مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال چهاردهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸، صفحات ۹-۱

اثر تمرین هوازی و آدنوزین بر بیان *SREBP-1C* و گیرنده *A1* کبدی در موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای پرچرب

ابوالحسن هدایتی کتولی[۱]، محمدعلی آذربایجانی[۲]، عبدالعلی بنائی فر[۳]، سجاد ارشدی [۴]

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

۲- نویسنده مسئول: استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، پست الکترونیک: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

۳- دانشیارگروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

۴- استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات اندکی به بررسی اثر تزریق آدنوزین بر گیرنده‌ها و مسیر پایین دست آن در متابولیسم چربی کبد پرداخته‌اند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی نوع تمرین هوازی و آدنوزین بر بیان SREBP-1c (sterol regulatory binding protein 1c) و گیرنده A1 (Adenosine receptor) کبد موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای پرچرب بود.

مواد و روش‌ها: ۴۰ سر موش صحرایی به صورت تصادفی به ۸ گروه کنترل نرمال، غذای پر چرب، غذای پرچرب + تزریق دارو نما، غذای پرچرب + تزریق آدنوزین، غذای پرچرب – تمرین HIIT (High-intensity interval training+) تزریق آدنوزین، غذای پر چرب - تمرین HIIT+ تزریق دارونما، غذای پر چرب- تمرین استقامتی + تزریق ادنوزین، غذای پر چرب - تمرین استقامتی + تزریق دارونما تقسیم شدند. آزمودنی‌ها در مرحله اول ۱۳ هفته غذای پرچرب دریافت نمودند و در مرحله دوم به مدت ۱۲ هفته، هفته ای ۵ جلسه به تمرین پرداختند، جهت تحلیل داده‌ها در گروه‌های غذایی از آزمون تحلیل یک راهه واریانس مستقل و تعیین اثر تمرین و آدنوزین از تحیل دو راهه واریانس استفاده شد. جهت بررسی بیان ژن‌ها از روش Real time PCR استفاده شد.

یافته‌ها: ژن SREBP1-c و A1 به ترتیب در گروه‌های غذای پرچرب (P=۰/۰۱۶), (P=۰/۰۱۹) افزایش معنی‌داری داشتند، تمرین اینتروال شدید و استقامتی اثر معنی‌دار بر کاهش بیان ژن SREBP1-c و A1 (P=۰/۰۰۳) و (P=۰/۰۰۱) داشتند. SREBP1-c و A1 در گروه تزریق آدنوزین کاهش معنی‌داری (P=۰/۰۰۴)، (P=۰/۰۰۲) داشتند. تعامل تمرین استقامتی- آدنوزین کاهش معنی‌دارتری (P=۰/۰۰۴) از تمرین اینتروال شدید- آدنوزین (P=۰/۰۱۹) بر بیان A1 داشت.

نتیجه‌گیری: صرف نظر از شدت تمرین به عنوان یک فاکتور مؤثر بر بیان ژن‌های لیپوژنز، دوز مصرفی آدنوزین همراه با کاهش گیرنده آن (A1) بدنبال غذای پرچرب احتمالاً نقش مؤثری بر بیان ژن‌های لیپوژنتیک دارند.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، تمرین تناوبی شدید (HIIT)، SREBP1-c، گیرنده آدنوزین-A1 ، غذای پرچرب

• مقدمه

منشأ شیوع بیماری‌های مزمن متابولیکی مانند هیپر لیپیدمی، دیابت و چاقی در دهه‌های اخیر در سرتاسر جهان افزایش یافته است، این اختلالات دلایل پیچیده ای شامل عوامل ژنتیکی، محیطی و تغذیه ای دارند (۱). بارگیری بلند مدت رژیم غذایی پرچرب و دی نو لیپوژنز ناشی از بارگیری کربوهیدرات موجب چاقی، مقاومت به انسولین و افزایش کبد چرب غیر الکلی می‌شوند. در پستانداران کبد ارگان اصلی تنظیم کننده متابولیسم گلوکز و چربی است (۲). دراین راستا، لیپوژنز کبد توسط تعدادی از فاکتورهای رونویسی از جمله SREBP (sterol regulatory element binding protein) تنظیم می‌شود (۳). خانواده SREBP شامل سه ایزوفرم می‌باشد، SREBP-1c فاکتور اصلی تنظیم کننده ژن‌های

