



## The effect of aerobic training in hypoxia and normoxia conditions on the signaling pathway of lipogenesis and lipolysis in the liver of male rats fed a high-fat diet

Seyed Morteza Hosseini<sup>1</sup>, Hamid Mohebbi<sup>1,2</sup>, Hossein Ghafoori<sup>3</sup>, Mohammad Hosseine Rezadoost<sup>4</sup>

1. PhD Student in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
2. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
3. Associate Professor at Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
4. Assistant Professor at Department of Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

### Abstract

**Background and Aim:** The study of lipid formation and degradation in response to dietary and exercise stimuli may provide a better perspective for preventing and treating nonalcoholic fatty liver disease. Therefore, this study aims to investigate the effects of diet, exercise, and hypoxia on the molecular mechanisms related to lipid metabolism. **Materials and Methods:** A total of twenty-four male Wistar rats aged approximately five weeks with an average weight of 165.9±9.94 grams were randomly divided into four groups including normal diet (ND), high-fat diet (HFD), high-fat diet+exercise in normoxia (HFD+NE), and high-fat diet+exercise in hypoxia (HFD+HE). The maximal aerobic velocity (MAV) was determined under normoxic conditions (at an altitude of approximately 50 m) and hypoxic-hypobaric conditions (at an altitude of approximately 3000 m). Following this, considering overload, exercise sessions were conducted three times a week for a duration of 12 weeks at intensities ranging from 68 to 80 percent of MAV. At the end, tissue samples were collected to measure changes in the expression of *Srebf1*, *Chreb* and *Atgl* genes. Gene expression was measured using Real-Time PCR method and data were analyzed using ANOVA and Tukey tests at a significance level of p<0.05. **Results:** The results showed that in all groups receiving a HFD, liver fat content and expression of *Srebf1* and *Chreb*, genes were increased; whereas the increase in *Srebf1* and *Chreb* was greater in the HFD+HE group than in the other groups. Moreover, *Atgl* gene expression was lower in the HFD group than in other groups. **Conclusion:** A HFD apparently increases liver fat content by increasing lipogenesis and decreasing lipolysis. Exercise is thought to regulate the increase in liver fat content in rats on HFD by increasing the expression of lipolysis genes. Training probably plays a lesser role than diet in altering lipogenic genes expression than nutrition. Hypoxic training had no additional effect on reducing liver fat content.

**Keywords:** Hypoxia training, Non-alcoholic fatty liver, Gene expression of *Chrebp*, Gene expression of *Srebf1*, Gene expression of *Atgl*.

### Cite this article:

Hosseini, S.M., Mohebbi, H., Ghafoori, H., & Rezadoost, M.H. (2024). The effect of aerobic training in hypoxia and normoxia conditions on the signaling pathway of lipogenesis and lipolysis in the liver of male rats fed a high-fat diet. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 12(30), 8-26.

\* Corresponding Author, Address: Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht;

E mail: Mohebbi@guilan.ac.ir

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.6302.1785>





## اثر تمرین هوازی در شرایط هیپوکسی و نرموکسی بر مسیر پیام‌رسانی لیپوژنز و لیپولیز کبد رت‌های نر دارای رژیم غذایی پرچرب

سید مرتضی حسینی<sup>۱</sup>، حمید محبی<sup>۲\*</sup>، حسین غفوری<sup>۳</sup>، محمد حسن رضادوست<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دوره دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

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

۳. دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۴. استادیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

### چکیده

زمینه و هدف: بررسی شکل‌گیری و تجزیه لیپیدها در پاسخ به محرک‌های تغذیه‌ای و تمرینی، می‌تواند دیدگاه بهتری را نسبت به استراتژی پیشگیری و درمان کبد چرب غیرالکلی فراهم نماید. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثر تغذیه، تمرین و هیپوکسی بر مکانیسم‌های مولکولی فرآیند متابولیسم چربی کبد می‌باشد. روش تحقیق: تعداد ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار با سن تقریبی پنج هفته و میانگین وزن  $165/90 \pm 9/94$  گرم، به طور تصادفی به چهار گروه شامل رژیم غذایی نرمال (ND)، رژیم غذایی پرچرب (HFD)، رژیم غذایی پرچرب+تمرین در حالت نرموکسی (HFD+NE) و رژیم غذایی پرچرب+تمرین در حالت هیپوکسی (HFD+HE) تقسیم شدند. پس از تعیین حداکثر سرعت هوازی (MAV) در شرایط نرموکسی (ارتفاع  $50 \sim$  متر) و هیپوکسی - هیپو باریک (ارتفاع  $3000 \sim$  متر)، تمرینات با شدتی معادل ۶۸ تا ۸۰ درصد MAV به مدت ۱۲ هفته و تکرار سه جلسه در هفته، با رعایت اصل اضافه‌بار اجرا شدند. در پایان، نمونه‌های بافتی برای اندازه‌گیری تغییرات بیان ژن‌های *Atgl* و *Srebf1*، *Chreb* جمع‌آوری شد. بیان ژن‌ها با استفاده از روش Real-Time PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس و توکی در سطح معنی‌داری  $p < 0/05$  تجزیه و تحلیل شدند. یافته‌ها: در تمامی گروه‌های دارای HFD، محتوای چربی کبدی و بیان ژن‌های *Srebf1* و *Chreb* نسبت به گروه ND، افزایش داشت. میزان افزایش بیان ژن *Srebf1* و *Chreb* در گروه HFD+NE نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود؛ اما بیان ژن *Atgl* در گروه HFD نسبت به دیگر گروه‌ها، پایین‌تر بود. نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد HFD با افزایش لیپوژنز و کاهش لیپولیز، سبب افزایش محتوای چربی کبدی می‌شود. احتمالاً تمرین از طریق افزایش بیان ژن‌های لیپولیزی، میزان افزایش محتوای چربی کبد در رت‌های دارای HFD را تا حدودی کنترل می‌کند؛ اما در تغییر بیان ژن‌های لیپوژنزی نسبت به تغذیه، نقش کمتری دارد. به‌طور کلی تمرین در شرایط هیپوکسی، تأثیر مازادی بر کاهش محتوای چربی کبدی ندارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین در هیپوکسی، کبد چرب غیرالکلی، بیان ژن *Chreb*، بیان ژن *Srebf1*، بیان ژن *Atgl*.

## مقدمه

کبد یک اندام متابولیک کلیدی است که متابولیسم انرژی بدن را کنترل می‌کند. این بافت نقش محوری در فرآیندهای متابولیکی بافت‌های مختلف، از جمله عضلات اسکلتی و بافت چربی دارد. داده‌های اخیر نشان از آن دارد که رژیم غذایی پرکالری منجر به افزایش میزان تری‌گلیسرید<sup>۱</sup> (TG) کبدی می‌شود (اینر<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۱۹). از آنجا که بافت‌های بدن ظرفیت محدودی در ذخیره‌سازی چربی دارند، سرریز چربی ناشی از لیپولیز بافت‌ها در کبد، منجر به بروز لیپوتوکسیته<sup>۳</sup> می‌شود که نقش مهمی در پاتوژنز بیماری کبد چرب غیر الکلی<sup>۴</sup> (NAFLD) دارد (فوکس<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۱۴؛ نیوشواندر<sup>۶</sup>، ۲۰۱۰). به نظر می‌رسد تشکیل قطرات چربی<sup>۷</sup> (LDS) در برابر آسیب ناشی از لیپوتوکسیته کبد، جنبه محافظتی دارد (کیو<sup>۸</sup> و دیگران، ۲۰۱۹). با این وجود، ویژگی‌های ضد لیپوتوکسیته TG های ذخیره شده در LDS نیز می‌تواند به واسطه اسیدهای چرب آزاد شده از این منبع جدید، محدود شود. تجمع چربی در کبد به گونه‌ای که کل محتوای چربی کبد از پنج درصد تجاوز کند و در غیاب نوشیدن زیاد الکل، عفونت ویروسی و یا دیگر انواع بیماری‌های کبدی را در پی داشته باشد، به عنوان NAFLD تعریف می‌شود (هازلهورست<sup>۹</sup> و دیگران، ۲۰۱۶).

بیماری NAFLD یکی از رایج‌ترین بیماری‌های کبدی در کودکان و بزرگسالان محسوب می‌شود که میانگین شیوع آن در جوامع مختلف حدود ۲۵ درصد است (کیم<sup>۱۰</sup>، ۲۰۲۲). چاقی یا شاخص توده بدنی بالاتر، به صورت وابسته به دوز، ارتباط نزدیکی با NAFLD دارد (یونوسی<sup>۱۱</sup> و دیگران، ۲۰۲۰). اگرچه NAFLD ممکن است در هر سنی افراد را تحت تاثیر قرار دهد، اما چاقی دوران کودکی با نرخ بالاتر کبد چرب و به طور کلی، مرگ و میر بالاتر، همراه است (سیمون<sup>۱۲</sup> و دیگران، ۲۰۲۱). گزارش شده که NAFLD حدود ۸۸/۵ برابر بیشتر از سایر بیماری‌ها، سبب مرگ و میر کودکان می‌شود (سیمون و دیگران، ۲۰۲۱). مطالعات

شیوع NAFLD را در مردان بیشتر از زنان گزارش کرده‌اند (آنگولو<sup>۱۳</sup>، ۲۰۰۲).

