافه‌وزن در گروه‌های مورد مطالعه بعد از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تداومی کم‌شدت (LIET) به همراه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری وجود دارد ($P=۰/۰۰۰۱$). براساس آن‌چه از یافته‌های پژوهش حاضر برآمد، چنین به‌نظر می‌رسد که تمرین LIET و HIIT هر دو باعث افزایش بیان PPARα در بافت عضلانی رت‌های دارای اضافه‌وزن و چاق شده است (نمودار شماره ۱، جدول شماره ۵).

تأثیر پروتکل‌های تمرینی بر میزان بیان ژن PLIN5 عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که میزان بیان ژن

PLIN5 در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نر دارای اضافه‌وزن در گروه‌های مورد مطالعه بعد از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و تداومی کم‌شدت (LIET) به‌همراه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری وجود دارد. براساس آن‌چه از یافته‌های پژوهش حاضر برآمد، چنین به‌نظر می‌رسد که تمرین LIET و HIIT هر دو باعث افزایش بیان PLIN5 در بافت عضلانی رت‌های دارای اضافه‌وزن و چاق شده است (نمودار شماره ۲، جدول شماره ۵).

جدول شماره ۱- برنامه تمرین HIIT و LIET

هفته	گروه	شدت هنگام تمرین (حداکثر سرعت)	شدت هنگام استراحت (حداکثر سرعت)	سرعت (متر / دقیقه)	تعداد وهله‌های تمرین شدید	کلّ تمرین (دقیقه)	حجم کلّ مسافت طی‌شده در هر جلسه (متر)
۱	HIIT	٪ ۷۵	٪۳۰	۳۰	۲	-	۲۴۶
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۱۷	۲۴۶
۲	HIIT	٪ ۸۰	٪۳۰	۳۲	۴	-	۴۴۵
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۲۸	۴۴۵
۳	HIIT	٪ ۸۵	٪۳۰	۳۴	۶	-	۵۸۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۳۶	۵۸۸
۴	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
۴	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۵	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۶	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۷	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸
۸	HIIT	٪ ۹۰	٪۲۰	۳۶	۸	-	۷۴۸
	LIET	٪ ۴۵	-	۱۸	-	۴۵	۷۴۸

جدول شماره ۲- مراحل و دمای بهینه برای تکثیر ژن‌های مورد مطالعه، ژن TBP به‌عنوان کنترل سنتز cDNA در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

مرحله	تعداد چرخه	نام مرحله	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان
۱	۱	واسرشت‌سازی اوّلیه	۹۵	۴ دقیقه
۲	۴۰	واسرشت‌سازی	۹۴	۳۵ ثانیه
		اتصال	۵۰	۳۰ ثانیه
		گسترش	۷۲	۳۰ ثانیه
۳	۱	گسترش نهایی	۷۲	۱۰ دقیقه

جدول شماره ۳- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در real time PCR و PCR

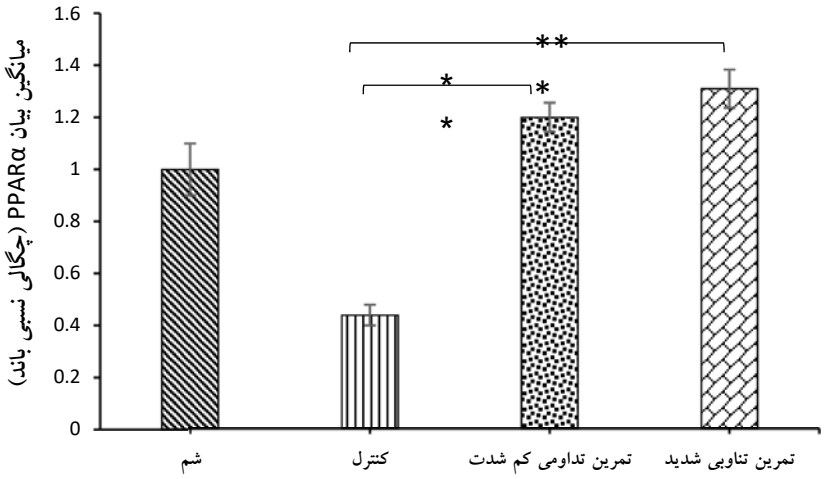
نام ژن	توالی پرایمر
PLIN5	F: TGT CCA GTG CTT ACA ACT CGG
	R: CAG GGC ACA GGT AGT CAC AC
PPARα	F: CCA GAG CAT GGT GCC TTC GCT
	R: CAG CAA CCA TTG GGT CAG CTC
TBP	F: TGTATCCACAGTGAATCTTGGTTG
	R: GGTTCGTGGCTCTCTTATCCTC

