اثر نوع تمرین بر نشانگران آپوپتوز هپاتوسیتی در رت‌های تغذیه شده با غذای پرچرب

امید یعقوب پوریکانی[1]، محمدعلی آذربایجانی*[2]، مقصود پیری[2]، پروین فرزانگی[3]

۱- دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

۲- استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

۳- دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، مازندران، ایران.

یافته / دوره نوزدهم / شماره ۵ / زمستان ۹۶ / مسلسل ۷۴

چکیده

دریافت مقاله: ۹۶/۸/۱۳ پذیرش مقاله: ۹۶/۱۰/۱۰

مقدمه: اثرات ضد التهابی و ضد آپوپتوتیک فعالیت بدنی مشخص شده است و اثربخشی آن وابسته به شدت، مدت و نوع می‌باشد. چون چاقی به عنوان التهاب خفیف مزمن در نظر گرفته می‌شود، منطقی است آسیب‌های دژنراتیو بافتی به ویژه در کبد به عنوان مرکز متابولیسم رخ دهد. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر دو نوع تمرین هوازی (استقامتی و تناوبی شدید) بر نشانگران آپوپتوز هپاتوسیتی در رت‌های تغذیه شده با غذای پرچرب بود.

مواد و روش‌ها: در یک کارآزمایی تجربی، ۲۸ سر رت نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در چهار گروه کنترل نرمال، کنترل- غذای پرچرب، غذای پرچرب-تمرین استقامتی، غذای پرچرب-تمرین شدید تناوبی قرار گرفتند. در مرحله اول به مدت ۱۳ هفته آزمودنی‌ها غذای پرچرب دریافت نمودند. پس از آن به مدت ۱۲ هفته، هفته‌ای ۵ جلسه به تمرین پرداختند. در پایان دوره، پس از بیهوشی بافت کبد جهت سنجش بیان ژن‌های مسیر آپوپتوز برداشته شد.

یافته‌ها: تمرین با شدت بالا موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن BAX شد (P=۰/۰۱)، در حالی که اثر معنی‌داری بر بیان ژن Bcl-2 نداشت (P=۰/۰۶). تمرین شدید تناوبی در مقایسه با تمرین استقامتی با شدت متوسط موجب افزایش در نسبت BAX/Bcl-2 شد. الگوی تغییرات Caspase-9 نیز مشابه تغییرات نسبت BAX/Bcl-2 بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد، اثر فعالیت بدنی بر مسیر آپوپتوز هپاتوسیتی وابسته به نوع و شدت آن می‌باشد. لذا توصیه می‌گردد از تمرینات استقامتی با شدت متوسط برای حفاظت کبد از آسیب‌های ناشی از تغذیه با غذای پرچرب استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، BAX، BCL-2، CASPASE-9.

*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، دانشکده تربیت بدنی،گروه فیزیولوژی ورزشی.