هرچند که پاتوفیزیولوژی NAFLD به‌طور کامل مشخص نشده است، اما احتمالاً اختلال در متابولیسم گلوکز، اسیدهای چرب و لیپوپروتئین‌ها؛ می‌تواند در تجمع چربی سلول‌های کبدی نقش داشته باشند (سالیوان<sup>۱۴</sup>، ۲۰۱۰). گمان می‌رود که مسیر هدف راپامایسین در پستانداران<sup>۱۵</sup> (mTOR) یکی از تنظیم‌کننده‌های کلیدی در متابولیسم کبد است (چن<sup>۱۶</sup>، ۲۰۲۰). mTOR از طریق کنترل لیپوژنز و لیپولیز، متابولیسم کبد را کنترل می‌کند. مطالعات حاکی از آن است که فعالیت mTOR در کبد موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، افزایش می‌یابد (خمزینا<sup>۱۷</sup> و دیگران ۲۰۰۵). اعضای خانواده پروتئین اتصال به عنصر تنظیم‌کننده استرول<sup>۱۸</sup> (*Srebp*) یکی دیگر از تنظیم‌کننده‌های متابولیسم چربی محسوب می‌شوند. افزایش *Srebps* در برخی از اختلالات متابولیک از جمله چاقی، دیابت نوع دو، دیس‌لیپیدمی، و تصلب شراین نقش دارند و به نظر می‌رسد، mTOR نقش تنظیمی خود را در فرآیند متابولیسم بافت چربی، از طریق *Srebps* انجام می‌دهد (شیمانو و ساتو<sup>۱۹</sup>، ۲۰۱۷). لیپوژنز تا حد زیادی از طریق تنظیم رونویسی ژن‌های گلیکولیتیکی نیز کنترل می‌شود. پروتئین اتصال به عنصر پاسخ کربوهیدرات<sup>۲۰</sup> (*Chrebp*) یکی دیگر از ژن‌های کلیدی در مسیر متابولیسم گلوکز و چربی محسوب می‌شود (رینگر<sup>۲۱</sup> و دیگران، ۲۰۲۳). *Chrebp* از طریق تحریک بیان ژن‌های درگیر در فرآیند لیپوژنیک، متابولیسم چربی را کنترل می‌کند (ایزوکا<sup>۲۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۴). این ژن به مقادیر بیش از حد کربوهیدرات پاسخ می‌دهد و فرض بر این است که *Chrebp* توسط رژیم غذایی با گلوکز بالا، فعال می‌شود (کاواگوچی<sup>۲۳</sup> و دیگران، ۲۰۰۱). حذف سیستمی *Chrebp*، گلیکولیز و لیپوژنز کبدی را مهار می‌کند، بنابراین، در کبد موش‌های فاقد این ژن، گلوکز برای سنتز گلیکوژن استفاده می‌شود (ایزوکا و دیگران ۲۰۰۴). در موش‌های چاق سطوح *Chrebp*

1. Triglyceride
2. Einer
3. Lipotoxicity
4. Non fatty liver disease
5. Fuchs
6. Neuschwander
7. Lipid droplets
8. Qiu

9. Hazlehurst
10. Kim
11. Younossi
12. Simon
13. Angulo
14. Sullivan
15. Mammalian target of rapamycin
16. Chen

17. Khamzina
18. Sterol regulatory element binding protein
19. Shimano and Sato
20. Carbohydrate response element binding protein
21. Régnier
22. Iizuka
23. Kawaguchi

افزایش می‌یابد و حذف ژنتیکی آن، سبب کاهش محتوای چربی بافت کبد در موش‌های چاق می‌شود (دنتین<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۰۶؛ ایزوکا و دیگران، ۲۰۰۴). پژوهش‌ها دال بر آن هستند که رژیم غذایی پرچرب (HFD)، با افزایش بیان ژن *Srebp* و *Chrebp* همراه است. افزایش بیان این ژن‌ها با افزایش میزان چربی کبدی همراه است (بیک<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۲۰؛ سوک و شین<sup>۳</sup>، ۲۰۱۵).

تری‌گلیسیرید لیپاز بافت آدیپوز<sup>۴</sup> (*Atgl*) آنزیم محدود کننده سرعت لیپولیز است که اولین مرحله تجزیه TG به گلیسرول و اسیدهای چرب را کاتالیز می‌کند. فقدان *Atgl* سبب تجمع چربی در بافت‌های مختلف می‌شود (شوایگر<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۰۹). بر اساس نتایج، سرکوب *Atgl* کبد در موش‌ها، افزایش استاتوز کبدی را به دنبال دارد. علاوه بر این، سرکوب *Atgl* سبب کاهش ۵۰ برابری سطح دی‌آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز-۲<sup>۶</sup> و افزایش ۲/۷ برابری سطح mRNA لیپولیزوم<sup>۷</sup> سلول‌های کبدی می‌شود. این نتایج بیانگر آن است که سنتز TG به واسطه مهار دی‌آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز-۲، کاهش می‌یابد و تجزیه TG از طریق لیپوزوم به‌عنوان یک مکانیسم جبرانی بالقوه، حدود سه برابر افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که فقدان *Atgl*، سبب افزایش اندازه و تعداد قطرات چربی در هپاتوسیت‌ها می‌شود (وو<sup>۸</sup> و دیگران، ۲۰۱۱).

هیپوکسی<sup>۹</sup> یکی دیگر از عوامل اثر گذار بر مسیر پیام رسانی لیپولیز و لیپوژنز است. عدم تعادل بین عرضه اکسیژن و تقاضای متابولیک، سبب کمبود اکسیژن در سلول‌ها و بافت‌ها (هیپوکسی) می‌شود. این شرایط هم از نظر فیزیولوژیک (به عنوان مثال در حین فعالیت ورزشی شدید) و هم در شرایط پاتولوژیک (مانند سرطان، ایسکمی و بیماری‌های مرتبط با متابولیسم) مشاهده می‌شود. در شرایط هیپوکسی، سلول‌ها با تغییر در بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم، با هیپوکسی سازگار می‌شوند (میلونیس<sup>۱۰</sup> و دیگران، ۲۰۱۹). به عنوان مثال، در سلول‌های کبدی به منظور کاهش مصرف ATP در شرایط هیپوکسی، فرآیندهای

انرژی خواه، نظیر فرآیند سنتز مواد، سرکوب می‌شود (چوی<sup>۱۱</sup> و دیگران، ۲۰۰۸). برخی پژوهش‌ها نیز نشان داده که ارتفاع سبب کاهش آنزیم‌های کلیدی درگیر در فرآیند اکسیداسیون و مصرف چربی در عضله، کبد و قلب می‌شود (کندی<sup>۱۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۱). دیگر مطالعات افزایش لیپولیز و متعاقب آن، افزایش سطوح اسیدهای چرب را احتمالاً بخشی از منبع تأمین انرژی در شرایط هیپوکسی می‌دانند (او و لیتز<sup>۱۳</sup>، ۲۰۰۴). مطالعات مختلف بیانگر آن هستند که قرارگیری متناوب در معرض هیپوکسی، سبب بدتر شدن علائم کبد چرب می‌شود (ایزازا<sup>۱۴</sup> و دیگران، ۲۰۲۰). در مقابل، مطالعات دیگر نشان داده اند که هیپوکسی متابولیکی ناشی از مصرف الکل، از طریق القای اتوفاژی، در بهبود علائم کبد چرب، موثر است (کانینگهام<sup>۱۵</sup>، ۲۰۰۳؛ دینگ<sup>۱۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۱). اگرچه در درازمدت مصرف الکل به دلیل القای هم‌زمان میتوفاژی، می‌تواند آسیب کبدی را به دنبال داشته باشد (دینگ و دیگران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، یک مطالعه دیگر نشان داده که قرار گرفتن موش‌های دارای HFD (به مدت یک ساعت در روز، چهار هفته) در معرض هیپوکسی، افزایش اندازه سلول‌های چربی سفید و قهوه‌ای و کبد چرب ناشی از HFD؛ معکوس شده و سبب افزایش بیان ژن *Atgl* کبد می‌گردد (لو<sup>۱۷</sup> و دیگران، ۲۰۲۲).

مطالعات مختلفی نشان داده اند که تمرین در شرایط هیپوکسی در مقایسه با تمرین در شرایط نرموکسی<sup>۱۸</sup>، کاهش وزن بیشتری را به همراه دارد (یانگ<sup>۱۹</sup> و دیگران، ۲۰۲۰). تمرین در شرایط هیپوکسی، سبب تغییر در متابولیسم می‌گردد. در یک مطالعه نشان داده شده که چهار هفته تمرین در شرایط هیپوکسی، به طور معنی‌داری سبب افزایش تحمل گلوکز و افزایش سطح گلیکوژن کبد موش‌های چاق ناشی از HFD می‌شود؛ اما تغییر قابل توجهی در چرخه کربس ایجاد نمی‌کند. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که تمرینات هیپوکسی متابولیسم گلوکز کبد را در موش‌های چاق افزایش می‌دهد (وانگ<sup>۲۰</sup> و دیگران، ۲۰۱۹). یک مطالعه دیگر نشان داده که تمرینات

تری‌گلیسیرید لیپاز بافت آدیپوز<sup>۴</sup> (*Atgl*) آنزیم محدود کننده سرعت لیپولیز است که اولین مرحله تجزیه TG به گلیسرول و اسیدهای چرب را کاتالیز می‌کند. فقدان *Atgl* سبب تجمع چربی در بافت‌های مختلف می‌شود (شوایگر<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۰۹). بر اساس نتایج، سرکوب *Atgl* کبد در موش‌ها، افزایش استاتوز کبدی را به دنبال دارد. علاوه بر این، سرکوب *Atgl* سبب کاهش ۵۰ برابری سطح دی‌آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز-۲<sup>۶</sup> و افزایش ۲/۷ برابری سطح mRNA لیپولیزوم<sup>۷</sup> سلول‌های کبدی می‌شود. این نتایج بیانگر آن است که سنتز TG به واسطه مهار دی‌آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز-۲، کاهش می‌یابد و تجزیه TG از طریق لیپوزوم به‌عنوان یک مکانیسم جبرانی بالقوه، حدود سه برابر افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که فقدان *Atgl*، سبب افزایش اندازه و تعداد قطرات چربی در هپاتوسیت‌ها می‌شود (وو<sup>۸</sup> و دیگران، ۲۰۱۱).