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

لیپوژنز کبد است که در سنتز تری گلیسرید (TG) دخالت دارد (۴). علاوه بر موارد ذکر شده عدم فعالیت بدنی نیز یکی از فاکتور اصلی مرتبط با چاقی است (۵). تمرین ورزشی آنزیم‌های لیپوژنیک و بیان ژن‌های دی نو لیپوژنز مانند SREBP-1c و Fatty acid synthase (FAS) را کاهش می‌دهد و دسترسی به اسیدهای چرب زنجیره بلند برای سنتزتری گلیسرید را تنظیم می‌کند (۶). نشان داده شده است که نوع و شدت فعالیت بدنی اثرات متفاوتی را بر متابولیسم انرژی ایفا می‌کنند (۷). فعالیت‌های ورزشی هوازی مانند پیاده روی، دوچرخه سواری صرف نظر از مکان، روش‌های کم هزینه درمانی هستند (۷) که با شدت پایین تا متوسط با زمان حداقل ۳۰ دقیقه و ۵ جلسه در هفته به منظور کاهش خطرات متابولیکی انجام می‌شوند (۸). هر چند، اغلب مردم به طور منظم قادر نیستند این برنامه‌ها را اجرا نمایند (۹). از این رو، نیاز به یک برنامه ورزشی مناسب می‌باشد. تمرینات هوازی شدید در مقایسه با تمرینات هوازی با شدت کم مزایای سودمندی را بر فاکتورهای خطرزای مهم متابولیسمی دارند (۱۰). اخیراً، تمرین اینتروال با شدت بالا به عنوان عامل اثرگذار بر سلامتی و اکسیداسیون چربی مورد توجه قرار گرفته است (۱۱). بنابر مطالعات انجام گرفته، شدت فعالیت ورزشی در مقابل حجم فعالیت عاملی مؤثرتر بر بهبود بیماری‌های متابولیکی می‌باشد (۱۲). تمرینات شدید HIIT (High-intensity interval training) به لحاظ زمانی جایگزینی مؤثر جهت برنامه‌های ورزشی سنتی هستند که عمدتاً شامل تمرینات با شدت کم، متوسط و مدت زمان طولانی می‌باشد، همچنین بیان شده که این نوع تمرین بر کاهش وزن اثر گذار می‌باشد (۱۴، ۱۳). در تعداد مطالعات اندکی، گزارش شده است که تمرین HIIT سطوح SREBP-1c کبدی را در مدل‌های حیوانی کاهش داده است (۱۵). از طرفی فعالیت دارویی یا مهاری تنظیم کننده SREBP-1c کبد و هیپرلیپیدمی پلاسمایی تا حدودی از طریق گیرندهای آدنوزین مورد تأیید قرار گرفته است (۱۶). آدنوزین تقریباً از تمام بافت‌ها و اندام‌های حاضر پستانداران ترشح می‌شود. افزایش غلظت آدنوزین ناشی از افزایش خروج آدنوزین، کاهش جذب آدنوزین و یا انتشار سلولی آدنین نوکلئوتیدها به خارج سلول می‌باشد، طوری که در خارج سلول به آدنوزین دی فسفریله می‌شوند (۱۷). تعداد زیادی از مطالعات نشان دادند، مقادیر بالاتر آدنوزین خارج سلولی از آدنین نوکلئوتیدهای رها شده از سلول‌ها مشتق می‌شود (۱۸). آدنوزین یک مولکول کلیدی سیگنالینگ خارج سلولی است که چندین جنبه از عملکردهای بافتی را از طریق فعال نمودن ۴ گیرنده پروتئینی متصل به پروتئین G تنظیم می‌کند (۱۹). گیرنده‌های ادنوزین به مهار کننده‌ها (A1,A3) یا فعال کننده‌ها (A2a, A2b) آدنیلات سیکلاز طبقه‌بندی می‌شوند (۲۰). بیان شده است، که فعالیت گیرنده A1 در بافت چربی اثر ضد لیپولیتیکی داشته و موجب کاهش سطوح اسید چرب در گردش می‌شود. طوریکه پیشنهاد شده است که اثرات مفیدی در درمان دیس لیپیدمی و دیابت نوع دو دارد (۲۱). اخیرا، گزارش شده است که فعال شدن گیرنده A1 آدنوزین فعالیت فاکتور رونویسی SREBP-1c را تنظیم می‌کند (۲۱). در حال حاضر مطالعات اندکی به بررسی اثر تزریق آدنوزین بر گیرنده‌ها و مسیر پایین دست آن در متابولیسم چربی کبد پرداخته‌اند. از این رو، مطالعه حاضر بدنبال بررسی اثرات نوع و شدت تمرین هوازی به عنوان عامل غیر دارویی همراه با آدنوزین بر بیان ژن لیپوژنیک گیرنده A1 و SREBP-1c می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها: ۴۰ سر موش صحرایی ۵- ۴ هفته‌ای با میانگین وزن اولیه ۳۲ ±۱۲۸ گرم از انستیتو پاستور آمل خریداری شدند و طی دوره یک هفته ای آشنایی با محیط جدید، آشنایی با نوارگردان و همچنین دوره اجرای پروتکل در قالب گروه‌های ۵ سر موش در قفس‌های پلی کربنات شفاف به طول ۳۰، عرض و ارتفاع ۱۵ سانتی متر و در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت هوای ۵ ±۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲: ۱۲ ساعته با تهویه مناسب نگهداری شدند. پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، طبق منشور و موازین اخلاق پژوهش وزارت علوم تحقیقات و فناوری با کد اخلاق IR.SSRI.REC.1395.115مورد تأیید قرار گرفت

تغذیه آزمودنی‌ها: غذای آزمودنی‌ها، تولید شرکت دام‌به‌پرور کرج بود. به ازای هر ۱۰۰ گرم از وزن هر موش ۵ گرم غذا بر اساس وزن کشی هر هفته یک بار، در قفس قرار داده شد. در این پژوهش آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آن‌ها قرار گرفت. جیره غذایی گروه نرمال حاوی ۳٪ چربی (روغن سویا)، ۱۷٪ پروتئین کازئین، ۶۸٪ کربوهیدرات، ۸ ٪ مواد معدنی و ۱٪ ویتامین‌ها می‌شد. ترکیبات جیره غذایی پر چرب نیز ۲۰٪ چربی حیوانی (دمبه) و ۲۰٪ روغن سویا ، ۱۳ ٪ پروتئین شامل (کازئین و سفیده تخم مرغ) و ۴۷٪ کربوهیدرات شامل (گندم- ذرت- جو) تهیه شد (۲۲) و طی ۱۳ هفته تمامی ۲۰ سر موش صحرایی از این رژیم استفاده کردند و پس از رسیدن

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

به معیارهای چاقی، مرحله ی تمرین با رعایت رژیم غـذایی پـر چرب ادامه پیدا کرد.