پست الکترونیک: m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

مقدمه

افزایش روند چاقی به عامل اصلی تهدیدکننده سلامتی تبدیل شده و با وجود انجام مطالعات متعدد جهت یافتن راهکاری مطمئن برای پیشگیری یا درمان، شیوع آن همچنان رو به افزایش است (۱). شواهد زیادی وجود دارد که الگوی زندگی به ویژه فعالیت بدنی (۲) و رژیم غذایی (۳) نقش مهمی در وقوع چاقی و عوارض منفی همراه با آن مانند سرطان (۴) سرعت رسیدن به سالمندی (۵) و بیماری‌های قلبی عروقی (۶،۷) دارند. با این وجود مکانیسم اصلی ایجاد چاقی و مشکلات پاتولوژیک ناشی از آن به خوبی معلوم نیست و از بین درمان‌های غیر دارویی متداول برای مهار چاقی، توجه ویژه‌ای به کاهش انرژی دریافتی و افزایش مصرف انرژی به شکل فعالیت بدنی شده است (۸). بر این اساس شواهدی وجود دارد که تمرینات پیوسته هوازی با شدت کم تا متوسط و حجم بالا می‌تواند موجب سازگاری‌های متعددی در سیستم‌های قلبی عروقی و متابولیکی شده و به واسطه توسعه اکسیداسیون اسیدهای چرب، موجب کاهش توده چربی گردد (۹). در شرایط مصرف غذای پرچرب، تری‌گلیسرید در سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها تجمع غیرطبیعی یافته و استئاتئوز کبدی را به وجود می‌آورند (۱۰) در صورت تداوم این وضعیت، فرد از استئاتئوز به NASH انتقال یافته که مرحله بحرانی در پاتوژنز آسیب‌های کبدی ناشی از چاقی می‌باشد (۱۱) اگرچه مکانیسم اصلی پاتوژنز آسیب‌های کبدی در شرایط دریافت غذای پرچرب به خوبی معلوم نیست، اما به نظر می‌رسد التهاب کبدی و بروز مقاومت به انسولین در شرایط چاقی بسیار رایج بوده و با استئاتئوز کبدی همراه است. بر این اساس شیوع استئاتئوز کبدی در افراد چاق در حدود ۷۵ درصد گزارش شده که نزدیک به ۳۵ درصد آن منجر به NASH می‌شود (۱۰) این یافته نشان می‌دهد چاقی از ریسک فاکتورهای کلیدی در توسعه اختلالات کبدی بوده (۱۲) و توسعه آپوپتوز کاندیدای اصلی توجیه مولکولی این پدیده می‌باشد (۱۵-۱۳). با این‌که آپوپتوز شکلی از مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی بوده و تحت شرایط فیزیولوژیکی در حفظ هومئوستاز بافتی مشارکت دارد، با این وجود در وضعیت‌های پاتوفیزیولوژیکی معین، از قبیل کبد چرب (NAFLD) میزان آن از حدود طبیعی فراتر می‌رود (۱۶). وقوع آپوپتوز در هپاتوسیت‌ها اغلب در شرایط التهاب کبدی ناشی از چاقی، در مدل‌های حیوانی گزارش شده است (۱۷). درنتیجه مهار آپوپتوز هپاتوسیت‌ها، استراتژی مهمی در درمان کبد و التهاب‌های ناشی از آن می‌باشد (۱۸). لازم به ذکر است در شرایط چاقی غلظت فاکتور نکروز دهنده آلفا (TNF-α) افزایش می‌یابد (۱۹). TNF-α با قرار گرفتن بر گیرنده خود در سطح سلول کبدی، مجموعه‌ای از آبشار سیگنالینگ را تحریک نموده که می‌توان به فعال شدن کاسپاز-۸، رهایی کتپسین B، اختلالات میتوکندریایی اشاره نمود (۲۰). حاصل این پدیده، فعال شدن کاسپاز-۳ به عنوان آخرین بازیگر مسیر آپوپتوز می‌باشد (۲۱). شواهدی وجود دارد که پروتئین BCL-2 از طریق تنظیم نفوذپذیری غشاء خارجی میتوکندری، رهایش سیتوکروم C را کنترل نموده و قادر به مهار روند آپوپتوز می‌شود (۲۲). همچنین مطالعات نشان داده که تمرین جسمانی می‌تواند آپوپتوز را از طریق القاء سیگنالینگ مسیر ذاتی آنتی آپوپتوتیک BCL-2 تنظیم نماید (۲۳). یکی از این راه‌ها، انجام تمرینات بدنی است. گزارش شده است که فعالیت بدنی به عنوان یک کنترل‌گر برون‌زاد، متابولیسم لیپید کبدی را از طریق توسعه بتا اکسیداسیون و مهار لیپوژنز تنظیم می‌نماید. در این شرایط امکان بهبود التهاب کبدی، تکثیر و مرگ سلولی از طریق تعدیل سایتوکاین‌ها، هورمون‌ها و فاکتورهای رشد میسر شده و مسیرهای متابولیکی کبدی تنظیم می‌گردد (۲۴،۲۵). از آنجایی‌که اثرات تمرینات بدنی تابعی از شدت، مدت، تواتر و نوع آن است، نتایج

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

مطالعات موجود در این حیطه از تناقض‌های زیادی برخوردار می‌باشد. لذا این مطالعه در نظر دارد اثر افتراقی دو نوع تمرین هوازی (استقامتی و تناوبی شدید) بر نشانگران آپوپتوز هپاتوسیتی در رت‌های تغذیه شده با غذای پرچرب را مورد بررسی و آزمون قرار دهد.