هیپوکسی<sup>۹</sup> یکی دیگر از عوامل اثر گذار بر مسیر پیام رسانی لیپولیز و لیپوژنز است. عدم تعادل بین عرضه اکسیژن و تقاضای متابولیک، سبب کمبود اکسیژن در سلول‌ها و بافت‌ها (هیپوکسی) می‌شود. این شرایط هم از نظر فیزیولوژیک (به عنوان مثال در حین فعالیت ورزشی شدید) و هم در شرایط پاتولوژیک (مانند سرطان، ایسکمی و بیماری‌های مرتبط با متابولیسم) مشاهده می‌شود. در شرایط هیپوکسی، سلول‌ها با تغییر در بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم، با هیپوکسی سازگار می‌شوند (میلونیس<sup>۱۰</sup> و دیگران، ۲۰۱۹). به عنوان مثال، در سلول‌های کبدی به منظور کاهش مصرف ATP در شرایط هیپوکسی، فرآیندهای

1. Dentin

2. Baek

3. Suk &amp; Shin

4. Adipose triglyceride lipase

5. Schweiger

6. Diacylglycerol Acyltransferase-2

7. Lipolysosomes

8. Wu

9. Hypoxia

10. Mylonis

11. Choi

12. Kennedy

13. Ou and Leiter

14. Isaza

15. Cunningham

16. Ding

17. Luo

18. Normoxia

19. Yang

20. Wang

## روش تحقیق

نمونه های حیوانی و رژیم غذایی: تعداد ۲۴ سر رت نر از نژاد ویستار با سن تقریبی پنج هفته و میانگین وزنی  $165/90 \pm 9/94$  گرم، از موسسه سرم سازی رازی خریداری شدند و به حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان انتقال یافتند. پس از یک هفته سازگاری محیطی، رت ها به طور تصادفی به چهار گروه شامل رژیم غذایی نرمال (ND، n=۶)، رژیم غذایی پرچرب (HFD، n=۶)، HFD و تمرین در شرایط نرموکسی (HFD+NE، n=۶) و رژیم غذایی پرچرب و تمرین در شرایط هیپوکسی (HF-، n=۶)، تقسیم شدند. درصد کالری HFD شامل ۶۰٪ چربی، ۲۰٪ کربوهیدرات، و ۲۰٪ پروتئین؛ و درصد کالری رژیم غذایی نرمال شامل ۱۰٪ چربی، ۷۰٪ کربوهیدرات، و ۲۰٪ پروتئین بود (ایتو و دیگران، ۲۰۰۷). رت ها در قفس هایی با جنس پلی کربنات تحت شرایط آزمایشگاهی با چرخه روشنایی تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت، دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی گراد، و رطوبت ۵۵-۵۰ درصد نگهداری شدند؛ مضافاً این که تحت این شرایط، رت ها هیچ نوع فعالیت ورزشی نداشتند. به منظور آشناسازی حیوانات با نوارگردان، یک هفته مرحله آشناسازی در نظر گرفته شد؛ به صورتی که رت ها هر روز به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت هشت تا ۱۲ متر در دقیقه، روی نوارگردان دویدند (جنجوسکی و دلوری<sup>۱</sup>، ۲۰۱۱). رت هایی که در مرحله آشناسازی با نوارگردان قادر به دویدن نبودند، از گروه های تمرینی حذف شدند (جنجوسکی و دلوری، ۲۰۱۱). در طول مرحله سازگاری، تمامی رت ها با رژیم غذایی نرمال تغذیه شدند. رت ها در پایان ۱۲ هفته مداخله تمرینی و پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی و بدون ناشتایی (سانتوز - آلوز<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۱۵)، با استفاده از روش درون صفاقی، با تزریق ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین ۱۰٪ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم زایلازین ۲٪؛ بی هوش شدند (کیم و دیگران، ۲۰۰۵). نمونه کبد رت ها پس از شستشو با سالین، در میکروتیوب های فاقد DNase و RNase قرار داده شدند و بلافاصله در دمای ۸۰- فریز گردید. مداخلات این پژوهش بر اساس دستورالعمل های اخلاقی مؤسسات ملی مراقبت و

استقامتی، اکسیداسیون لیپیدها را افزایش می دهد؛ در حالی که در شرایط هیپوکسی، تمایل به استفاده از گلوکز وجود دارد (دی گروت<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۲۰). اکسیداسیون بالاتر گلوکز در حین فعالیت هوازی هیپوکسی، ممکن است تا حدی بهبود تحمل گلوکز مشاهده شده در برخی مطالعات را توجیه کند. بنابر مطالب ذکر شده، به نظر می رسد که هیپوکسی در بیماری کبد چرب می تواند مانند یک شمشیر دو لبه عمل می کند. احتمالاً شدت هیپوکسی و مدت زمان قرارگیری در معرض آن، از عوامل تعیین کننده در نوع رفتار هیپوکسی محسوب می شود.

مداخله HFD در جوندگان، سبب بروز مشکلات متابولیکی مشابه آن هایی می شود که در افراد چاق مشاهده شده است. به عنوان مثال، در جوندگان پس از ۱۰ هفته مصرف HFD، مشکلات متابولیکی (نظیر چاقی و مقاومت به انسولین) مشابه آن چه پس از ۱۲ هفته NAFLD و عدم تحمل گلوکز مشاهده شده، رخ می دهد (ایتو<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۷؛ تاکاهاشی<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۲). فواید انجام فعالیت های ورزشی منظم در کاهش محتوای چربی کبد مورد تأیید قرار گرفته است (کیتینگ<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۱۵)، اما در حال حاضر، پژوهش های بالینی بر "دوز" بهینه تمرین ورزشی مورد نیاز به منظور کسب نتایج بهتر، تأکید دارند. از آنج که دستورالعمل های ورزشی ویژه برای NAFLD وجود ندارد، بیشتر مطالعات با دوزهایی که توسط کالج پزشکی ورزشی آمریکا<sup>۵</sup> برای توسعه و حفظ آمادگی قلبی تنفسی، اسکلتی عضلانی و عصبی-عضلانی توصیه شده، مطابقت دارند (کیتینگ<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۵). از نظر تئوری، این امکان وجود دارد که جریان سوپسترا در طول فعالیت ورزشی بر متابولیت ها و در دسترس بودن عوامل کمکی برای تغییرات ژنتیکی، تأثیرگذار باشند (آکسوم<sup>۷</sup> و دیگران، ۲۰۲۱) و با توجه به این که متغیرهایی نظیر تغذیه، ورزش و هیپوکسی؛ سبب ایجاد تغییرات اپی ژنتیکی بی شماری می شوند، در این مطالعه، اثر فعالیت ورزشی در شرایط نرموکسی و هیپوکسی، بر مسیر پیام رسانی لیپوئنز و لیپولیز کبدی مورد بررسی قرار گرفت.

1. De Groote  
2. Ito  
3. Takahashi  
4. Keating

5. American college of sport medicine  
6. Keating  
7. Axsom  
8. Jendzjowsky & DeLorey

9. Santos-Alves



سه دقیقه، پنج متر در دقیقه به سرعت نوار گردان اضافه شد و این پروتکل تا رسیدن به ناتوانی در دویدن (چولاک<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۲۱)، علی‌رغم ۱۰ ثانیه شوک الکتریکی، ادامه یافت (گاملین<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۶). در شرایط هیپوکسی نیز پروتکل مشابهی اجرا شد، با این تفاوت که ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت سه متر در دقیقه انجام شد و سپس سرعت نوار گردان به پنج متر در دقیقه افزایش یافت. در پایان آزمون، سرعت ثبت شده احتمالاً بیانگر حالتی است که  $VO_2max$  در آن به فلات می‌رسد.

استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و با مقررات کمیته اخلاق و هنجارها و معیارهای ملی انجام پژوهش‌های پزشکی در ایران مطابقت داشت. این مقاله بخشی از پژوهش مورد تأیید کمیته اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با شناسه IR.SSRI.REC.۱۴۰۱.۱۵۱۹ می‌باشد. **نحوه مداخله تمرینی:** برای تعیین شدت فعالیت ورزشی در شرایط نورموکسی، آزمون حداکثر سرعت هوایی<sup>۱</sup> (MAV) برای همه گروه‌های تمرینی اجرا شد. بدین منظور پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت پنج متر در دقیقه، سرعت نوار گردان به ۱۰ متر در دقیقه افزایش یافت و پس از آن، هر

جدول ۱. مشخصات پروتکل تمرین

سردکردن	تمرین اصلی	درصد حداکثر سرعت هوایی	گرم کردن	هفته ها
-	۸-۱۲			آشناسازی
۳	۱۵	۶۸	۳	اول
۳	۲۴	۷۵	۳	سوم
۳	۲۸	۷۵	۳	چهارم
۳	۳۲	۸۰	۳	پنجم
۳	۴۹	۸۰	۳	دوازدهم