جدول شماره ۴- میانگین و انحراف استاندارد وزن و شاخص توده بدنی رت‌های نر در گروه‌های مختلف

	شروع (هفته اوّل)		مرحله اوّل (۱۶ هفته)		مرحله دوم (۸ هفته)	
گروه‌ها	وزن (gr)	شاخص توده بدنی (g/cm2)	وزن (gr)	شاخص توده بدنی (g/cm2)	وزن (gr)	شاخص توده بدنی (g/cm2)
شم	۱۵۶ ± ۳/۰۹	۰/۴۶ ± ۰/۰۷	۳۰۱,۴±۲,۹#	۰,۷۵±۰,۰۴#	۳۲۵±۲,۱	۰,۸۴±۰,۰۲
کنترل	۱۵۵ ± ۲/۲	۰/۵۰ ± ۰/۰۵	۴۲۰±۲,۶#	۱,۳۷±۰,۰۲#	۴۶۰±۵,۶&	۱,۴۷±۰,۰۱۲&
تمرین تداومی کم‌شدت	۱۵۶ ± ۱/۲	۰/۵۱ ± ۰/۰۹	۴۲۵,۷±۳,۱#	۱,۳۹±۰,۰۲۴#	۴۱۲±۴,۳&!	۰,۹۵±۰,۰۱۴&!
تمرین تناوبی شدید	۱۵۸ ± ۱/۵	۰/۴۶ ± ۰/۰۷	۴۲۲,۴±۱,۹۷#	۱,۳۶±۰,۰۱۹#	۳۹۲±۴,۲&!	۰,۳۶±۰,۰۱۹&!

- داده‌های داخل جدول به‌صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده است.

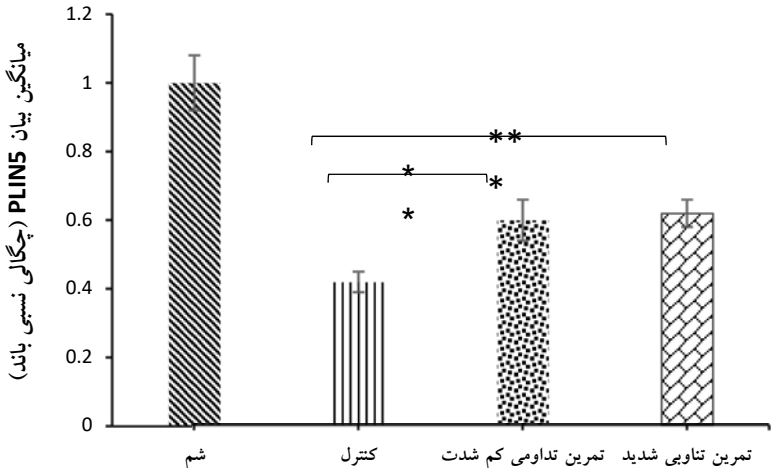
نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه شم و سایر گروه‌ها. & نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های تمرینی! نشانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین تداومی کم‌شدت و تمرین تناوبی شدید



نمودار شماره ۱- تغییرات میانگین بیان ژن PPARα بافت عضله اسکلتی رت‌های نر دارای اضافه‌وزن در گروه‌های مختلف