مواد و روش‌ها

جامعه مورد مطالعه

در یک کارآزمایی تجربی، ۲۸ سر موش نر صحرایی نژاد ویستار با میانگین سن ۶-۵ هفته و وزن اولیه ۴±۱۲۸ گرم از انستیتو پاستور آمل خریداری شده و به طور تصادفی در چهار گروه و بر اساس همسان‌سازی وزنی در محدوده ۱۳۰ گرم شامل: کنترل نرمال-رژیم غذایی نرمال، کنترل-غذایی پرچرب، غذای پرچرب-تمرین استقامتی، غذای پرچرب-تمرین شدید تناوبی قرار گرفتند. تمامی رت‌ها در شرایط مناسب آزمایشگاهی و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با میانگین دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این مطالعه در دو مرحله شامل چاق کردن و مرحله تمرین اجرا شد. پس از انتقال رت‌ها به آزمایشگاه ابتدا یک هفته، جهت سازگاری با محیط جدید از رژیم غذایی نرمال استفاده شد. آزمودنی‌ها در قفس پلی‌کربنات شفاف به طول ۳۰، عرض و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، نگهداری شدند. غذای آزمودنی‌ها از شرکت خوراک دام‌پرور کرج تهیه شدند. به ازای هر ۱۰۰ گرم از وزن موش، ۵ گرم غذا بر اساس وزن‌کشی هر هفته‌یکبار، در قفس داده شد. در این پژوهش آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنها قرار داده شد. لازم به ذکر است این مطالعه بر طبق راهنمای اخلاقی پژوهش بر حیوانات مصوب شورای سیاست‌گذاری وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی طراحی و اجرا گردید.

ترکیبات رژیم غذایی پرچرب

جیره‌ی غذایی پرچرب با ترکیبات ۴۰٪ چربی (۲۰٪ روغن سویا و ۲۰٪ چربی حیوانی)، ۱۳٪ پروتئین و ۴۷٪ کربوهیدرات تهیه شد و طی ۱۳ هفته تمامی ۲۸ سر موش صحرایی از این رژیم استفاده کردند. پس از رسیدن به معیارهای چاقی مرحله‌ی تمرین با رعایت رژیم غذایی پرچرب ادامه پیدا کرد.

پروتکل تمرین هوازی در دو سطح

ابتدا یک هفته تمرین به عنوان مرحله آشنایی با نوار گردان (با سرعت‌های ۶، ۸ و ۱۰ متر بر دقیقه) انجام شد. در این تحقیق ملاک رسیدن به واماندگی دستیابی به حداکثر سرعت قرار گرفت بعد از ۲۰-۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت، سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یکبار به میزان ۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه افزایش یافت تا رت‌ها به واماندگی رسیدند. پس از به دست آوردن میانگین حداکثر سرعت در تمامی رت‌های گروه‌های تمرینی، ۸۵ درصد حداکثر سرعت برای گروه غذای پرچرب به همراه تمرینات تناوبی شدید و ۶۵ درصد حداکثر سرعت ارزیابی شده برای گروه غذای پرچرب به همراه تمرینات استقامتی در هفته اول ثبت شد (۲۶،۲۷) مرحله سرد کردن نیز شامل ۱ دقیقه دویدن با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بود. برنامه اصلی نیز شامل دو سطح تمرینی بود که در پروتکل تمرین استقامتی با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه در هفته‌ی اول شروع شد و به تدریج به سرعت ۲۵ متر بر دقیقه و به مدت ۳۱ دقیقه در هفته‌ی ۱۲ رسید در پروتکل تمرین شدید تناوبی با سرعت ۳۱ متر بر دقیقه و ۷ تلاش یک دقیقه‌ای و یک دقیقه استراحت با سرعت ۱۵ متر در دقیقه در هفته اول شروع شد و به تدریج به سرعت ۵۵ متر بر دقیقه و ۱۰ تلاش یک دقیقه‌ای و یک دقیقه استراحت با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه در هفته

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

دوازدهم رسید. لازم به ذکر است رت‌ها هفته‌ای پنج جلسه به فعالیت پرداختند.

سنجش نشانگران مسیر آپوپتوز (بافت برداری و تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی)

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و ۸ ساعت ناشتایی رت‌ها، از هر گروه ۵ سر رت به طور تصادفی جهت بافت برداری کبد انتخاب و از طریق تزریق داخل صفاقی کتامین-زیلازین بیهوش شدند. بافت کبد (قسمت تحتانی لوب راست) به سرعت جدا شده و در داخل میکروتیوب قرار گرفته و در نیتروژن مایع قرار داده شد. بافت منجمد شده در فریزر ۸۰- درجه نگهداری و به‌منظور آنالیز و سنجش ژنی به آزمایشگاه فرستاده شد. جهت سنجش تعداد کپی‌های ژن‌های هدف و مرجع از روش مقایسه‌ای سیکل آستانه استفاده شد. این روش برای آنالیز بیان نسبی ژن‌ها به‌طور گسترده استفاده می‌شود. در این روش فرض بر این است که هم ژن موردنظر و هم ژن رفرنس با کارایی نزدیک به ۱۰۰ درصد (با ۵ درصد اختلاف) درون دستگاه PCR تکثیر می‌شوند. پیش از این روش لازم است که فرض ۱۰۰ درصد بودن کارایی دستگاه برای ژن‌های موردنظر و ژن رفرنس با کارایی نزدیک به ۱۰۰ درصد آزمون گردد. به این منظور می‌توان از فرمول‌های زیر تفاوت در بیان ژن‌های موردنظر و ژن رفرنس را تعیین نمود.