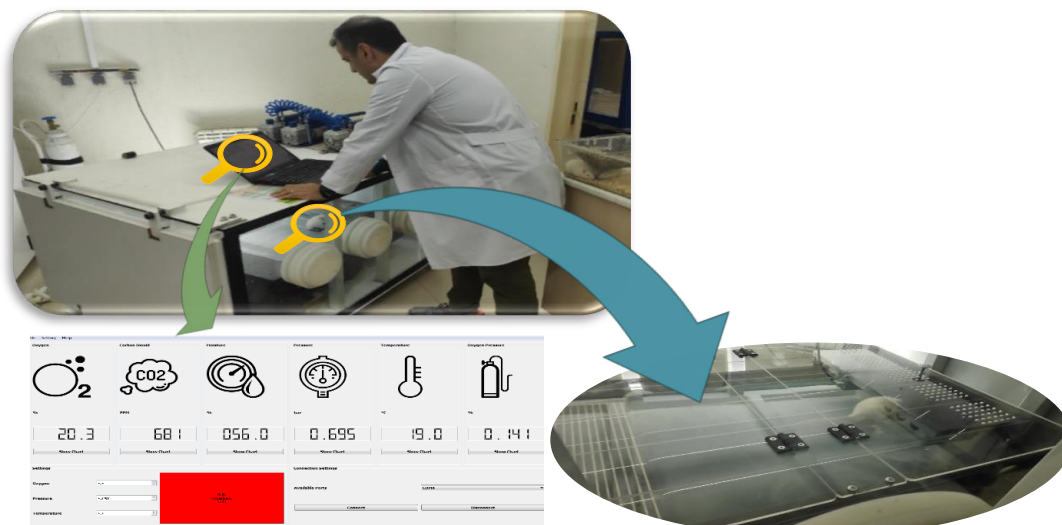
**ایجاد شرایط هیپوکسی - هیپوباریک<sup>۵</sup>:** برای ایجاد شرایط هیپوکسی مطابق آنچه در ارتفاع رخ می‌دهد، از روش کاهش فشار هوا (هیپوکسی - هیپوباریک) استفاده شد (استوا<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۰؛ فلورس<sup>۷</sup> و دیگران، ۲۰۲۰؛ سایر<sup>۸</sup> و دیگران، ۱۹۹۸). برای این منظور، اتاقکی به ابعاد ۱۰۰x۱۵۰x۱۰۰ سانتی‌متر از ورقه‌های آهنی سه میلی‌متری پوشیده شده با رنگ الکترواستاتیک، توسط پژوهشگران در دانشگاه گیلان ساخته شد. از دو پمپ وکیوم مدل Value N115 VE به‌منظور خارج کردن ملکول‌های هوا و کاهش فشار هوای داخل دستگاه استفاده گردید. میزان فشار درون اتاقک توسط حسگر الکترونیکی فشار مدل MPX5500، میزان  $CO_2$  درون اتاقک توسط حسگر MG-812 با دقت ۰/۱ و اکسیژن توسط حسگر AlphaSense O2-A2

قبل از اجرای تمرین، سه دقیقه گرم کردن با شدت پایین در نظر گرفته شد (گلیام<sup>۴</sup> و دیگران، ۱۹۸۴). پس از تعیین MAV، پروتکل تمرینی بر اساس مطالعه احمدی و دیگران (۲۰۱۲) تعدیل گردید و مورد استفاده قرار گرفت. این پروتکل سه روز در هفته، به مدت ۱۲ هفته و به‌صورت پیش‌رونده، بدون شیب اجرا شد. هفته اول تمرین با شدتی معادل ۶۸ درصد MAV بدست آمده در شرایط هیپوکسی و نرموکسی آغاز شد و تا هفته سوم با حفظ شدت، زمان تمرین افزایش یافت. در هفته سوم، شدت به ۷۵ درصد و در هفته پنجم، به ۸۰ درصد MAV رسید. پس از آن، زمان تمرین تا پایان هفته نهم، افزایش یافت. به‌منظور حفظ شدت مناسب تمرین در پایان هفته‌های چهارم و هشتم، آزمون MAV مجدداً اجرا شد.

1. Maximal aerobic velocity  
2. Çolak  
3. Gamelin

4. Gilliam  
5. Hypobaric-Hypoxia  
6. Esteva

7. Flores  
8. SaiRam



شکل ۱. نمایی از اتاقک هیپوکسی ویژه جوندگان آزمایشگاهی

مولکول‌های هوا به گونه‌ای تنظیم شد که تا رسیدن به فشار معادل ارتفاع ۳۰۰۰ متر، ۱۰ دقیقه زمان نیاز داشته باشد (ماتی<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۰۸). به عبارت دیگر، کاهش فشار داخل اتاقک برابر با سرعتی معادل ۳۰۰ متر در دقیقه افزایش ارتفاع بود. برای شبیه سازی ارتفاع ۳۰۰۰ متر، فشار اکسیژن در حدود ۱۴۰ میلی بار حفظ شد. انتخاب ارتفاع ۳۰۰۰ متر از آن جهت بود که نشان داده شده در این شرایط، عملکردهای روزانه بدون هیچ گونه عکس العمل منفی حفظ می شود (وانگ و دیگران، ۲۰۱۹).

**استخراج RNA و رونویسی معکوس – Real Time PCR:** استخراج RNA از بافت کبد به روش غیر ستونی و با استفاده از معرف RNX-PLUS، شرکت سیناکلون (Cat No EX6101)، سیناکلون، ایران) و طبق پروتکل رضادوست و دیگران (۲۰۱۶) انجام شد. در این روش، به منظور افزایش میزان خلوص RNA استخراج شده، رسوب نهایی در ۴۰۰ میکرو لیتر آب DEPC حل شد. سپس ۲۰۰ میکرو لیتر محلول دو مولار لیتیم کلراید<sup>۷</sup> به آن اضافه گردید و پس از چند بار تکان دادن، به مدت ۲۰ دقیقه روی یخ قرار داد شد. در مرحله بعد، ۶۵۰ میکرو لیتر اتانول ۹۶٪ به آن اضافه شد و پس از تکان دادن به مدت ۱۵ دقیقه، روی یخ قرار داده شد. بعد از اتمام این مرحله، به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتیگراد، سانتریفیوژ (با دستگاه Ep-pendorf مدل R 5417 ساخت کشور آلمان) گردید. بعد از

با دقت ۰/۱ درصد؛ به صورت خودکار اندازه گیری شد. داده های ثبت شده در شبیه سازی ارتفاعات مختلف نشان داده که در فشار ۴۳۳ میلی متر جیوه، معادل ارتفاع ۴۵۰۰ متر از سطح دریا، با جریان ورود و خروج هوا، محیط داخل دستگاه در طول یک ساعت آزمایش، به طور متوسط از فشاری معادل  $49/57 \pm 0/43$  میلی متر جیوه برخوردار است. ضریب پراکندگی و خطای نسبی بدست آمده به ترتیب برابر ۰/۱۰۵ و ۰/۱۴۲ بود. در فشار ۶۸۴ میلی متر جیوه، معادل ارتفاع تقریبی ۳۰۰۰ متر از سطح دریا، ضریب پراکندگی و خطای نسبی به ترتیب برابر ۰/۰۸۸ و ۰/۰۸۶ بدست آمد. ضریب پراکندگی و خطای نسبی برای فشار ۵۳۰ میلی متر جیوه، به ترتیب برابر ۰/۱۲۰ و ۰/۰۷۷؛ برای فشار ۵۷۰ میلی متر جیوه، به ترتیب برابر ۰/۱۰۱ و ۰/۱۵۷؛ و برای فشار ۶۰۹ میلی متر جیوه، به ترتیب برابر ۰/۱۰۹ و ۰/۱۵۲؛ بدست آمد. این نتایج بیانگر دقت دستگاه در شبیه سازی ارتفاعات مختلف و حفظ اختلاف فشار محیط داخل و خارج از اتاقک، در طول مداخله بود. همانند سایر دستگاه های شبیه ساز ارتفاع، از جاذب شیمیایی سودا لایم<sup>۱</sup> و سلیکا ژل<sup>۲</sup> به منظور حفظ سطح CO<sub>2</sub> و رطوبت داخل اتاقک، بهره برداری شد (وو<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۲۱). میزان CO<sub>2</sub> در طول مدت تمرین، بین ۷۰۰-۳۵۰ بخش در میلیون<sup>۴</sup> (ppm) نوسان داشت؛ میزان (افزایش) فشاری که اثر منفی بر موجودات زنده ندارد (آزوما<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۱۸). میزان تخلیه

1. Soda lime  
2. Silica gel  
3. Wu

4. Parts-per notation  
5. Azuma  
6. Maiti

7. Lithium chloride

رسوب تشکیل شده ۵۰ میکرو لیتر آب DEPC اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۵۵ درجه قرار داده شد. کمیت RNA استخراج شده با استفاده از Nano drop مدل Thermo scientific ساخت کشور آمریکا؛ و کیفیت آن با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد؛ بررسی گردید.

اتمام این مرحله، مایع رویی دور ریخته شد و RNA با یک میلی لیتر اتانول ۷۵٪، با سرعت ۷۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت هشت دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی گراد؛ سانتریفیوژ شد. در این مرحله نیز پس از اتمام مرحله سانتریفیوژ، مایع رویی دور ریخته شد و رسوب باقیمانده به مدت چهار تا پنج دقیقه در دمای معمولی اتاق، خشک گردید. در نهایت، به

جدول ۲. مشخصات و توالی آغازگرهای استفاده شده در پژوهش

Gene	Forward	Revers	NCBI Reference Sequence	Product size
<i>Srebfl</i>	5'- CTTCTCTGGGCTCCTCTCTG-3'	5'- ACTGGCTCCTCTTTGATTCCA-3'	NM_133552.2	250
<i>Chrebp</i>	5 - GGTGGTGATGCGTGAATACC-3'	5'- GGTGAAGAGTGTGTCGGAGA-3'	NM_001276708.1	151
<i>Atgl</i>	5'- GAAGGAGCAGACAGGTAGCA-3'	5'- GCAGAAGAGACCCAGCAGTA-3'	NM_001108509.2	250
<i>Gapdh</i>	5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3'	5'- AGCCAGGATGCCCTTAGT -3'	XM_039111501.1	92

محاسبه بیان نسبی ژن‌ها از معادله  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  استفاده شد (لیواک و اشمیتگن، ۲۰۰۱). در این روش  $\Delta Ct$  از فرمول زیر بدست می آید:

$$\Delta Ct = CT(\text{ژن هدف}) - CT(\text{ژن مرجع})$$

در ادامه،  $\Delta Ct$  بدست آمده از نمونه‌های گروه غذای نرمال که به عنوان کالیبراتور یا گروه کنترل در نظر گرفته شده بود، از  $\Delta Ct$  گروه‌های تجربی کم شد. سپس مطابق فرمول زیر  $\Delta\Delta Ct$  محاسبه گردید.