گروه‌های تمرینی: پیش از شروع هـر گونـه مداخلـه، ۴۰ رت جهت دریافت رژیم غذایی پر چرب به اسـتثنای گـروه کنتـرل غذای نرمال، به صورت تصادفی و همچنین از طریـق همسـان سازی وزنی در ۸ گـروه قـرار گرفتنـد. آزمـودنی‌هـا طـی یـک مطالعه ی دو مرحله ای (مرحله ی چاق کـردن و تمـرین) بـه مدت۱۳ هفته رژیـم غـذایی پرچـرب بـا ۴۰٪ چربـی دریافـت کردند. سپس، گروه‌های پژوهش در مرحله ی دوم تمـرین بـه مدت ۱۲ هفته به ۸ گروه کنترل و تجربی به شـرح ذیـل : ۱- کنترل رژیم غذایی نرمال ۲- کنترل غذای پر چرب ۳- غـذای پرچرب و تزریق آدنوزین ۴- غذای پرچـرب و تزریـق دارو نمـا ۵- رژیم غذایی پرچرب و تمرین HIIT با تزریـق آدنـوزین ۶- رژیم غذای پر چرب و تمرین HIIT با تزریق دارونما ۷- رژیـم غذای پر چرب و تمرین استقامتی با تزریق ادنـوزین ۸- رژیـم غذای پر چرب و تمرین اسـتقامتی بـا تزریـق دارونمـا تقسـیم شدند.

مقدار دوز آدنوزین مصرفی موش‌هـا: گـروه‌هـای تمـرین- آدنوزین و کنترل - آدنوزین، آدنـوزین را بـه مقـدار۰/۲ میلـی گرم به ازای ۱ کیلوگرم بـه مـدت دوازده هفتـه (هفـت روز در هفته) به صورت زیر صفاقی ۳ ساعت قبـل از تمـرین دریافـت کردند. گروه دارونما نیز به مقدار و روش مشـابه بـا گـروه‌هـای دریافت‌کننده آدنوزین، سرم فیزیولوژی دریافت نمودند.

پروتکل تمرینات هوازی: آزمودنی‌های گروه تمرینی قبل از شروع برنامه ورزشی اصـلی بـه مـدت یـک هفتـه تمـرین بـا سرعت‌های (۱۰، ۸، ۶ متـر بـر دقیقـه) را بـه عنـوان مرحلـه آشنایی با نوارگردان انجام دادند. سـپس آزمـودنی‌هـای گـروه تمرینی به اجرای دوازده هفته تمـرین پرداختنـد. گـروه‌هـای تمرین در هر هفتـه ۵ روز تمـرین نمودنـد. در ایـن پـژوهش ملاک وامانـدگی دسـتیابی بـه حـداکثر سـرعت قـرار گرفـت. سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یکبار به میزان ۱/۸ تـا ۲ متـر بر دقیقه جهت رسیدن به حد وامانگی در طی تمرین افـزایش یافت. پس از بـه دسـت آوردن میـانگین حـداکثر سـرعت در تمامی رت‌های گروه‌های تمرینی ۶۵ درصـد حـداکثر سـرعت برای گروه‌های تمرینات استقامتی و ۸۵ درصد حداکثر سرعت برای گروه‌های تمرین شدید تناوبی در شـروع کـار ثبـت شـد (۲۴، ۲۳). تمرین استقامتی با شدت متوسـط بـا سـرعت ۲۰ متر بر دقیقه و مدت زمان ۱۵ متر بر دقیقـه در هفتـه ی اول شروع شد که تدریجاً به سرعت ۲۵ متر بر دقیقـه و زمـان ۳۱ دقیقه در هفته ۱۲ رسید. پروتکـل تمـرین شـدید تنـاوبی بـا شدت ۸۵٪ تا ۹۰٪ vmax (۲۵) معادل ۷ تلاش ۱ دقیقه ای و سرعت ۳۱ متر بر دقیقه و استراحت فعال بین اینتروال‌ها با ۶ تلاش و سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته ی اول انجـام شـد، که تدریجاً با افزایش متوسط ۲ متر بر دقیقه در هفتـه بـه ۱۰ تلاش ۱ دقیقه ای با سرعت ۵۵ متـر بـر دقیقـه و اسـتراحت فعال با ۹ تلاش ۱ دقیقه‌ای بین اینتروال‌ها با سرعت ۲۵ متـر بر دقیقه در هفته ی ۱۲ رسید. لام به ذکر است مرحلـه گـرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت و به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه و مرحله سرد کـردن نیـز بـه مـدت ۱ دقیقـه بـا شدت ۱۵ متر بر دقیقه و ۲ دقیقه با شدت ۱۰ متر بـر دقیقـه انجام گرفت.

اسـتخراج mRNA و سـاخت cDNA: RNA بـا اسـتفاده از کیـت RNeasy Mini Kit شـرکت Qiagen اسـتخراج گردیـد. سـپس cDNA توسـط کیـت Quantitect Reverse Transcription Kit cDNA synthesis شـرکت Qiagen از RNA ساخته شد و تا انجـام Real Time PCR در دمـای ۸۰- نگهداری شد. برای اندازه‌گیـری میـزان بیـان ژنـی از دسـتگاه Thermal Cycler™ (C1000) سـاخت شـرکت BIO RAD استفاده شد. برنامه زمانی- گرمایی دستگاه در سه مرحله انجام شد. مرحله اول که منجر به دناتوره شدن مولکول‌های DNA و فعال شدن آنزیم پلی مراز می‌گردد به صورت ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دوم ۹۵ درجه سـانتی گـراد بـه مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه بـرای ۴۵ سیکل متوالی و مرحلـه ی نهـایی جهـت ترسـیم منحنـی تفکیک (Dissociation Curve) یا منحنی ذوب به صـورت ۵۵ تا ۹۵ درجه سانتی گراد، با افزایش نیم درجه در مدت ۵ ثانیـه انجام شد. واکنش‌های Real-Time PCR در حجـم نهـایی ۱۰ میکرولیتر در پلیت‌های ۹۶ چاهکی انجام شدند. در مطالعـه ی حاضـر از مـاده ای بـا رنـگ فلوئورسـنت سـبز بـه نـام SYBR-Green اسـتفاده شـد کـه قـادر اسـت در میـان شـیار کوچـک مولکـول DNA دو رشـته ای قـرار گرفتـه و نـور فلوئورسنت منتشر کند. میزان تولیـد نـور فلوئورسـنت نسـبت مستقیم با میزان تولید محصول PCR دارد. برای ژن‌های مورد مطالعه آغازگرهای اختصاصی طراحی گردید و توسـط شـرکت سیناکلون (Sinaclon) سـنتز شـد و پـس از رقیـق سـازی بـر اساس دستورالعمل شرکت سازنده مورد استفاده قرار گرفت.