در این روش، 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 نرمال را که به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شده، از ΔCT نمونه‌های گروه‌های دیگر کم نموده تا ΔΔCT حاصل گردد:

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

درنهایت میزان این اختلاف با نسبت ژن هدف به ژن مرجع برابر است با:

$\text{Target gene/Referense gene ratio} = 2^{-\Delta\Delta CT}$

استخراج mRNA و ساخت cDNA

جداسازی RNA

جداسازی RNA با به کار بردن کیت (QIAGEN RNeasy Mini Kit (50)) به شماره کاتالوگ ۷۴۱۰۴ طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

ساخت cDNA

از کیت QuantiTect Reverse Transcription Kit cDNA synthesis (Qiagen) برای ساخت cDNA طبق دستورالعمل شرکت سازنده به صورت زیر استفاده شد:

Real Time PCR

برای اندازه‌گیری میزان بیان ژنی از دستگاه (Thermal BIO RAD (C1000™ Cycler) استفاده شد. برنامه زمانی- گرمایی دستگاه در سه مرحله انجام شد. مرحله اول که منجر به دناتوره شدن مولکول‌های DNA و فعال شدن آنزیم پلی‌مراز شد، به صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دوم ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای ۴۵ سیکل متوالی و مرحله‌ی نهایی جهت ترسیم منحنی تفکیک (Dissociation Curve) یا منحنی ذوب به صورت ۵۵ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد، با افزایش ۰/۵ درجه در مدت ۵ ثانیه انجام شد. واکنش‌های Real-Time PCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر در پلیت‌های ۹۶ چاهکی انجام شدند.

در این مطالعه از ماده‌ای با رنگ فلوئورسنت سبز به نام SYBR-Green استفاده شد که قادر است در میان شیار کوچک مولکول DNA دو رشته‌ای قرار گرفته و نور فلوئورسنت منتشر کند. میزان تولید نور فلوئورسنت، نسبت مستقیم با میزان تولید محصول PCR دارد.

برای ژن‌های مورد مطالعه، آغازگرهای اختصاصی طراحی گردید و توسط شرکت سیناکلون (Sinaclon) سنتز شد و پس از رقیق‌سازی بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده مورد استفاده قرار گرفت.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

برای هر یک از نمونه‌ها چرخه آستانه (Ct) در دستگاه Real Time PCR تعیین شد. بیان ژن GAPDH به عنوان رفرنس استفاده شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها از روش $^{-\Delta\Delta CT}$ ۲ استفاده شد.

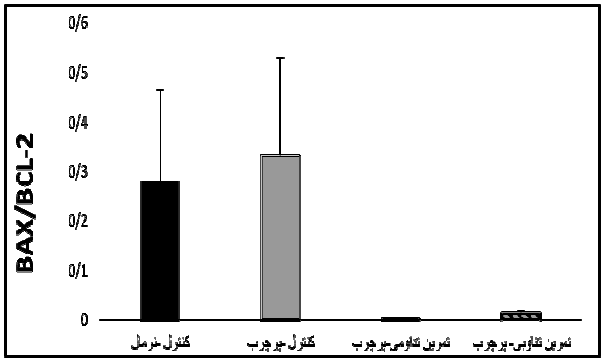
تجزیه و تحلیل آماری

تمام اطلاعات در متن و اشکال بر اساس میانگین و انحراف معیار گزارش شده است. جهت آزمون اثر دو نوع دستورالعمل تمرینی، از تحلیل یک راهه واریانس برای گروه‌های مستقل استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار، جهت تعیین منشاء تفاوت بین گروهی، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات P=۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