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{نمونه کنترل}) - \Delta Ct(\text{نمونه تجربی})$$

پس از محاسبه  $\Delta\Delta Ct$ ، مقادیر به دست آمده در معادله  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  قرار داده شد، تا بیان نسبی هر ژن مشخص شود.

**رنگ آمیزی Oil Red**: جهت بررسی محتوای چربی ذخیره شده کبد، رنگ آمیزی Oil Red با استفاده از کیت Oil Red O Stain ab 150678; lipid stain انجام شد. از میکروسکوپ نوری و فلورسنت شرکت Germany-AXIOM مدل BM-600 LED EPI FLUORESCENT، دوربین میکروسکوپ Mshot ساخت کشور چین، و نرم افزار Image J؛ برای ارزیابی تعداد و مساحت قطرات چربی؛ بهره برداری گردید.

**روش های تحلیل آماری**: پس از جمع آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار تحت ویندوز SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو - ویلک؛ و همگنی واریانس‌ها با استفاده

برای سنتز cDNA، از کیت سنتز cDNA شرکت سیناکلون (Cat No RT5201) طبق دستورالعمل آن استفاده شد. توالی ژن‌ها از سایت NCBI دریافت شد و برای ژن‌های *Srebfl*، *Chrebp*، *Atgl* و ژن *GAPDH* به عنوان ژن مرجع، از طرق نرم افزار primer3 plus آغازگرهای اختصاصی طراحی گردید (جدول دو). برای تکثیر قطعات از مستر میکس Real-Time PCR بدون راکس SYBR Green HS-qPCR Mix شرکت سیناکلون (Cat No MM2062) (ایران) طبق دستورالعمل آن استفاده شد. پس از بهینه سازی غلظت، واکنش Real-time PCR با ۱۲/۵ میکرو لیتر Master Mix، ۰/۵ میکرو لیتر آغازگر رفت، ۰/۵ میکرو لیتر آغازگر برگشت، ۱/۵ میکرو لیتر cDNA، به همراه ۱۰ میکرو لیتر آب و تا حجم کلی ۲۵ میکرو لیتر؛ انجام شد. برنامه تکثیر قطعات cDNA در دستگاه Real-Time PCR (Rotorgene Q, Qiagen, USA) به صورت واسرشته سازی<sup>۱</sup> 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. برای

1. Denaturation

2. Livak & Schmittgen

3. Shapiro-Wilk



را نشان داد. HFD منجر به افزایش معنی‌دار وزن گروه‌های HFD، HFD+NE، HFD+HE، نسبت به گروه ND شد ( $p < 0/01$ ). به‌طوری‌که وزن گروه HFD در حدود  $24 \pm 0/04$  درصد بیشتر از گروه ND بود. میزان افزایش وزن در گروه HFD+NE و HFD+HE، به ترتیب  $13 \pm 0/09$  و  $16 \pm 0/09$  درصد بود. دیگر نتایج، افزایش کمتر وزن رت‌ها در گروه‌های HFD+NE و HFD+HE را نسبت به گروه HFD نشان داد ( $p < 0/01$ ).

از آزمون لون<sup>۱</sup> مورد بررسی قرار گرفت. به علاوه، برای مقایسه تغییرات بین‌گروهی از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی<sup>۲</sup> در سطح معنی‌داری آزمون  $p \leq 0/05$  استفاده شد.

### یافته‌ها

تغییرات وزن رت‌ها پس از ۱۲ هفته مداخلات تغذیه‌ای و تمرینی، در جدول سه گزارش شده است. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها، افزایش وزن رت‌ها در همه گروه‌ها

جدول ۳. میانگین  $\pm$  انحراف معیار تغییرات وزن (گرم) رت‌ها پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و مداخلات ورزشی

گروه‌ها	هفته اول	هفته دوازدهم	میانگین تغییرات وزن
ND	۱۶۶/۶۶ $\pm$ ۱۶/۴۶	۳۵۵/۶۶ $\pm$ ۲۲/۲۵	۱۸۹ $\pm$ ۹/۳۸
HFD	۱۶۷/۸۳ $\pm$ ۸/۵۶	۴۰۱/۳۳ $\pm$ ۳/۹۳	۲۳۳/۵ $\pm$ ۸/۹۳*
HFD-NE	۱۶۷ $\pm$ ۱۲/۷۲	۳۷۷/۸۳ $\pm$ ۱۴/۲۸	۲۱۰/۸۳ $\pm$ ۱۰/۴۹*
HFD-HE	۱۶۳ $\pm$ ۸/۴۹	۳۸۰/۶۶ $\pm$ ۱۴/۶۶	۲۱۶/۸۳ $\pm$ ۹/۹۲*

\*نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه HFD؛ \*نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ND؛ سطح معنی‌داری  $p < 0/05$ . گروه کنترل رژیم غذایی نرمال (ND)، گروه کنترل رژیم غذایی پرچرب (HFD)، گروه غذایی پرچرب + تمرین در نرموکسی (HFD+NE)، گروه غذایی پرچرب + تمرین در هیپوکسی (HFD+HE).

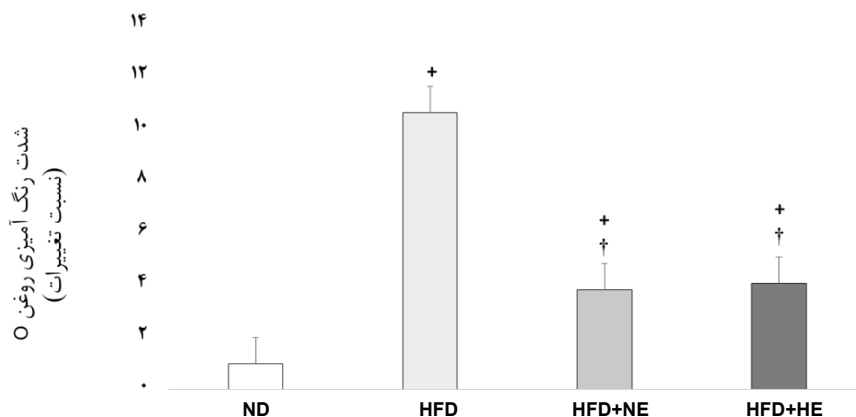
طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p < 0/01$ ). بیان ژن *Srebf1* در گروه HFD، افزایش  $1/81 \pm 0/02$  برابری نسبت به گروه ND نشان داد ( $p < 0/01$ ). این افزایش در گروه‌های HFD+NE و HFD+HE به ترتیب  $1/52 \pm 0/06$  و  $2/59 \pm 0/17$  بود ( $p < 0/01$ ). میزان افزایش در گروه HFD+HE نسبت به گروه‌های HFD+NE، HFD و ND به طور معنی‌داری بیشتر بود ( $p < 0/01$ ). علاوه بر موارد فوق، HFD سبب کاهش  $0/68 \pm 0/15$  برابری ژن *Atgl* در گروه HFD نسبت به گروه ND گردید ( $p = 0/01$ ). میزان تغییرات بیان *Atgl* در گروه‌های HFD+NE و HFD+HE نسبت به گروه کنترل، به ترتیب  $1/05 \pm 0/01$  و  $1/11 \pm 0/09$  بود ( $p < 0/05$ ).

### بحث

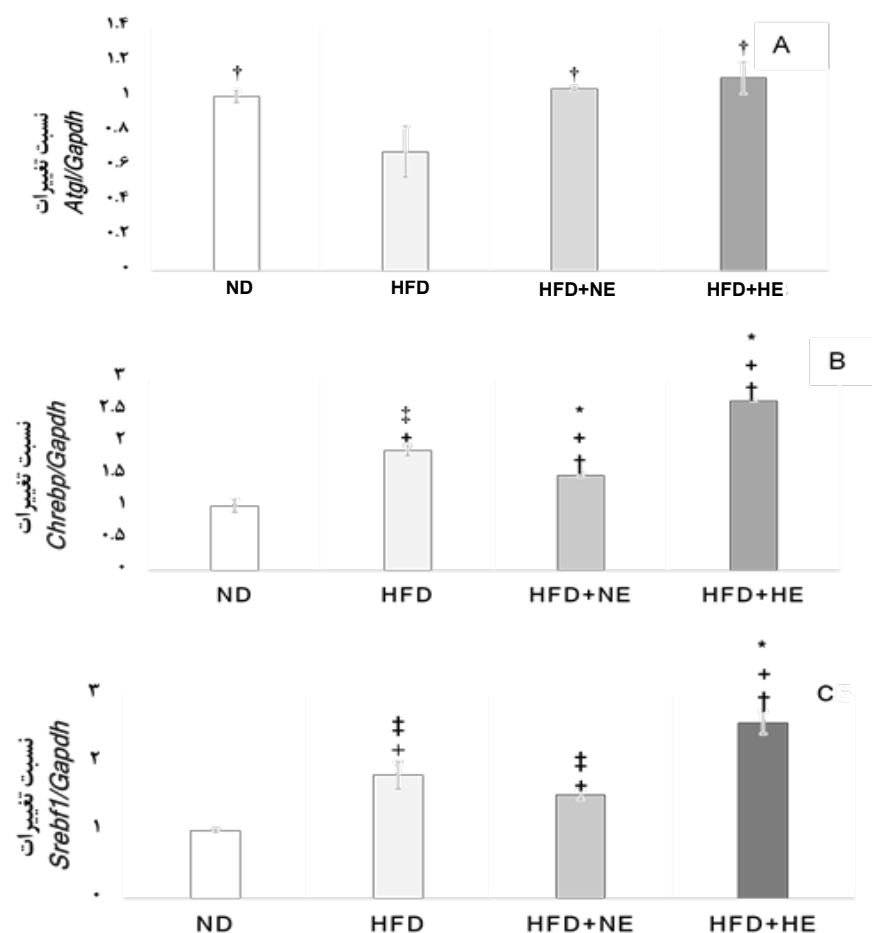
یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش محتوای چربی کبدی به میزان  $10/64 \pm 1/33$  برابر نسبت به گروه ND می‌شود. همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، سایر پژوهش‌ها نیز افزایش میزان LDs کبد را در پاسخ به رژیم غذایی پرچرب نشان داده‌اند (لافونته<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۹؛ لی<sup>۲</sup> دیگران، ۲۰۲۱؛ وو<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۲۲). در مطالعه حاضر همچنین نشان داده شده که رژیم غذایی پرچرب، سبب افزایش بیان ژن‌های مسیر لیپوژنز *Srebf1* (به میزان ۸۱ درصد)