** بیانگر اختلاف معنادار میانگین تغییرات بیان ژن بین دو گروه تمرین تناوبی کم‌شدت و گروه کنترل ($P<۰/۰۵$)

*** بیانگر اختلاف معنادار میانگین تغییرات بیان ژن بین دو گروه تمرین تناوبی شدید و گروه کنترل ($P<۰/۰۵$)



نمودار شماره ۲- تغییرات میانگین بیان ژن PLIN5 بافت عضله اسکلتی رت‌های نر دارای اضافه‌وزن در گروه‌های مختلف

** بیانگر اختلاف معنادار میانگین تغییرات بیان ژن بین دو گروه تمرین تناوبی کم‌شدت و گروه کنترل ($P<۰/۰۵$)

*** بیانگر اختلاف معنادار میانگین تغییرات بیان ژن بین دو گروه تمرین تناوبی شدید و گروه کنترل ($P<۰/۰۵$)

جدول شماره ۵- تغییرات میانگین بیان ژن PPARα و PLIN5 PLIN5 بافت عضله اسکلتی رت‌های نر دارای اضافه‌وزن در گروه‌های مختلف

متغیر	گروه‌ها	تغییرات میانگین بیان ژن	P
PPARα	شم	۱±۰/۱	۰/۰۳
	کنترل	۰/۴۴±۰/۰۴	
	تمرین تداومی کم‌شدت	۱/۲±۰/۰۵۶	
	تمرین تناوبی شدید	۱/۳۱±۰/۰۷۴	
PLIN5	شم	۱±۰/۰۸	۰/۰۲
	کنترل	۰/۴۲±۰/۰۳	
	تمرین تداومی کم‌شدت	۰/۶±۰/۰۶	
	تمرین تناوبی شدید	۰/۶۲±۰/۰۴	