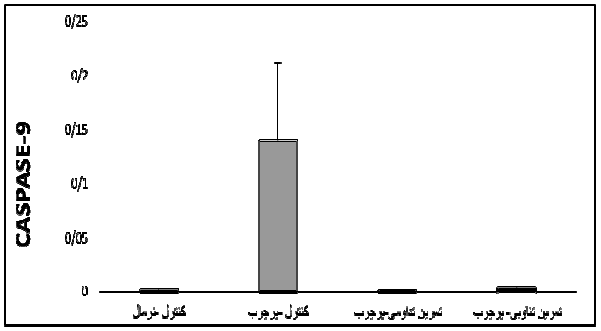
یافته‌ها

بیان نسبت ژن BAX/BCL2 در گروه تمرین شدید تناوبی-غذای پرچرب بیش از گروه تمرین متوسط استقامتی-غذای پرچرب بود (P=۰/۰۴). میزان این نسبت در گروه کنترل- غذای پرچرب به طور معنی‌داری بیشتر از گروه تمرین شدید تناوبی- غذای پرچرب (P=۰/۰۱۱) و گروه تمرین متوسط استقامتی-غذای پرچرب بود (P=۰/۰۰۹) (نمودار ۱). بیان ژن BAX به طور معنی‌داری در گروه کنترل- غذای پرچرب بیشتر از گروه کنترل- غذای نرمال بود (P=۰/۰۰۱). از طرف دیگر بیان این ژن در تمام گروه‌ها به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل غذای پرچرب بود (P=۰/۰۰۱). میزان بیان ژن BAX در گروه تمرین شدید- غذای پرچرب به طور معنی‌داری بیشتر از گروه تمرین متوسط استقامتی- غذای پرچرب بود (P=۰/۰۳). میزان بیان ژن BCL-2 در گروه تمرین تناوبی شدید-غذای پرچرب بیشتر از گروه کنترل- غذای پرچرب بود (P=۰/۰۱۶). تفاوتی در میزان بیان ژن BCL2 بین دو گروه تمرینی مشاهده نشد (P=۰/۰۸).

در خصوص CASPASE-9 بین دو گروه تمرینی تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (P=۰/۱۲۴). میزان بیان ژن CASPASE-9 در گروه کنترل غذای پرچرب به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل نرمال بود (P=۰/۰۰۱) (نمودار ۲).



نمودار ۱. نسبت بیان ژن BAX/BCL2



نمودار ۲. بیان ژن CASPASE-9

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد دوازده هفته تمرین هوازی در رت‌های تغذیه شده با غذای پرچرب با توجه به نوع و شدت تمرین می‌تواند اثرات متفاوتی بر نشانگران آپوپتوز هپاتوسیتی داشته باشد. تاکنون تحقیقات محدودی درباره نقش تمرینات جسمانی بر بیان ژن‌های تنظیم‌گر مسیر آپوپتوز در هپاتوسیت‌ها انجام شده که این مطالعه می‌تواند اطلاعات با ارزشی در ارتباط با تأثیر نوع تمرین جسمانی بر مکانیسم‌های مهاری یا تحریکی نشانگران آپوپتوز کبدی را نشان دهد.

مهمترین یافته این مطالعه نشان داد، شدت تمرین عامل مهمی برای تحریک آپوپتوز بوده چرا که بیان ژن پروآپوپتوز BAX و همچنین CASPASES-9 در بین دو گروه تمرینی، در گروهی که تمرین شدید و تناوبی انجام

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

داده بود، افزایش بیشتری اما غیر معنی‌دار داشته، در حالی که تفاوتی در میزان بیان ژن آنتی آپوپتوز BCL-2 بین دو گروه تمرینی مشاهده نشد. همچنین غذای پرچرب به تنهایی خود موجب تحریک و توسعه روند آپوپتوز هپاتوسیتی گشت که تمرین جسمانی توانست موجب تعدیل و کاهش این روند گردد. اگرچه کاهش این روند از نظر آماری مستقل از نوع تمرین بود، اما از نظر فیزیولوژیکی تمرین استقامتی متوسط بهتر از تمرین شدید تناوبی روند آپوپتوز را تنظیم نمود که گواه این ادعا افزایش بیشتر اما غیر معنی‌دار پروآپوپتوز کاسپاز ۹ در گروه تمرین تناوبی شدید بود.

همان‌طور که پژوهش‌ها نشان می‌دهد در شرایط چاقی میوسیت‌ها و ادیپوسیت‌های مملو از چربی، مقاوم به سیگنالینگ انسولین می‌شوند، بنابراین منجر به هایپرگلیسیمیا، هایپرلیپیدمیا و ذخیره چربی در بافت‌های غیرچربی از قبیل عضله و کبد شده، افزایش چربی درونی سیگنالینگ انسولین در کبد را تضعیف نموده و گلوکونئوژنز کبدی را سرعت می‌بخشد (۲۸). علاوه بر آن میانجی‌های التهابی شامل سایتوکاین‌ها، ادیپوکاین‌ها و اسیدهای چرب در شرایط چاقی افزایش یافته و التهاب کبدی و به دنبال آن آپوپتوز نابجا را به وجود آورده که حاصل آن توسعه استئاتئوز کبدی می‌باشد. ابتلا به استئاتئوز، ترشح سایتوکاین‌های التهابی و گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر، همگی ماشه آبشار آپوپتوتیک می‌باشد (۲۹). در مطالعه حاضر افزایش بیان ژن‌های آپوپتوتیک در شرایط چاقی دلیلی برای فعال شدن روندهای بالادستی مذکور می‌باشد.