بر اساس نتایج حاصل از کمی‌سازی با روش رنگ‌آمیزی Oil Red Oil Stain، مشخص شد که محتوای چربی کبد رت‌های در گروه‌های HFD، HFD+NE و HFD+HE افزایش معنی‌داری نسبت به گروه ND دارد؛ در حالی است که میزان محتوای چربی کبد در گروه HFD نسبت به گروه‌های HFD+NE و HFD+HE به طور معنی‌داری بیشتر بود ( $p < 0/01$ ). اگرچه تمرین سبب شد محتوای چربی کبد رت‌ها در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه HFD کمتر شود، اما میزان چربی کبدی در مقایسه با گروه ND، همچنان بالاتر بود. در گروه HFD+NE میزان محتوای چربی کبد  $3/84$  برابر گروه ND بود ( $p = 0/01$ ). در گروه HFD+NE میزان محتوای چربی کبد،  $4/74$  برابر گروه ND بود ( $p = 0/003$ ). از طرف دیگر، محتوای چربی کبد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های HFD+NE و HF-D+HE نداشت ( $p = 0/99$ ).

بر اساس نتایج حاصل از کمی‌سازی نسبی با روش  $\Delta\Delta Ct$ ، در مقایسه با گروه ND، رژیم غذایی پرچرب سبب افزایش  $1/87 \pm 0/1$  برابری ژن *Chrebp* گردید ( $p < 0/01$ ). میزان بیان ژن *Chrebp* در گروه HFD+NE معادل  $1/49 \pm 0/02$  بود ( $p < 0/01$ )؛ در حالی که در گروه HFD+NE میزان بیان این ژن،  $2/65$  برابر گروه ND بود ( $p < 0/01$ ). میزان افزایش در گروه HFD+HE نسبت به گروه‌های HFD، HFD+NE و ND؛ به



شکل ۲. مقایسه محتوای چربی کبد. + نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه ND، † نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه HFD، ‡ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه HFD+NE، † نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه HFD+HE؛ سطح معنی‌داری (p<0/05): ND رژیم غذایی استاندارد، HFD رژیم غذایی پرچرب، HFD+NE تمرین تداومی با شدت متوسط در شرایط نرموکسی + رژیم غذایی پرچرب، HFD+HE تمرین تداومی با شدت متوسط در شرایط هیپوکسی + رژیم غذایی پرچرب.



شکل ۳. مقایسه بیان ژن‌های *Atgl*، *Chrebp* و *Srebf1*. + نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه ND، † نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه HFD، ‡ نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه HFD+NE، † نشانه اختلاف معنی‌دار با گروه HFD+HE؛ (p<0/05): ND رژیم غذایی استاندارد، HFD رژیم غذایی پرچرب، HFD+NE تمرین تداومی با شدت متوسط در شرایط نرموکسی + رژیم غذایی پرچرب، HFD+HE تمرین تداومی با شدت متوسط در شرایط هیپوکسی + رژیم غذایی پرچرب. A. بیان ژن *Atgl*. B. بیان ژن *Chrebp*. C. بیان ژن *Srebf1*.

گروه HFD+NE، به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. مطالعات انجام شده نیز نشان داده اند که HFD، با افزایش بیان ژن *Srebp1* و *Chrebp1* همراه است (تو و دیگران، ۲۰۲۰؛ یاساری و دیگران، ۲۰۱۰؛ گائو<sup>۱۲</sup> و دیگران، ۲۰۲۰؛ وانگ<sup>۱۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۰) و تمرین سبب کاهش میزان بیان ژن *Srebp1*، *Chrebp1* (یاساری و دیگران، ۲۰۱۰) می‌شود؛ اگرچه تمامی نتایج همسو نیستند. طور نمونه، در مطالعه سوک و شین (۲۰۱۵)، تمرین سبب افزایش بیشتر سطوح *Srebp-1C* و *Chrebp1* در جوندگان دارای HFD شده است. از آنجا که در مطالعه ذکر شده، میزان اسیدهای چرب آزاد (FFA) پلاسما در گروه HFD به همراه تمرین، نسبت به سایر گروه‌ها در سطح بالاتری قرار داشته؛ احتمالاً افزایش FFA پلاسما و افزایش لیپولیز ناشی از فعالیت ورزشی، می‌تواند افزایش بیان *SREBP-1C* کبد که در گروه HFD همراه تمرین به‌طور معنی‌داری افزایش یافته را توجیه نماید. در پژوهش یاساری و دیگران (۲۰۱۰) نیز تمرین سبب افزایش بیان *Srebp-1C* و افزایش سطح FFA پلاسما در رت‌های دارای رژیم غذایی پرچرب شده است. به هر حال، نتایج برخی مطالعات نشان آن دارد که بهبود کبد چرب بدون تغییرات معنی‌دار در این ژن‌ها، رخ می‌دهد. نتایج پژوهش بیک و دیگران (۲۰۲۰) است که گزارش کرده‌اند فعالیت هوازی، با تکرار پنج روز در هفته و به مدت شش هفته؛ سبب کاهش سطوح افزایش یافته *Chrebp* و *SREBP-1C* می‌شود؛ اما این کاهش‌ها به لحاظ آماری نبوده است. این در حالی است که محتوای چربی کبدی موش‌ها پس از پایان پروتکل تمرینی، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. یکی دیگر از مسیرهای تجزیه *LDS*، لیپولیز وابسته به آنزیم *Atgl* است (بیلات<sup>۱۴</sup> و دیگران، ۲۰۱۲). *Atgl* یکی از ژن‌های اصلی در فرآیند لیپولیز محسوب می‌شود که حفظ تعادل بین ذخیره و تجزیه لیپیدها را بر عهده دارد (لی و دیگران، ۲۰۲۱ ب). علاوه بر این، بر اساس نتایج پژوهش حاضر بیان ژن *Atgl* در گروه‌های HFD+NE و HFD+HE به ترتیب ۱/۰۵ و ۱/۱۱ برابر گروه ND بود و به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه HFD قرار داشت. این نتایج در راستای مطالعاتی قرار دارد که نشان داده اند سطوح پروتئین *Atgl* در بافت چربی رت‌های

*Chrebp* (به میزان ۸۷ درصد) می‌شود. این یافته‌ها همسو با مطالعه ملو<sup>۱</sup> و دیگران (۲۰۱۲) که نشان دادند ۱۲ هفته HFD، افزایش بیان ژن *Srebf1* و *Srebf2* را در پی دارد. مطالعات دیگر گزارش کرده اند که HFD، با افزایش بیان ژن یا پروتئین *MTOR*، *SREBP1* و *Chrebp1* همراه است (تسورو<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۲۰؛ تو<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۲۰؛ یاساری<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). اگرچه در مطالعه حاضر سطح انسولین رت‌ها اندازه‌گیری نشد، اما افزایش سطح انسولین خون در جوندگان تحت HFD، مورد تایید پژوهشگران است (ایتو و دیگران، ۲۰۰۷؛ یان<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۱۱). احتمالاً انسولین، پروتئین‌های پایین‌دست نظیر سوبسترای گیرنده انسولین<sup>۶</sup> (*IRS-1/2*) و *PI3K* را فعال نموده و از این طریق، پروتئین کیناز *B* فعال می‌شود. عامل *Akt* از طریق دو مسیر پیام‌رسانی وابسته به *mTOR* و مستقل از *mTOR*، با مهار *INSIG2A*؛ بیان *SREBP-1c* و لیپوژنز را میانجی‌گری می‌کند (لی و دیگران، ۲۰۱۱؛ ایسیس<sup>۸</sup> و دیگران، ۲۰۱۱). همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رژیم غذایی پر چرب، با کاهش بیان *Atgl* (به میزان ۳۲ درصد) همراه است. نتایج پژوهش‌های دیگر نیز بیانگر آن است که رژیم غذایی پرچرب کاهش بیان *Atgl* را به همراه دارد (وو و دیگران، ۲۰۲۲). اهمیت تغییرات *Atgl* توسط مطالعاتی مورد حمایت قرار می‌گیرد که نشان داده‌اند بیان *Atgl* در بیماران مبتلا به *NAFLD* کاهش می‌یابد (کاتو<sup>۹</sup> و دیگران، ۲۰۰۸). مطالعه قبلی نیز نشان داده که HFD با کاهش معنی‌دار سطح پروتئین *Atgl* چربی احشایی رت‌ها همراه است (فریدینیا و دیگران، ۲۰۱۹). با توجه به نتایج مطالعات قبلی و تحلیل داده‌های پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد که HFD، احتمالاً از طریق افزایش لیپوژنز و کاهش لیپولیز، سبب تجمع چربی در بافت کبد می‌شود.