روش اندازه‌گیری بیـان ژن‌هـا: در مطالعـه حاضـر، جهـت سـنجش تعـداد کپـی‌هـای ژن‌هـای هـدف و مرجـع از روش مقایسه‌ای سیکل آستانه استفاده شـد. ایـن روش بـرای آنـالیز بیان نسبی ژن‌ها بطور گسترده استفاده می‌شود. در ایـن روش

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

فرض بر این است که هم ژن مورد نظر و هم ژن رفرنس با کارایی نزدیک به ۱۰۰ درصد (با ۵ درصد اختلاف یعنی از ۵±۱۰۰) درون دستگاه PCR تکثیر می‌شوند. پیش از استفاده از روش ۲ -ΔΔCT لازم است که فرض ۱۰۰ درصد بودن کارایی دستگاه برای ژن‌های مورد نظر و ژن رفرنس تعیین شود که این کار با رسم منحنی استاندارد مشخص می‌شود. اگر معلوم شد که ژن‌های مورد نظر و ژن رفرنس با کارایی نزدیک به ۱۰۰ درصد تکثیر می‌شوند، می‌توان با استفاده از فرمول‌های زیر تفاوت در بیان ژن‌های مورد نظر و ژن رفرنس را تعیین کرد.

پس از تعیین CT هر ژن، CT ژن رفرنس از CT ژن هدف کم شده و ΔCT به دست آمد.

$(\Delta CT = CT_{\text{target gene}} - CT_{\text{references gene}})$.

در ادامه ΔCT نمونه‌های گروه کنترل سالین را که در این مطالعه به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شده است از ΔCT نمونه‌های گروه تیمار کم شده تا ΔΔCT حاصل گردد:

$$\Delta\Delta CT = (CT_{\text{target gene}} - CT_{\text{references gene}})_{\text{treatment group}} - (CT_{\text{target gene}} - CT_{\text{references gene}})_{\text{calibrator group}}$$

در نهایت میزان $2^{-\Delta\Delta CT}$ با نسبت ژن هدف به ژن مرجع برابر است با :

برای هر یک از نمونه‌ها چرخه آستانه (Ct) در دستگاه Real Time PCR تعیین شد. بیان ژن GAP.DH به عنوان بیان ژن رفرنس استفاده شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

پرایمر:

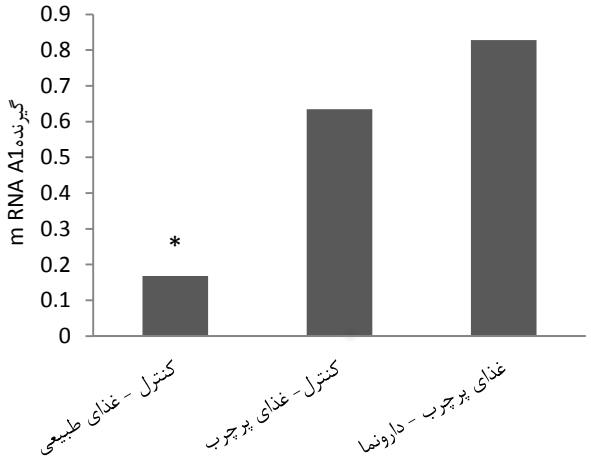
Adenosine Receptor1 (A1)
Forward: GTGCTTCATCGTGTCACTGG
Adenosine Receptor1 (A1)
Reverse: GCAGGTGTGGAAGTAGGTCT
SREBP1-c Forward: GGAGCCATGGATTGCACATT
SREBP1-c Reverse: GGCCCGGGAAGTCACTGT

اندازه‌گیری وزن موش ها: وزن موش‌ها به وسیله ترازوی دیجیتالی با حساسیت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. موش‌ها هر سه روز یک بار وزن می‌شدند

تجزیه و تحلیل آماری: تمام داده‌ها در اشکال، جداول و متن بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. جهت تعیین اثر گذاری دریافت غذای پرچرب بر پیامدهای مورد مطالعه ابتدا گروه‌های کنترل غذای طبیعی، کنترل دریافت کننده غذای پرچرب و کنترل دریافت کننده غذای پرچرب- دارونما با استفاده از تحلیل یک راهه واریانس برای گروه‌های مستقل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار از آزمون پیگیری توکی برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. سپس جهت تعیین اثر اصلی تمرین، اثر اصلی آدنوزین و تعامل تمرین × آدنوزین از تحلیل دوراهه واریانس برای گروه‌های مستقل استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات P <۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

اثر غذای پر چرب و دارونما بر بیان ژن A1 بافت کبد: بیان ژن A1 در گروه کنترل غذای طبیعی کاهش معنی‌داری از گروه‌های کنترل غذای پرچرب (P=۰/۰۱۹) و غذای پرچرب دارونما (P=۰/۰۱۷) داشت. همچنین بیان ژن A1 درگروه کنترل تغذیه با گروه دارونما از تفاوت معنی‌دار برخوردار نبود (P=۰/۶۱۶) (شکل ۱).