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان بیان PPARα در عضلات اسکلتی رت‌های گروه‌های تمرینی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($P<۰/۰۵$). با توجه به نتایج این پژوهش مشخص شد که میزان بیان PPARα می‌تواند تحت‌تأثیر نوع تمرین یا رژیم غذایی قرار بگیرد. با این‌حال به‌نظر می‌رسد میزان بیان کمتر PPARα در گروه LIET نسبت به گروه تمرینی HIIT به شدت و متغیرهای تمرینی متفاوت مرتبط است. بسیاری از ژن‌های هدف PPARα در متابولیسم اسیدهای چرب در بافت‌هایی با نرخ اکسیداتیو بالا مانند ماهیچه، قلب و کبد نقش دارند. PPARα یکی دیگر از عوامل کلیدی در تنظیم متابولیسم است. علاوه‌بر این، مشخص شده است که PPARهای فعال‌شده می‌توانند با تداخل منفی با فعالیت فاکتورهای رونویسی پیش‌التهابی، از جمله مبدل سیگنال و فعال‌کننده رونویسی (STAT)، پروتئین فعال‌کننده ۱ (AP-1) و فاکتور هسته‌ای κB- (NF-kB) را مهار کنند [۲۲]. هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر نشان داده شده است که اگونیست‌های PPARα باعث جلوگیری از بیماری‌های سندروم متابولیکی و همچنین کبد چرب در افراد چاق می‌شود [۲۴،۲۳]. نتایج این پژوهش به‌خوبی نشان داد که عضلات اسکلتی نسبت به بافت چربی و کبد نقش بسیار مهم‌تری در ایجاد یا بهبود مقاومت انسولینی کلّ بدن ایفا می‌کنند که عموماً این ارتباطات از طریق تعاملات مشترک بین بافتی تحت عنوان زبان مشترک بین عضلات اسکلتی و سایر بافت‌ها از جمله کبد ایجاد می‌شود. بر این اساس، کمترین میزان رسوب TG کبدی به گروه‌هایی مربوط بود که بیشترین بیان پرواکسی‌زوم آلفا را نشان دادند که احتمالاً بیانگر افزایش حساسیت انسولینی در بافت آدیپوز این گروه‌ها است (گروه HIIT و شم). با این‌حال مقایسه نتایج بیان پرواکسیزوم آلفا در گروه استقامتی به عواملی چون کاهش وزن و تعاملات بین عضلات اسکلتی و بافت کبد مربوط می‌شود. بنابراین افزایش کمتر PPARα نسبت به گروه تمرینی تناوبی شدید در این پژوهش را می‌توان به‌دلیل تفاوت در سایر عوامل اثرگذار مانند ترشح مایوکاین‌ها و پپتیدهای دخیل در تنظیم اشتها دانست؛ با این‌وجود، تحقیقات بیشتری برای اظهار نظر قاطع‌تر نیاز است. نتایج مطالعه حاضر پیرامون تغییرات وزن رت‌ها و میزان بیان ژن PPARα در عضلات اسکلتی با پژوهش Kim و همکاران (۲۰۱۳) نیز همسو بود. این محققان با تحقیق بر روی زنان چاق نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین هوازی با بهبود فاکتورهای خطرزای قلبی متابولیکی از جمله وزن بدن، ذخایر تری‌گلیسرید کلسترول تام، high- (HDL-C) density lipoprotein و low-density (LDL-C) lipoproteins همراه است [۲۵]. Spangenburg و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی تغییرات بیان ژن PPARs در عضله اسکلتی بعد از ورزش حاد و مزمن به این نتیجه رسیدند که تغییرات کمی در انواع PPARs در هر یک از تمرینات ورزشی نمایان شد [۲۶]. نتایج پژوهش حاضر پیرامون تأثیر PPARα بر چاقی با مطالعه Zhu و همکاران (۲۰۱۶) همسو است. Zhu و همکاران در پژوهشی که به بررسی تلفیقی اثر آگونیست‌های مختلف PPARs بر پروتئین‌های قطرات چربی عضلات پرداختند، نشان دادند که هر دو آگونیست PPARα و PPARγ باعث مهار افزایش وزن در رت‌های دارای اضافه‌وزن شد و شاخص‌های مربوط به تحمل گلوکز و مقاومت انسولینی را بهبود بخشید. با توجه به نتایج این پژوهش در وجود ارتباط بین افزایش بیان PPARα با بیان PLIN5 عضلات اسکلتی، به‌نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های تأثیر پرواکسیزوم‌ها به تأثیر غیرمستقیم آن‌ها در تنظیم منفی FSP27 و سایر پروتئین‌های مرتبط با LD برمی‌گردد که در مسیرهای بعدی باعث افزایش بتااکسیداسیون و کاهش TG عضلانی خواهد شد [۲۷]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با چاق‌شدن موش‌های صحرایی بیان ژن PLIN5 کاهش می‌یابد و تمرینات ورزشی سبب افزایش بیان ژن PLIN5 است. مخالف با نتایج تحقیق حاضر Minnaard و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای بر روی موش‌های زوکر، در طی ۸ هفته به‌طور پیش‌رونده آن‌ها را به دیابت مبتلا کردند [۲۸]. هم‌راستا با پژوهش حاضر، Pourteymour و همکاران (۲۰۱۵) در طی