بر اساس شواهد، عوامل رونویسی هسته‌ای، از جمله *Srebp*، *Chrebp* و *Atgl* در تنظیم متابولیسم چربی کبد نقش کلیدی دارند. این ژن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم اسیدهای چرب اثر می‌گذارند (پترسون<sup>۱۰</sup> و دیگران، ۲۰۱۱؛ ساباتینی<sup>۱۱</sup>، ۲۰۱۷). مطالعه حاضر نشان داد که کاهش بیان ژن‌های *Srebf1* و *Chrebp* ناشی از رژیم غذایی پرچرب در

1. Melo  
2. Tsuru  
3. Tu  
4. Yasari  
5. Yan

6. Insulin receptor substrate  
7. Protein kinase B  
8. Yecies  
9. Kato  
10. Peterson

11. Sabatini  
12. Gao  
13. Wang  
14. Beylot

در مطالعه حاضر، کاهش محتوای چربی کبد در گروه HF+D+HE در شرایطی رخ داد که میزان افزایش بیان ژن‌های *Srebf1* و *Chrebp* (به ترتیب ۱/۰۵ و ۲/۶۵ برابر سطح پایه) به طور معنی‌داری بیشتر از تمامی گروه‌ها بود. اگر افزایش بیان ژن‌های *Srebf1* و *Chrebp* را در گروه‌های تمرینی ببانگر افزایش لیپوژنز در نظر بگیریم، این فرض مطرح می‌شود که افزایش عوامل مرتبط با سنتز چربی، در غیاب کاهش عوامل مرتبط با تجزیه LDLs، احتمالاً اثر کمتری در بروز NAFLD دارد. از آنجا که افزایش *Atgl* در گروه HFD+HE می‌تواند بیانگر افزایش لیپولیز باشد، احتمالاً سطوح افزایش یافته *Srebf1* را بتوان به افزایش احتمالی سطح FFA ناشی از افزایش لیپولیز کبدی نسبت داد. مهات<sup>۲</sup> و دیگران (۲۰۲۱) نشان داده‌اند که قرارگیری حاد در معرض هیپوکسی متوسط و شدید (۲۴ ساعت، سطح اکسیژن سه و ۱۰ درصد)، سبب افزایش دو برابری بیان ژن *Chrebp* در سلول‌های بافت آدیپوز می‌شود. اگرچه میزان بیان ژن *Chrebp* در شرایط هیپوکسی متوسط و شدید، افزایش معنی‌داری داشت؛ اما افزایش بیان سایر ژن‌های درگیر در فرآیند لیپوژنز در سطح معنی‌داری نبود و میزان محتوای TG در شرایط هیپوکسی کاهش یافته بود. به هر حال، در سایر پژوهش‌هایی که هیپوکسی مورد مطالعه قرار گرفته است، ظاهراً هیپوکسی بر لیپوژنز یا تأثیر معنی‌داری نداشته، یا پتانسیل لیپوژنیک سلول‌های چربی را کاهش داده است (ارورک<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۳). لیپوپروتئین لیپاز<sup>۴</sup> (LPL) (از آنزیم‌های کلیدی مرتبط با کنترل چربی) یکی از مکانیسم‌هایی است که احتمالاً هیپوکسی از طریق آن، علی‌رغم افزایش *Chrebp*، لیپوژنز را کنترل می‌کند. هیپوکسی فعالیت LPL را مهار می‌کند و علی‌رغم افزایش قابل توجه بیان *Chrebp* در مواجهه حاد هیپوکسی، عمدتاً سنتز لیپوژنز را سرکوب می‌کند (مهات و دیگران، ۲۰۲۱). بنابراین، با توجه به نتایج پژوهش حاضر و پیشینه مطالعات، به نظر می‌رسد که افزایش بیان ژن *Chrebp* که در گروه HFD+HE مشاهده شد، نمی‌تواند سبب افزایش لیپوژنز گردد.

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی در شرایط هیپوکسی و نرموکسی، از طریق تغییرات اپی‌ژنتیک، بر بیان ژن‌های درگیر در فرآیند لیپولیز اثرگذار هستند و از این طریق، تا حدودی مانع

گروه تمرینی، تمایل به افزایش دارد (فریدنیا و دیگران، ۲۰۱۹). یانگ و دیگران (۲۰۲۰) نیز گزارش نموده‌اند که تمرین هیپوکسی، با افزایش سطح *Atgl* رت‌های چاق همراه است. هرچند عدم وجود گروه کنترل رژیم غذایی نرمال و گروه چاق+تمرین نرموکسی از محدودیت‌های پژوهش یانگ می‌باشد. از آنجا که در مطالعه حاضر، کاهش بیان ژن *Atgl* با افزایش محتوای چربی کبدی در رت‌ها همراه بوده است، و در گروه‌های تمرینی، افزایش بیان ژن *Atgl* مستقل از شرایط هایپوکسی، با کاهش محتوای چربی همراه بود؛ از دیدگاه ما، افزایش در لیپولیز چربی ناشی از تمرین در سلول‌های کبدی، احتمالاً مکانیسم موثری بر کاهش محتوای چربی کبدی است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش و یا از دست دادن عملکرد *Atgl*، ترشح TAG کبدی را تغییر نمی‌دهد؛ اما اکسیداسیون اسیدهای چرب با بیان بیش از حد *Atgl* افزایش یافته و با کاهش *Atgl*، کاهش می‌یابد (اونگ<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۱). سایر شواهد نیز دال بر آن هستند که در موش‌های فاقد *Atgl* کبدی، میزان بتاکسیداسیون کاهش می‌یابد (وو و دیگران، ۲۰۱۱). بنابراین، به نظر می‌رسد که افزایش محتوای چربی کبد، همزمان با کاهش میزان بیان *Atgl*، سبب از دست دادن توانایی اکسیداسیون چربی شده و این امر می‌تواند منجر به افزایش محتوای چربی کبدی شود. احتمالاً می‌توان تمایل بیشتر بیان ژن *Atgl* در گروه HFD+HE نسبت به سایر گروه‌ها را تا حدودی به اثرگذاری شرایط هایپوکسی نسبت داد. همانگونه که نتایج مطالعه‌ای نشان داده بیان ژن *Atgl* در سلول‌های آدیپوز که به صورت حاد (۲۴ ساعت) و مزمن (۱۴ روز) در معرض هیپوکسی متوسط (سطح اکسیژن ۱۰ درصد) قرار گرفتند، افزایش می‌یابد. (کندی و دیگران، ۲۰۰۱) به نظر می‌رسد تمایل بیشتر افزایش بیان *Atgl* در گروه HFD+HE احتمالاً با افزایش هیدرولیز و اکسیداسیون چربی بافت کبد همراه باشد؛ اما به دلیل عدم وجود تفاوت معنی‌داری بین دو گروه تمرین در شرایط هایپوکسی و نرموکسی، تأیید این موضوع نیاز به مطالعه بیشتر دارد. بنابراین، بالاتر بودن بیان ژن *Atgl* در گروه‌های تمرینی توجیه‌کننده تأثیر تمرین، مستقل از سایر شرایط در کاهش محتوای چربی کبدی در مقایسه با گروه HFD است.

1. Ong

2. Mahat

3. O'Rourke

4. Lipoprotein lipase

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر بر این مطلب دلالت دارند که رژیم غذایی پرچرب سبب افزایش ژن‌های دیگر در فرآیند لیپوژنز و کاهش ژن‌های درگیر در فرآیند لیپولیز می‌شود. در مقابل، تمرین هوازی مستقل از شرایط هایپوکسی، می‌تواند از طریق افزایش لیپولیز، تا حدودی میزان افزایش محتوای چربی کبدی را کنترل کند و احتمالاً نقش پیشگیرانه را از خطر ابتلا به NFLD در این شرایط بازی می‌کند.

#### تعارض منافع

بدین‌وسیله نویسندگان اعلام می‌کنند هیچ‌گونه تعارض منافی در این مقاله وجود ندارد.

#### قدردانی و تشکر

این مقاله از طرح رساله دکتری تخصصی دانشگاه گیلان مستخرج شده است. بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری کنندگان این پژوهش اعلام می‌دارم.

از برهم‌خوردن متابولیسم کبدی می‌شوند. برای پاسخ به این سؤال که چرا علی‌رغم افزایش ژن‌های *Chrebp* و *Serbf1* در گروه HFD-HE، شاهد بهبود علائم کبد چرب بودیم؛ لازم است تا تغییرات بیان سایر ژن‌ها در شرایط تمرین هایپوکسی مورد بررسی قرار گیرد. علی‌رغم اهمیت یافته‌های این پژوهش، درک فرآیندهای متابولیکی که تمرین سبب بهبود علائم کبد چرب القا شده به‌واسطه رژیم غذایی پرچرب می‌شود، همچنان نیاز به بررسی بیشتر دارد. از آنجا که بیان ژن‌های *Chrebp*، *Serbf1* و *Atgl* تحت تأثیر عوامل مولکولی دیگری قرار دارند و بافت‌هایی نظیر بافت عضلات و چربی، در اختلالات متابولیکی نقش مهمی ایفا می‌کنند، به‌منظور درک بهتر وقایع متابولیکی کبد، پیشنهاد می‌شود اثر میان‌کنشی مسیره‌های متابولیسم این بافت‌ها با کبد، به‌وسیله پروتکل‌های مشابه مورد بررسی قرار گیرد.