سلول‌ها حساس به آسیب میتوکندریایی و آسیب آپوپتوتیک، سلول‌هایی هستند که اسیدهای چرب آزاد در آنها موجب بروز آپوپتوز می‌گردد (۳۰). افزایش بیش از حد اسیدهای چرب آزاد می‌توانند مسیر لیزوزومی مرگ سلولی را فعال نموده، همچنین می‌توانند مسیر ذاتی آپوپتوز را از طریق فعال‌سازی BAX تحریک کنند و منجر به نفوذپذیری غشاء میتوکندریایی، رهایی سیتوکروم C و فعالیت کاسپاز-۹ شوند. از این رو لیپوآپوپتوز وابسته به چاقی به‌طور معناداری توسط فعالیت پروآپوپتوتیک BAX تنظیم شده (۳۱) و به نظر می‌رسد گام مهمی در فعال شدن BAX، نفوذپذیری غشای میتوکندری و فعال‌سازی فاز اجرایی فرایند آپوپتوتیک همراه با فعال شدن کاسپاز ۳ و ۹ باشد (۳۲). در این بین به نظر می‌رسد مهار آپوپتوز هپاتوسیت‌ها استراتژی مهمی در درمان التهابات کبدی ناشی از چاقی بوده و مشخص شده تمرینات جسمانی به‌طور مؤثری آپوپتوز در مدل‌های حیوانی را کاهش می‌دهد (۱۷) حتی نشان داده شده تمرینات جسمانی آپوپتوز وابسته به میتوکندری را مهار می‌کند (۳۳). مارکرهای آپوپتوتیک هپاتوسیت پس از راه رفتن روی تردمیل در افراد چاق با NAFLD تا حد بسیار زیادی کاهش می‌یابد (۳۴). به نظر می‌رسد تمرین هوازی آپوپتوز هپاتوسیتی را از طریق افزایش سطح P-AKT، کاهش داده و در طولانی مدت، موجب اتوفاژی حفاظتی کبدی شده که بیشتر متابولیسم لیپید را از طریق لیپوفاژی، تنظیم استرس اکسیداتیو (افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی)، مهار التهاب کبد (کاهش میانجی‌گرهای التهابی) و مهار آپوپتوز از طریق مسیرهای وابسته به CASPASE 9 تنظیم می‌کند (۳۴). پروتئین‌های دیگری ممکن است که به فرم فعال BAX در میتوکندری متصل شوند، از این رو الیگومریزاسیون BAX و متعاقب آن از رهایی سیتوکروم C جلوگیری می‌کنند که یکی از این پروتئین‌ها BCL-2 می‌باشد. گزارش شده تمرین به همراه تغذیه با غذای کم‌چرب علاوه بر کاهش سطوح MDA و افزایش سطح گلوتاتیون، موجب تعادل در سطوح BCL-2 می‌گردد (۳۵).

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، اجرای تمرین هوازی با شدت متوسط موجب کاهش بیان ژن

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

پروتئین‌های فعال‌کننده آپوپتوز در هپاتوسیت‌ها شده و از طریق کاهش نسبت BAX/BCL-2 و به دنبال آن کاهش آپوپتوز ناشی از دریافت غذای پرچرب، اثر محافظتی بر هپاتوسیت‌ها اعمال می‌نماید. بر این اساس توصیه می‌شود در شرایط دریافت غذای پرچرب بهتر است از تمرینات تداومی با شدت متوسط استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه مقطع دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی تصویب و اجرا شده است. در پایان نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات بنیادی علوم ورزشی و پزشکی مولکولی شهید میرغنی به منظور در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