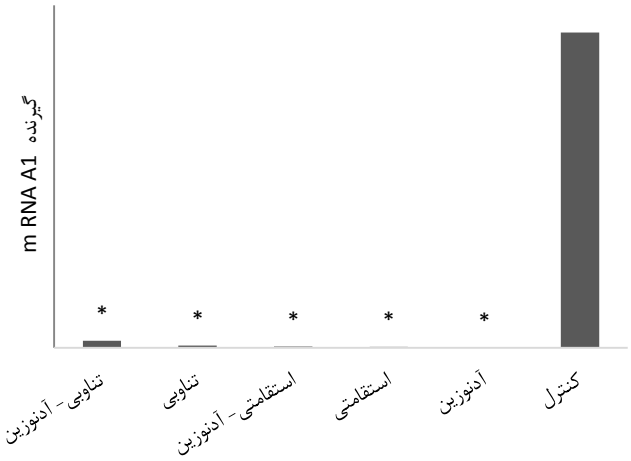


شکل ۱. سطح بیان ژن A1 در گروه‌های غذایی

اثر نوع تمرین هوازی و آدنوزین بر بیان ژن A1 بافت کبد رت‌های نر تغذیه شده با غذای پر چرب: تمرین اثر معنی‌داری بر بیان ژن A1کبد داشت (P=۰/۰۰۰۱). دریافت آدنوزین نیز اثر معنی‌داری بر بیان ژن A1کبدی داشت (P=۰/۰۰۲). تعامل تمرین و آدنوزین نیز اثر معنی‌داری بر بیان ژن A1کبد داشت (P=۰/۰۰۰۱). بیان ژن A1 در پایان دوره در گروه تمرین اینتروال شدید از گروه کنترل کاهش معنی‌دارتری داشت (P=۰/۰۰۱). و همچنین بیان ژن A1 در

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

پایان دوره کاهش معنی‌داری در گروه دریافت کننده آدنوزین از گروه کنترل (P=۰/۰۰۲) داشت. در اینجا اثر تمرین اینتروال شدید به تنهایی با اثر آدنوزین ۰/۰۰۶۶ بود که اثر تعاملی تمرین اینتروال شدید آدنوزین ۰/۰۱۹ است. برای تمرین استقامتی و آدنوزین نیز جمع اثر تک تک آنها ۰/۰۰۳۶ شده است، در حالی که مقادیر به دست آمده از تعامل این دو ۰/۰۰۴ بود، که نتیجه گیری می‌شود تعامل معنی‌دار و دارای اثر سینرژیستی می‌باشد. یعنی همزمانی این دو مداخله نسبت به جمع اثر تک تک هریک اثر کاهنده بر بیان ژن پروتئینA1 داشته است. پس همزمانی تمرین به ویژه تمرین استقامتی با آدنوزین اثر فزاینده بر بیان ژن پروتئینA1 دارد (شکل ۲).

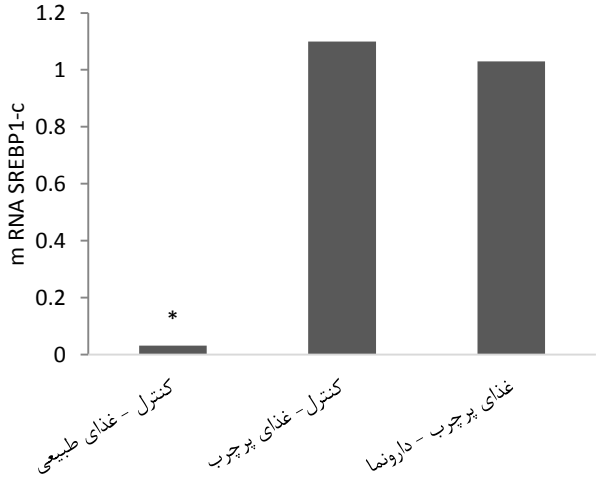


شکل ۲. مقایسه میانگین A1 در گروه‌های تمرینی و آدنوزین

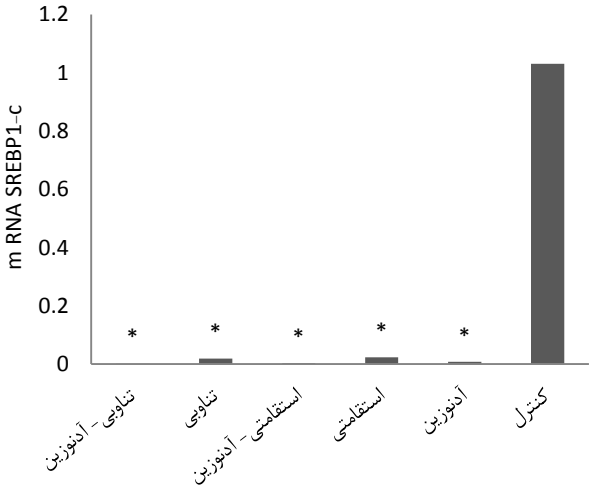
اثرات نوع تمرین و آدنوزین بر بیان ژن SREBP1-C

اثر غذای پر چرب و دارونما بر بیان ژن SREBP1-c بافت کبد: نتایج آزمون پیگیری توکی نشان داد بیان ژن SREBP1-c درگروه کنترل غذای نرمال از گروه کنترل غذای پرچرب (P=۰/۰۱۶) و غذای پرچرب دارونما (P=۰/۰۲۳) کاهش معنی‌دارتری داشت. همچنین بیان ژن SREBP1-c درگروه کنترل غذای پرچرب با گروه دارونما از تفاوت معنی‌دار برخوردار نبود (P=۰/۹۷۹) بود (شکل ۳).

اثر نوع تمرین هوازی و آدنوزین بر بیان ژن SREBP1-c بافت کبد رت‌های نر تغذیه شده با غذای پر چرب: تمرین اثر معنی‌داری بر بیان ژن SREBP1-c کبدی دارد (P=۰/۰۰۱). دریافت آدنوزین نیز اثر معنی‌داری بر بیان ژن SREBP کبدی داشت (P=۰/۰۰۴). تعامل تمرین و آدنوزین اثر معنی‌داری بر بیان ژن SREBP1-c کبدی دارد (P=۰/۰۰۱). بیان ژن SREBP1-c در پایان دوره کاهش معنی‌داری در گروه تمرین اینتروال شدید نسبت به گروه کنترل (P=۰/۰۰۳) داشت، همچنین بیان ژن SREBP1-c در پایان دوره به طور کاهش معنی‌داری در گروه دریافت کننده آدنوزین از گروه کنترل (P=۰/۰۰۴) داشت. در اینجا اثر تمرین اینتروال شدید به تنهایی با اثر آدنوزین ۰/۰۲۷ که اثر تعاملی تمرین اینتروال شدید آدنوزین ۰/۰۰۱۴ است. برای تمرین استقامتی و آدنوزین نیز جمع اثر تک تک آنها ۰/۰۳۱ است، در حالی که مقادیر به دست آمده از تعامل این دو ۰/۰۰۴بود، که نتیجه‌گیری می‌شود تعامل معنی‌دار و دارای اثر آنتاگونیستی می‌باشد. یعنی همزمانی این دو مداخله نسبت به جمع اثر تک تک هریک اثر کاهنده بر بیان ژن پروتئین SREBP1-c داشته است. پس همزمانی تمرین با آدنوزین کاهش معنی‌داری بر بیان ژن پروتئین **SREBP1-c** دارد (شکل۴).