دوازده هفته تمرین ترکیبی قدرتی - استقامتی با ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی در بیوپسی از عضله پهن جانبی پا و بافت چربی زیرجلدی، افزایش بیان ژن در PLIN5 را مشاهده کردند [۱۱]. Hashimoto و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که PLIN5 همراه با فعالیت استقامتی با شدت بالا به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد هم تمرینات استقامتی کم‌شدت و هم تمرینات شدید همراه با افزایش فعالیت لیپولیتیک قطرات چربی است که به اثرات درمانی در بیماری‌های متابولیک منجر می‌شود [۲۹]. مخالف با پژوهش حاضر Ramos و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان دادند که در موش‌های صحرایی که به‌صورت تصادفی به گروه‌های تمرین استقامتی (۳۰ دقیقه دویدن بر روی تردمیل به‌مدت هشت هفته در پی تحریک عصب سیاتیک) و گروه کم‌تحرک تقسیم شده بودند، افزایش در میزان PLIN5 رخ نداد؛ اما در موش‌هایی که به‌وسیله تحریک الکتریکی، انقباض صورت گرفته بود، افزایش PLIN5 نشان داده شد که امکان دارد نوع تحریک نیز مکانیسم متفاوتی بر لیپولیز درون عضلانی داشته باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که PLIN5 در میتوکندری نسبت به فعالیت‌های حاد نیز افزایش می‌یابد [۳۰]. در مطالعه حاضر تمرین استقامتی کم‌شدت و تمرینات اینتروال شدید هر دو موجب افزایش معنی‌دار بیان PLIN5 شد و این در حالی بود که تغییر معناداری در بین این دو گروه مشاهده نشد. به‌هر حال از مقایسه پژوهش حاضر با مطالعات قبل، چنین به نظر می‌رسد که تفاوت‌های مشاهده‌شده در برخی از این مطالعه‌ها و محدودیت‌های مشاهده‌شده ممکن است به تفاوت‌های خاصّ ذخایر چربی (احشایی و عضلانی)، نوع تمرینات مورد استفاده قرار گرفته در مطالعات (حاد، مزمن)، نوع آزمودنی‌ها (انسان، حیوان) و در نهایت می‌تواند به نوع پروتکل تمرینی مورد استفاده مربوط باشد (مدت و شدت تمرین). با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان توجیه کرد که چرا ورزشکاران و افراد چاق هر دو سطوح تری‌گلیسیریدهای درون‌عضلانی زیادی دارند، اما حساسیت به انسولین در ورزشکاران بالا و در بیماران چاق پایین است که ممکن است دلیل آن مربوط به بیان متفاوت پروتئین‌های PPARα و PLIN5 در افراد چاق باشد که با تمرینات HIT بیشتر بهبود می‌یابد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد با به‌کارگیری تمرین با شدت بالاتر تأثیر بیشتری بر بهبود لیپولیز تری‌گلیسیریدهای درون‌عضلانی با توجه به بهبود بیان پری‌لیپین‌ها داشته باشد و از این تمرینات برای بهبود سطوح گلوکز و انسولین نیز بتوان استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های پژوهش حاضر، تمرین LIET و HIIT هر دو باعث افزایش بیان PPARα و PLIN5 در بافت عضلانی رت‌های دارای اضافه‌وزن و چاق شده است. به‌نظر می‌رسد که بیان پروتئین‌های PPARα و PLIN5 در بیماران چاق و دارای اضافه‌وزن کاهش می‌یابد و کاهش آن‌ها تغییرات اساسی در عضله به‌وجود می‌آورد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر یعنی بهبود سطوح بیان PLIN5 همراه با تمرینات استقامتی با شدت کم و همچنین افزایش بیشتر در پی تمرینات شدید اینتروال، به‌نظر می‌رسد انجام تمرینات HIT به بهبود و افزایش بیان بیشتر این ژن‌ها منجر می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش به‌عنوان بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. از اساتید، پزشکان و تمام کسانی که در انجام تحقیق یاری‌رسان بودند، از جمله مؤسسه رویان اصفهان کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References:

[1] Bharath L P, Choi WW, Cho JM, Skobodzinski AA, Wong A, Sweeney TE, et al. Combined resistance and aerobic exercise training reduces insulin resistance and central adiposity in adolescent girls who are obese: randomized clinical trial. ***Eur J Appl Physiol*** 2018; 118: 1653-60.