References

1. Acheson KJ. Carbohydrate and weight control: where do we stand? Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2004; 7(4): 485-492.
2. Lott MP, Kriska A, Barinas-Mitchell E, Wang L, Storti K, Winger DG, et al. Impact of Life style Strategies on Longer-Term Physical Activity and Weight. J Phys Act Health. 2017; 19: 1-22.
3. Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Cause-specific excess deaths associated with underweight, overweight, andobesity. JAMA. 2007; 298(17): 2028-2037.
4. Bianchini F, Kaaks R, Vainio H. Overweight, obesity, and cancer risk. Lancet Oncol. 2002; 3(9): 565-574.
5. Hart CM, Cuvier O, Laemmli UK. Evidence for an antagonistic relationship between the boundary element-associated factor BEAF and the transcription factor DREF. Chromosoma. 1999; 108(6): 375-383.
6. Novelli G, Muchir A, Sangiuolo F, Helbling-Leclerc A, D'Apice MR, Massart C, et al. Bonne Mandibuloacral dysplasia is caused by a mutation in LMNA-encoding lamin A/C. Am J Hum Genet. 2002; 71(2): 426-431.
7. Duarte A, Hirashima M, Benedito R, Trindade A, Diniz P, Bekman E, et al. Dosage-sensitive requirement for mouse Dll4 in artery development. Genes Dev. 2004; 18(20): 2474-2478.
8. da Rocha GL, Crisp AH, de Oliveira MR, da Silva CA, Silva JO, Duarte AC, et al. Effect of High Intensity Interval and Continuous Swimming Training on Body Mass Adiposity Level and Serum Parameters in High-Fat Diet Fed Rats. Sci World J. 2016; 2: 194-120.
9. Hawley JA. Specificity of training adaptation: time for a rethink. J Physiol. 2008; 586(1): 1-2.
10. Anderson N, Borlak J. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. Pharmacol Rev. 2008; 60(3): 311-357.
11. Wouters K, van-Gorp PJ, Bieghs V, Gijbels MJ, Duimel H, Lutjohann D, et al. Dietary cholesterol, rather than liver steatosis, leads to hepatic inflammation in hyperlipidemic mouse models of nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2008; 48(2): 474-486.
12. Adams LA, Angulo P. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. Postgraduate Med J. 2006; 82(967): 315-322.
13. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. Gastroenterology. 2003; 125: 437-443.
14. Ribeiro PS, Cortez-Pinto H, Sola S, Castro RE, Ramalho RM, Baptista A, et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappa B in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients. Am J Gastroenterol. 2004; 99: 1708-1709.
15. Singh R, Czaja MJ. Regulation of hepatocyte apoptosis by oxidative stress. J Gastroenterol Hepatol. 2007; 22(1): 45-48.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

16. Fealy CE, Haus JM, Solomon TP, Pagadala M, Flask CA, McCullough AJ, et al. Short-term exercise reduces markers of hepatocyte apoptosis in nonalcoholic. Appl Physiol. 2012; 113: 1-6.
17. Guo R, Liong EC, So KF, Fung ML, Tipoe GL. Beneficial mechanisms of aerobic exercise on hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2015; 14: 139-144.
18. Luo L, Lu AM, Wang Y, Hong A, Chen Y, Hu J, et al. Chronic resistance training activates autophagy and reduces apoptosis of muscle cells by modulating IGF-1 and its receptors, Akt/mTOR and Akt/FOXO3a signaling in aged rats. Exp Gerontol. 2013; 48: 427-436.
19. Sass G, Shembade ND, Haimerl F, Lamoureux N, Hashemolhosseini S, Tannapfel A, et al. TNF pretreatment interferes with mitochondrial apoptosis in the mouse liver by A20-mediated down-regulation of Bax. J Immunol. 2007; 179: 7042-7049.
20. Guicciardi ME, Deussing J, Miyoshi H, Bronk SF, Svingen PA, Peters C, et al. Cathepsin B contributes to TNF-alpha-mediated hepatocyte apoptosis by promoting mitochondrial release of cytochrome c. J Clin Invest. 2000; 106: 1127-1137.
21. Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. Nat Rev Mol Cell Biol. 2004; 5: 897-907.
22. Pollack M, Leeuwenburgh C. Apoptosis and Aging: Role of the Mitochondria. J Gerontology: Biol Sci. 2001; 56(11): 475-482.
23. Sinha-Hikim I, Sinha-Hikim AP, Shen R, Kim H, French SW, Vaziri ND, et al. A novel cystine based antioxidant attenuates oxidative stress and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. Exp Mol Pathol. 2011; 91: 419-428.
24. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Ragogna F, Ntali G, Esposito A, et al. Habitual physical activity is associated with intrahepatic fat content in humans. Diabetes Care. 2007; 30(3): 683-688.
25. Hannukainen JC, Nuutila P, Borra R, Kaprio J, Kujala UM, Janatuinen T, et al. Increased physical activity decreases hepatic free fatty acid uptake: A study in human monozygotic twins. J Physiology. 2007; 578(1): 347-358.
26. Iozzo P, Takala T, Oikonen V, Bergman J, Grönroos T, Ferrannini E, et al. Effect of training status on regional disposal of circulating free fatty acids in the liver and skeletal muscle during physiological hyperinsulinemia. Diabetes Care. 2004; 27(9): 2172-2177.
27. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. J Strength Cond Res. 2007; 21(3): 751-754.
28. Vallerie SN, Furuhashi M, Fucho R, Hotamisligil GS. A predominant role for parenchymal c-Jun amino terminal kinase (JNK) in the regulation of systemic insulin sensitivity. PLoS One. 2008; 3: e3151.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