شکل ۳. سطح بیان ژن SREBP1-c در گروه‌های غذایی



شکل ۴. مقایسه میانگین SREBP1-c در گروه‌های تمرینی و آدنوزین

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

• بحث

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر نوع فعالیت هوازی همراه با آدنوزین بر پارامترهای لیپوژنیک چربی کبدی در موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای پرچرب بود. تا کنون تحقیقات اندکی اثرات آدنوزین را بر مسیر لیپوژنز کبد مورد بررسی قرار دادند، به نظر می‌رسد لیپوژنز کبد ناشی از رژیم غذایی پرچرب توسط دو فاکتور رونویسی اصلی یعنی SREBP1-c و ChREBP (carbohydrate response element binding protein) که به ترتیب ناشی از انسولین، اسید چرب و کربوهیدرات هستند، تنظیم می‌شود (۲۶). نتایج ما افزایش معنی‌دار بیان ژن SREBP1-c و A1 را در سلول‌های کبد بدنبال رژیم غذایی پرچرب نشان داد، که با مطالعه پنگ و همکاران که به بررسی سیگنالینگ آدنوزین ناشی از اتانول در بیماران کبد چرب پرداخته بودند، همسوء بود (۲۷) . آنها اظهار نمودند مکانیسم بیوشیمیایی کبد چرب ناشی از اتانول که با افزایش آدنوزین خارج سلولی منجر می‌شود، حداقل تا حدی بواسطه میانجیگری گیرنده A1 است که موجب تنظیم ژن‌های درگیر در سنتز چربی مانند SREBP1-c می‌شود (۲۷). علاوه بر این، مکانیسم‌های دیگری نیز در افزایش بیان ژن‌های لیپوژنیک کبدی ناشی از اتانول شامل تحریک مستقیم ژن SREBP1-c توسط مکانیسم‌های درون سلولی (۲۸) افزایش بیان پروتئین و ژن SREBP1-c از طریق مهار فعالیت AMPK (AMP-activated protein kinase) و کاهش بیان و ترشح آدیپونکتین که به نوبه خود، بیان SREBP1-c را از طریق کاهش فعالیت AMPK تنظیم می‌کند مطرح شده‌اند (۲۹). در مطالعه حاضر این امر شاید ناشی از افزایش معنی‌دار بیان ژن گیرنده A1 کبد و یا هیپرلیپیدمی ناشی از رژیم غذایی پرچرب باشد که تحت اثر انسولین ژن SREBP1-c را فعال می‌نماید (۳۰). از سوی دیگر Yang و همکاران اظهار نمودند بیان ژن SREBP1-c کبدی بطور معنی‌داری وابسته به آگونیست گیرنده A1 سلولهای هپاتوسیت نمی باشد. چرا که چندبن مطالعه در گذشته نشان دادند که گیرنده A1 آدنوزین بصورت کمی در کبد بیان شده است و این نقش حداقلی را در تنظیم فرآیندهای لیپوژنیک توسط این گیرنده نشان می‌دهد (۳۱). مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن SREBP1-c کبد در گروه مصرف کننده آدنوزین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت، که در وهله اول شاید به دلیل کاهش گیرنده A1 در این گروه و سپس به دوز مصرفی و مدت زمان مصرف آدنوزین اشاره داشته باشد، چرا که مصرف مزمن اتانول در بیماران کبد چرب الکلی موجب افزایش آدنوزین و تحریک گیرنده‌های A1 و SREBP1-c می‌شود (۲۷). که نسبت به مقدار ادنوزین طبیعی موجود در خون محیطی که از ۰,۳ تا ۱ میکرومول گزارش شده بالاتر است. علاوه بر این نشان داده شده است که اضافه نمودن مقادیر پایین تر آدنوزین به فضای خارج سلولی از طریق گیرنده‌های ENT1 و CNT2 می‌توانند فعالیت AMPK را افزایش دهد (۳۲). که در مطالعه ما مقدار AMPK افزایش داشت (بیان نشد)، که این امر به نوبه خود موجب مهار و کاهش فعالیت مسیر لیپوژنز و بیان ژن SREBP1-c کبد می‌شود (۳۳)، مستقل از عادات غذایی خطر بیماری مزمن از طریق بی تحرکی افزایش و در افراد با تمرین بدنی منظم کاهش می‌یابد (۲۶). ما مشاهده کردیم که هر دو تمرین هوازی با شدت‌های متفاوت اثرات مشابه و کاهش معنی‌داری بر بیان ژن‌های SREBP1-c و گیرنده A1 کبدی دارند. تمرین HIIT به عنوان یک برنامه آموزشی کم حجم و با شدت بالا (۳۴) نشان داده است که سطوح SREBP1-c کبد را کاهش می‌دهد (۳۵). Oh و همکاران نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی با شدت بالا موجب کاهش سطوح SREBP1-c در سلولهای گردش خون محیطی می‌شود (۳۶). در مطالعه ای دیگر بیان شد که ۴ هفته تمرین با تردمیل در موش‌ها باعث افزایش قابل توجهی در اکسیداسیون لیپیدهای کبد می‌شود (۳۷). از این رو به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی عمدتا از طریق افزایش مسیر اکسیداسیون بویژه از طریق افزایش AMPK و کاهش تعداد گیرنده‌های A1 سطح کبد موجب سرکوب مسیر لیپوژنز کبد شود.