[2] Azizian-Farsani F, Abedpoor N, Derakhshan M, Nasr-Esfahani MH, Sheikhha MH, Ghaedi K. Protective Effects of the Combination of the Herbal Compound Against Inflammation Related to Obesity and Colitis Induced by Diet in Mice. ***IJDO*** 2022; 14(1): 37-43.

[3] Okati-Aliabad H, Ansari-Moghaddam A, Kargar S and Jabbari N, Prevalence of Obesity and Overweight among Adults in the Middle East Countries from 2000 to 2020: A Systematic Review and Meta-Analysis. ***J Obesity*** 2022; 2022.

[4] Høeg LD, Sjøberg KA, Jeppesen J, Jensen TE, Frøsig C, Birk JB, et al. Lipid-induced insulin resistance affects women less than men and is not accompanied by inflammation or impaired proximal insulin signaling. ***Diabetes*** 2011; 60: 64-73.

[5] Heid H, Rickelt S, Zimbelmann R, Winter S, Schumacher H, Dorflinger Y, et al. On the formation of lipid droplets in human adipocytes: the organization of the perilipin-vimentin cortex. ***PLoS One*** 2014; 9: e90386.

[6] Conte M, Franceschi C, Sandri M and Salvioli S, Perilipin 2 and Age-Related Metabolic Diseases: A New Perspective. ***Trends Endocrinol Metab*** 2016; 27: 893-903.

[7] Chandra V, Huang P, Hamuro Y, Raghuram S, Wang Y, Burris T P, et al. Structure of the intact