29. Malhi H, Barreyro FJ, Isomoto H, Bronk SF, Gores GJ. Free fatty acids sensitise hepatocytes to TRAIL mediated cytotoxicity. Gut. 2007; 56: 1124-1131.
30. Wree A, Kahraman A, Gerken G, Canbay A. Obesity affects the liver the link between adipocytes and hepatocytes. Digestion. 2011; 83: 124-133.
31. Wang K, Molecular mechanisms of hepatic apoptosis. Cell Death Dis. 2014; 10: 1038-1042.
32. Chen M, Wang J. Initiator caspases in apoptosis signaling pathways. Apoptosis. 2002; 7: 313-319.
33. Fry CS, Drummond MJ, Glynn EL, Dickinson JM, Gundermann DM, Timmerman KL, et al. Skeletal muscle autophagy and protein breakdown following resistance exercise are similar in younger and older adults. J Gerontology: Biomed Sci Med Sci. 2012; 68(5): 599-607.
34. Kim DY, Jung SY, Kim CJ, Sung YH, Kim JD. Treadmill exercise ameliorates apoptotic cell death in the retinas of diabetic rats. Mol Med Rep. 2013; 7: 1745-1750.
35. Aguiar-e-Silva MA, Vechetti-Junior IJ, Nascimento AF, Furtado KS, Azevedo L, Ribeiro DA, et al. Effects of swim training on liver carcinogenesis in male Wistar rats fed a low-fat or high-fat diet. Appl Physiology, Nutr, Metab. 2012; 37(6): 1101-1109.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

Effect of type of training on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet

Yaghoobpour Yekani O*[*1], Azarbayjani MA[2], Peeri M[2] , Farzanegi P[3]

1. PhD of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Islamic Azad University, Central Branch, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Sport Physiology, Islamic Azad University, Central Branch, Tehran, Iran, m_azarbayjani@iauctb.ac.ir
3. Associate Professor, Department of Sport Physiology, Islamic Azad University, Sari Branch, Mazandaran, Iran

Received: *4 Nov 2017* **Accepted:** *31 Dec 2017*

Abstract

***Background*:**Anti-inflammation and anti-apoptotic effects of physical activity have been proven and its effectiveness depends on intensity, duration and type.
Since obesity is considered as a mild chronic inflammation, it is reasonable that the degenerative damages occurin tissues, especially in the liver as the center of metabolism. The aim of this study was to investigate the effect of two types aerobic training (endurance and high intensity interval training) on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet.
Materials and Methods: In an experimental trial, 28 male Wistar rats were randomly divided into four groups: control-normal diet, control-high fat diet, endurance training-high fat diet and high intensity training-high fat diet. In the first stage, rats were fed with high fat diet for 13 weeks.Then, they trained for 12 weeks, 5 sessions per week. At the end of the experimental period, the rats were anesthetized and the liver tissue was removed to evaluate the expression of regulatory genes in the pathway of apoptosis.
Results: High intensity training induced significant increase in the expression BAX gene(P=0.001) whereas, there was no significant effects on BCL-2 gene (p=0.06). High intensity training compared with endurance training caused an increase in BAX/ Bcl-2 ratio. Pattern of Caspase-9 changes was similar to the BAX/ BCL-2 ratio.
Conclusion: The results showed that the effect of physical activity on the pathway of hepatocytes apoptosis depends on the type and intensity of training. Therefore, it is recommended to use moderate endurance training to protect the liver from damage caused by high fat diet.
Keywords: Apoptosis, BAX, Bcl-2, Caspase- 9

Citation: Yaghoobpour Yekani O, Azarbayjani M, Peeri M , Farzanegi P. Effect of type of training on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet. Yafte. 2018; 19(5): 106-116.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]