افزایش استفاده از غذاهای پرچرب و بی تحرکی به عنوان برخی از مشکلات ناشی از صنعتی شدن جوامع در طی دهه‌های اخیر موجب شیوع بیماری‌های متابولیکی از جمله کبد چرب غیر الکلی شده است. لذا، با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، صرف نظر از شدت تمرین به عنوان یک فاکتور مؤثر بر کاهش بیان ژن‌های لیپوژنز اثر گذار بر کبد چرب غیر الکلی، دوز مصرفی آدنوزین همراه با افزایش یا کاهش گیرنده آن (A1) بدنبال غذای پرچرب احتمالاً نقش مؤثری بر پیشگیری از این بیماری دارند. با عنایت به واکنش‌های ناشی از روش‌های تجربی در مطالعه و عدم دقیق کنترل گیرنده آدنوزین، جهت تعیین بهتر اثر ادنوزین بر گیرندهای آن در فعالیت‌های ورزشی پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده A1 جهت تعیین اثر فعالیت بدنی استفاده شود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایانامه مقطع دکتری گرایش فیزیولوژی ورزش است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب تصویب و اجرا شده است. بدینوسیله از مرکز تحقیقات بنیادی علوم ورزشی و پزشکی شهید میرغنی که در این تحقیق با ما همکاری نمودند کمال تشکر را داریم.

References

1. Alejandra V, Contreras, Nimbe Torres, and Armando R. Tovar. PPAR-a as a Key Nutritional and Environmental Sensor for Metabolic Adaptation: American Society for Nutrition 2013; 4: 439–452.

2 . Dentin R, Girard J, Postic C. Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. Biochimie 2005; 87(1):81–86

3. Berlanga A, Guiu-Jurado E, Porras JA, Auguet T. Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. Clin Exp Gastroenterol 2014; 7: p. 221-39.

4. Aragno M, et al. SREBP-1c in nonalcoholic fatty liver disease induced by Western-type high-fat diet plus fructose in rats. Free radical biology and Medicine 2009; 47 (7), 1067–1074.

5 .Booth FW, Roberts CK, Laye MJ. Lack of exercise is major cause of chronic disease: Compr. Physical 2012; 2: 1143-1211.

6. Russ Fiebig Margaret A. Griffiths Mitchell T. Gore David H. Baker Lawrence OscaiDenise M. Ney, et al. Exercise Training Down-Regulates Hepatic Lipogenic Enzymes in Meal-Fed Rats: Fructose versus Complex-Carbohydrate Diets*:* The Journal of Nutrition.1998;128: 810–817

7. Ryuki Hashida, Takumi Kawaguchi, Masafumi Bekki, Takuji Torimura. Aerobic versus resistance exercise in Non-alcoholic faty liver Disease: A systematic review. Hepatology 2017; 66: 142-152

8. Nalcakan GR. The effects of sprint interval vs. continuous endurance training on physiological and metabolic adaptations in young healthy adults. Journal of human kinetics 2014; 44 (1), 97–109.

9. Horton J D, Goldstein J L, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. J Clin Invest 2002; 109, 1125-1131

10. swain DP, Frank BA. Comparison of cardioprotective benefit of vigorous versus moderate intensity aerobic. Am J Cardio 2006; 97:141-7

11. Talanian J.L, Galloway S.D, Heigenhauser G.J, Bonen A. and Spriet L.L. Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. J Appl Physiol 2007; 102: 1439–1447

12. Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. Diabetes Spectr 2015; Jan; 28(1): 39–44

13. De Feo P. Is high-intensity exercise better than moderate-intensity exercise for weight loss? Nutr. Metab. Cardiovas: Dis 2013; 23: 1037-1042

14. Tjonna AE, Lee SJ, Rognmo O, Stolen TO, Bye A, Haram PM, et al. Aerobic interval training versus continues moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: apilot study. Circulation 2008; 118: 346-354

15. M. Ebrahimi, R. Fathi, Z. Ansari Pirsaraei, E. Talebi Garakani and M. Najafi. How high-fat diet and high-intensity interval training affect lipid metabolism in the liver and visceral adipose tissue of rats. Comparative Exercise Physiology, 2015; 14 (1) : 55 - 62 [in persian]

16. Koupenova M, Ravid K. Adenosine, Adenosine Receptors and Their Role in Glucose Homeostasis and Lipid Metabolism: J Cell Physiol. 04 March 2013; volume 228, pages 1703–1712

17. Zimmermann, H. Extracellular metabolism of ATP and other nucleotides. Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol 2000; 362:299–309

18. Picher M, Burch LH, Hirsh AJ, Spychala J, Boucher RC. Ecto 5′-nucleotidase and nonspecific alkaline phosphatase. Two AMP-hydrolyzing ectoenzymes with distinct roles in human airways. J. Biol. Chem 2003; 278:13468–134 79.

19. Luca Antonioli, Corrado Blandizzi, Balázs Csóka, Pál Pacher, György Haskó. Adenosine signalling in diabetes mellitus—pathophysiology and therapeutic considerations. Nature Reviews Endocrinology 2015; volume11, pages228–241

20. Milka Koupenova, Hillary Johnston-Cox, Alexander Vezeridis, Haralambos Gavras, Dan Yang, Vassilis Zannis, et al. A2b Adenosine Receptor Regulates Hyperlipidemia and Atherosclerosis: American Heart Association 2012; 125:354-363

21. Ming Yang, Ruth Chu, Jehhery w. Chisholm, Holger Doege, Luzi Belardineli, Arvinder K,Dhalla. Adenosine A1 receptor do not play a major role in the regulation of lipogenic gene expression in hepatocytes: Eur .J. Pharmacology, 2012; 683: 332-339

22- Frank M Sacks, George A. Bary, Vincent j. Cary, Steven R. Smith, Donna H. Ryan, Stephen D.Anton, et al. Comparison of weight-loss Diet with Different composition of Fat, Protein, and Carbohydrate:N Engl Med, 2009; 360 (9): 859-873

23. Leandr CG, Levada A C, Hirabara S M, Manhães-de-Castro R A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption: Journal of Strength and Conditioning Research, 2007; 21(3), 751

24. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi C V. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. Journal of Applied Physiology 1979; 47(6), 1278-1283.

25. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. Sci Rep. 2017; 7: 204

26. Sudha B. Biddinger, Katrine Almind, Makoto Miyazaki, Efi Kokkotou, James M. Ntambi, et al. Effects of Diet and Genetic Background on Sterol Regulatory Element–Binding Protein-1c, Stearoyl-CoA Desaturase 1, and the Development of the Metabolic Syndrome: DIABETES 2005; 54(5): 1314-1323.

27. Peng Z, Pier Borea A, Wilder T, Yee H, Chiriboga L, Michael R, et al. Adenosine signaling contributes to ethanol-induced fatty liver in mice: J. Clin. Invest 2009; 119, 582–594

28. Crabb DW, Liangpunsakul S. Alcohol and lipid metabolism. J. Gastroenterol.Hepatol 2006; 21 (Suppl. 3), S56–S60.

29. Purohit V, Gao B, Song BJ. Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. Alcohol. Clin. Exp. Res 2009; 33, 191–205.

30. Qin S, Yin J, Huang K. Free Fatty Acids Increase Intracellular Lipid Accumulation and Oxidative Stress by Modulating PPARα and SREBP-1c in L-02 Cells. Lipids. 2016 Jul;51(7):797-805.

31. Dixon AK, Gubitz AK, Sirinathsinghji DJ, Richardson PJ, Freeman TC. Tissue distribution of adenosine receptor mRNAs in the rat. Br. J. Pharmacol. 1996 ;18, 1461–68

32. Sylvie Duflot, Barbara Riera, Sonia Fernández-Veledo, Vicent Casadó, Robert I. Norman, F. Javier Casado, et al. ATP-sensitive K(+) channels regulate the concentrative adenosine transporter CNT2 following activation by A(1) adenosine receptors: Mol. Cell. Biol 2004; 24, 2710-2719.

33. Cho J, Lee I, Kim D, Koh Y, Kong J, Lee S, Kang H. Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice: J Exerc Nutr. Biochem 2014; 18(4):339-346

34. Weston M, Taylor KL, Batterham AM, Hopkins WG. Effects of Low-Volume High-Intensity Interval Training (HIT) on Fitness in Adults: A Meta-Analysis of Controlled and Non-Controlled Trials. Sports Med. 2014;44(7):1005–17.

35. Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjae S, Khakdan S. High-intensity interval training (HIIT) alleviated NAFLD feature via miR-122 induction in liver of high-fat high-fructose diet induced diabetic rats. Arch Physiol Biochem. 2018 Oct; 13:1-8

36. Oh S, Shida T, Yamagishi K, Tanaka K, So R, Tsujimoto T, Shoda J. Moderate to vigorous physical activity volume is an important factor for managing nonalcoholic fatty liver disease: a retrospective study. Hepatology. 2015 Apr; 61(4):1205-15.

37. Moon H, Song P, Choi C, Ryu S, Suh P. Involvement of exerciseinduced macrophage migration inhibitory factor in the prevention of fatty liver disease. Journal of Endocrinology 2013; 218(3), 339-348.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]

The Effect of Aerobic Training and Adenosine on the Expression of SREBP-1C and A1 Receptor in Hepatic Fat-fed Rats

Hedayati katooli A[1], Azarbayjani M.A[2],Banaeifar A[3], Arshadi S[4]*

1- Ph.D. student, Dept of Sport Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*2-*Corresponding author: Professor, Dept. of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University,Tehran, Iran. Email:* m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

3- *Associate Prof., Dept of Sport Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.*

4- *Assistant Prof., Dept of Sport Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.*

Received 6 Sept, 2018 **Accepted 9 Dec, 2018**

Background and Objectives: Few studies have examined so far the effect of adenosine receptors' injection and its downstream pathway on the liver's fat metabolism. The aim of this study was to investigate the type of aerobic exercise and adenosine on the expression of sterol regulatory binding protein 1c SREBP-1c and the adenosine receptor A1 in the liver in the rats fed with high-fat foods.

Materials and Methods: Forty rats were randomly divided into eight groups: control of standard diet, high fat diet, high fat diet and placebo, high fat diet and Adenosine injection, high fat diet+high-intensity interval training (HIIT) and adenosine injection, high fat diet+HIIT and placebo, high fat diet+aerobic training and adenosine injection, high fat diet+aerobic training, and placebo. The subjects received 13 weeks of high-fat diet in the first stage. In the second stage, they trained for 12 weeks each week for 5 sessions. An analysis of one-way independent variance was used to analyze the data in the diet groups, and two-way analysis of variance was used to determine the effect of exercise interaction and adenosine. Real time PCR was used to determine the expression of genes.

Results: SREBP1-c and A1 gene increased significantly in fatty diet (P=0.016, and P=0.019, respectively), HIIT and aerobic training had a significant effect on the reduction of SREBP1-c and A1 gene expression (P=0.003, and P=0.001, respectively). SREBP1-c and A1 in the adenosine injection group had a significant decrease (P=0.004, and P=0.002, respectively). The interaction of endurance training-adenosine had a significant decrease in the expression of A1 (P=0.004) comparing to HIIT-Adenosine training (P=0.019).

Conclusion: Regardless of the intensity of exercise as an effective factor in the expression of lipogenesis genes, the adenosine dosage with increasing or decreasing its receptor (A1) following consumption of a high fat diet may have a significant role in the lipogenic expression of genes.

Keywords: Aerobic exercise, High-intensity interval training (HIIT), SREBP1-c, Adenosine-A1 receptor, High fat diet

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-05-23]