PPAR-Y-RXR-α nuclear receptor complex on DNA. ***Nature*** 2009; 456.
[8] More V R, Campos C R, Evans R A, Oliver K D, Chan G N, Miller D S, et al. PPAR-alpha, a lipid-sensing transcription factor, regulates blood-brain barrier efflux transporter expression, ***J Cereb Blood Flow Metab*** 2017; 37: 1199-212.
[9] Wahli W, Michalik L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation, ***Trends Endocrinol Metab*** 2012; 23(7): 351-63.
[10] Hong F, Pan S, Guo Y, Xu P, Zhai Y. PPARs as nuclear receptors for nutrient and energy metabolism, ***Molecules*** 2019: 24: 2545.
[11] Pourteymour S, Lee S, Langleite T M, Eckardt K, Hjorth M, Bindesboll C, et al., Perilipin 4 in human skeletal muscle: localization and effect of physical activity. ***Physiol Rep*** 2015; 3: e12481.
[12] Coen PM, Goodpaster BH. Role of intramyocelluar lipids in human health. ***Trends Endocrinol Metab*** 2012; 23: 391-8.
[13] Machann J, Thamer C, Stefan N, Schwenzer N F, Kantartzis K, Häring H-U, et al. Follow-up whole-body assessment of adipose tissue compartments during a lifestyle intervention in a large cohort at increased risk for type 2 diabetes. ***Radiology*** 2010; 257: 353-63.
[14] Solomon T P, Sistrun S N, Krishnan R K, Del Aguila L F, Marchetti C M, O'Carroll S M, et al. Exercise and diet enhance fat oxidation and reduce insulin resistance in older obese adults. ***J Appl Physiol (1985)*** 2008; 104: 1313-9.
[15] Dube J J, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FG, Sauers SE, Goodpaster BH. Exercise-induced alterations in intramyocellular lipids and insulin resistance: the athlete's paradox revisited, ***Am J Physiol Endocrinol Metab*** 2008; 294: E882-8.
[16] Dube J J, Amati F, Toledo FG, Stefanovic-Racic M, Rossi A, Coen P, et al. Effects of weight loss and exercise on insulin resistance, and intramyocellular triacylglycerol, diacylglycerol and ceramide. ***Diabetologia*** 2011; 54: 1147-56.
[17] Lee S, Bacha F, Hannon T, Kuk J L, Boesch C and Arslanian S, Effects of aerobic versus resistance exercise without caloric restriction on abdominal fat, intrahepatic lipid, and insulin sensitivity in obese adolescent boys: a randomized, controlled trial, ***Diabetes*** 2012; 61: 2787-95.
[18] Abedpoor N, Taghian F, Ghaedi K, Niktab I, Safaeinejad Z, Rabiee F, et al. PPARgamma/Pgc-1alpha-Fndc5 pathway up-regulation in gastrocnemius and heart muscle of exercised, branched chain amino acid diet fed mice. ***Nutr Metab (Lond)*** 2018; 15: 59.
[19] Marcondes R R, Maliqueo M, Fornes R, Benrick A, Hu M, Ivarsson N, et al. Exercise differentially affects metabolic functions and white adipose tissue in female letrozole-and dihydrotestosterone-induced mouse models of polycystic ovary syndrome, ***Molecular Cellular Endocrinol*** 2017; 448: 66-76.
[20] Bagheri MH, Azamian-Jazi A, Banitalebi E, Kazeminasab F and Nasr-Esfahani M H, Both high-intensity interval training and low-intensity endurance training decrease intrahepatic lipid deposits via alterations of the expression of HIF-1α, HIG2 in a murine model of non alcoholic fatty liver disease (NAFLD). ***Sci Sports*** 2021; 36: 120-8.
[21] Hassan Qomi M, Arshadi S, Banayifar A and Kazemzadeh Y. Effects of Eight Weeks of Resistance Training on Muscle Myostatin Gene Expression and Insulin Resistance in Male Wistar Rats with Type 2 Diabetes. ***NFSR*** 2019; 6: 9-16.
[22] Farhat F, Rahmi E, Chrestella J, Williamson O and Syari R P, Expressions of Nuclear Factor-kappa B and Peroxisome Proliferator-activated Receptor-Gamma Proportional with Clinical Staging of Nasopharyngeal Carcinoma. ***OAMJMS*** 2021; 9: 1347-51.
[23] Aboonabi A, Aboonabi A, Anthocyanins reduce inflammation and improve glucose and lipid metabolism associated with inhibiting nuclear factor-kappaB activation and increasing PPAR-gamma gene expression in metabolic syndrome subjects. ***Free Radic Biol Med*** 2020; 150: 30-39.
[24] Fievet C, Fruchart JC, Staels B, PPARalpha and PPARgamma dual agonists for the treatment of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. ***Curr Opin Pharmacol*** 2006; 6: 606-614.
[25] Kim HJ, Lee JS, Kim CK. Effect of exercise training on muscle glucose transporter 4 protein and intramuscular lipid content in elderly men with impaired glucose tolerance. ***Eur J Appl Physiol*** 2004; 93: 353-8.
[26] Spangenburg EE, Brown DA, Johnson MS, Moore RL. Alterations in peroxisome proliferator-activated receptor mRNA expression in skeletal muscle after acute and repeated bouts of exercise, ***Mol Cell Biochem*** 2009; 332: 225-31.
[27] Zhu YX, Zhang ML, Zhong Y, Wang C, Jia W P, Modulation Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Agonists on Lipid Droplet Proteins in Liver, ***J Diabetes Res*** 2016; 2016: 8315454.
[28] Minnaard R, Schrauwen P, Schaart G, Jorgensen JA, Lenaers E, Mensink M, et al. Adipocyte differentiation-related protein and OXPAT in rat and human skeletal muscle: involvement in lipid accumulation and type 2 diabetes mellitus, ***J Clin Endocrinol Metab*** 2009; 94: 4077-85.
[29] Hashimoto T, Sato K and Iemitsu M, Exercise-inducible factors to activate lipolysis in adipocytes, ***J Appl Physiol (1985)*** 2013; 115: 260-267.
[30] Ramos SV, Turnbull PC, MacPherson RE, LeBlanc PJ, Ward WE, Peters SJ. Changes in mitochondrial perilipin 3 and perilipin 5 protein content in rat skeletal muscle following endurance training and acute stimulated contraction. ***Exp Physiol*** 2015; 100: 450-62.