#### منابع

- Ahmadi, A., Sheikholeslami-Vatani, D., Gaeini, S., & Baazm, M. (2021). The effects of different training modalities on monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4, hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), and PGC-1 $\alpha$  gene expression in rat skeletal muscles. *Molecular Biology Reports*, 48, 2153-2161. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-021-06224-0>
- Angulo, P. (2002). Nonalcoholic fatty liver disease. *New England Journal of Medicine*, 346(16), 1221-1231. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra011775>
- Axson, J.E., Schmidt, H.D., Matura, L.A., & Libonati, J.R. (2021). The influence of epigenetic modifications on metabolic changes in white adipose tissue and liver and their potential impact in exercise. *Frontiers in Physiology*, 12, 686270. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2021.686270>
- Azuma, K., Kagi, N., Yanagi, U., & Osawa, H. (2018). Effects of low-level inhalation exposure to carbon dioxide in indoor environments: A short review on human health and psychomotor performance. *Environment International*, 121(Pt 1), 51-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.059>
- Baek, K.W., Gim, J.A., & Park, J.J. (2020). Regular moderate aerobic exercise improves high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease via monoacylglycerol O-acyltransferase 1 pathway suppression. *Journal of Sport and Health Science*, 9(5), 472-478. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jshs.2018.09.001>
- Beylot, M., Neggazi, S., Hamlat, N., Langlois, D., & Forcheron, F. (2012). Perilipin 1 ablation in mice enhances lipid oxidation during exercise and does not impair exercise performance. *Metabolism*, 61(3), 415-423. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2011.07.019>
- Brent, A. (2010). Neuschwander-tetri hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology*, 52(2), 774-788. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.23719>



- Choi, S.M., Cho, H.J., Cho, H., Kim, K. H., Kim, J. B., & Park, H. (2008). Stra13/DEC1 and DEC2 inhibit sterol regulatory element binding protein-1c in a hypoxia-inducible factor-dependent mechanism. *Nucleic Acids Research*, 36(20), 6372-6385. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkn620>
- Çolak, R., Agascioglu, E., & Çakatay, U. (2021). "Live high train low" hypoxic training enhances exercise performance with efficient redox homeostasis in rats' Soleus muscle. *High Altitude Medicine & Biology*, 22(1), 77-86. <http://dx.doi.org/10.1089/ham.2020.0136>
- Cunningham, C.C. (2003). Energy availability and alcohol-related liver pathology. *Alcohol Research & Health*, 27(4), 291.
- De Groote, E., Britto, F.A., Balan, E., Warnier, G., Thissen, J.P., Nielens, H., ... & Deldicque, L. (2021). Effect of hypoxic exercise on glucose tolerance in healthy and prediabetic adults. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 320(1), E43-E54. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00263.2020>
- Dentin, R., Benhamed, F., Hainault, I., Fauveau, V., Foufelle, F., Dyck, J.R., ... & Postic, C. (2006). Liver-specific inhibition of ChREBP improves hepatic steatosis and insulin resistance in ob/ob mice. *Diabetes*, 55(8), 2159-2170. <http://dx.doi.org/10.2337/db06-0200>
- Ding, W.-X., Manley, S., & Ni, H.-M. (2011). The emerging role of autophagy in alcoholic liver disease. *Experimental Biology and Medicine*, 236(5), 546-556. <http://dx.doi.org/10.1258/ebm.2011.010360>
- Esteva, S., Pedret, R., Fort, N., Torrella, J. R., Pagès, T., & Viscor, G. (2010). Oxidative stress status in rats after intermittent exposure to hypobaric hypoxia. *Wilderness & Environmental Medicine*, 21(4), 325-331. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wem.2010.09.004>
- Faridnia, M., Mohebi, h., Khalafi, M., & Moghaddami, K. (2019). The effect of interval and continuous training on the content of perilipin 1, Atgl and CGI-58 in visceral adipose tissue of obese male rats. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 24(1), 78-89. [In Persian]. <http://dx.doi.org/10.29252/sjku.24.1.78>
- Flores, K., Siques, P., Brito, J., Ordenes, S., Arriaza, K., Pena, E., . . . & Arribas, S. (2020). Lower body weight in rats under hypobaric hypoxia exposure would lead to reduced right ventricular hypertrophy and increased AMPK activation. *Frontiers in Physiology*, 11, 342. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.00342>
- Fuchs, C.D., Claudel, T., & Trauner, M. (2014). Role of metabolic lipases and lipolytic metabolites in the pathogenesis of NAFLD. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(11), 576-585. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2014.08.001>
- Gamelin, F.-X., Aucouturier, J., Iannotti, F.A., Piscitelli, F., Mazzarella, E., Aveta, T., ... & Montel, V. (2016). Effects of chronic exercise on the endocannabinoid system in Wistar rats with high-fat diet-induced obesity. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 72, 183-199. <http://dx.doi.org/10.1007/s13105-016-0469-5>
- Gao, Y., Zhang, W., Zeng, L.Q., Bai, H., Li, J., Zhou, J., . . . & Qin, X.J. (2020). Exercise and dietary intervention ameliorate high-fat diet-induced NAFLD and liver aging by inducing lipophagy. *Redox Biology*, 36, 101635. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2020.101635>
- Gilliam, P., Spirduso, W., Martin, T., Walters, T., Wilcox, R., & Farrar, R. (1984). The effects of exercise training on [3H]-spiperone binding in rat striatum. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 20(6), 863-867. <http://dx.doi.org/10.1016/0091->

3057(84)90008-x

Hagiwara, A., Cornu, M., Cybulski, N., Polak, P., Betz, C., Trapani, F., ... & Hall, M.N. (2012). Hepatic mTORC2 activates glycolysis and lipogenesis through Akt, glucokinase, and SREBP1c. *Cell metabolism*, 15(5), 725-738. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2012.03.015>

Hazlehurst, J.M., Woods, C., Marjot, T., Cobbold, J.F., & Tomlinson, J.W. (2016). Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Metabolism*, 65(8), 1096–1108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2016.01.001>

Horton, J.D., Goldstein, J.L., & Brown, M.S. (2002). SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *The Journal of Clinical Investigation*, 109(9), 1125-1131. <http://dx.doi.org/10.1172/jci15593>

Iizuka, K., Bruick, R.K., Liang, G., Horton, J.D., & Uyeda, K. (2004). Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (*ChREBP*) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 7281-7286. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0401516101>

Isaza, S.C., del Pozo-Maroto, E., Domínguez-Alcón, L., Elbouayadi, L., González-Rodríguez, Á., & García-Monzón, C. (2020). Hypoxia and non-alcoholic fatty liver diseases. *Frontiers in Medicine*, 7, 578001. <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2020.578001>

Ito, M., Suzuki, J., Tsujioka, S., Sasaki, M., Gomori, A., Shirakura, T., ... Iwaasa, H. (2007). Longitudinal analysis of murine steatohepatitis model induced by chronic exposure to high-fat diet. *Hepatology Research*, 37(1), 50-57. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1872-034x.2007.00008.x>

Jendzjowsky, N.G., & DeLorey, D.S. (2011). A prospective evaluation of non-interval-and interval-based exercise training progressions in rodents. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 36(5), 723-729. <http://dx.doi.org/10.1139/h11-092>

Hazlehurst, J.M., Woods, C., Marjot, T., Cobbold, J. F., & Tomlinson, J.W. (2016). Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 65(8), 1096–1108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2016.01.001>

Kato, M., Higuchi, N., & Enjoji, M. (2008). Reduced hepatic expression of adipose tissue triglyceride lipase and CGI-58 may contribute to the development of non-alcoholic fatty liver disease in patients with insulin resistance. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 43(8), 1018-1019. <http://dx.doi.org/10.1080/00365520802008140>

Kawaguchi, T., Takenoshita, M., Kabashima, T., & Uyeda, K. (2001). Glucose and cAMP regulate the L-type pyruvate kinase gene by phosphorylation/dephosphorylation of the carbohydrate response element binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(24), 13710-13715. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.231370798>

Keating, S.E., George, J., & Johnson, N.A. (2015). The benefits of exercise for patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 9(10), 1247-1250. <http://dx.doi.org/10.1586/17474124.2015.1075392>

Kennedy, S.L., Stanley, W.C., Panchal, A.R., & Mazzeo, R.S. (2001). Alterations in enzymes involved in fat metabolism after acute and chronic altitude exposure. *Journal of Applied Physiology*, 90(1), 17-22. <http://dx.doi.org/10.1152/jappl.2001.90.1.17>

- Khamzina, L., & Veilleux, A.S. Bergeron, B. & Marette., A. (2005). Increased activation of the mammalian target of rapamycin pathway in liver and skeletal muscle of obese rats: Possible involvement in obesity-linked insulin resistance. *Endocrinology*, 146, 1473-1481. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2004-0921>
- Kim, M., Yoon, E.L., Cho, S., Lee, C.M., Kang, B.K., Park, H., ... & Nah, E.H. (2022). Prevalence of advanced hepatic fibrosis and comorbidity in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in Korea. *Liver International*, 42(7), 1536-1544. <http://dx.doi.org/10.1111/liv.15259>
- Kim, M.-W., Bang, M.-S., Han, T.-R., Ko, Y.-J., Yoon, B.-W., Kim, J.-H., ... & Kim, M.-H. (2005). Exercise increased BDNF and trkB in the contralateral hemisphere of the ischemic rat brain. *Brain Research*, 1052(1), 16-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2005.05.070>
- la Fuente, F.P., Quezada, L., Sepúlveda, C., Monsalves-Alvarez, M., Rodríguez, J. M., Sacristán, C., ... & Troncoso, R. (2019). Exercise regulates lipid droplet dynamics in normal and fatty liver. *Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(12), 158519. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.158519>
- Li, H., Dun, Y., Zhang, W., You, B., Liu, Y., Fu, S., ... & Liu, S. (2021a). Exercise improves lipid droplet metabolism disorder through activation of AMPK-mediated lipophagy in NAFLD. *Life Sciences*, 273, 119314. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119314>
- Li, T., Guo, W., & Zhou, Z. (2021b). Adipose Triglyceride Lipase in Hepatic Physiology and Pathophysiology. *Biomolecules*, 12(1), 57. <http://dx.doi.org/10.3390/biom12010057>
- Li, S., Brown, M.S., & Goldstein, J.L. (2010). Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(8), 3441-3446. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0914798107>
- Li, S., Ogawa, W., Emi, A., Hayashi, K., Senga, Y., Nomura, K., ... & Kasuga, M. (2011). Role of S6K1 in regulation of SREBP1c expression in the liver. *Biochem Biochemical and Biophysical Research Communications*, 412(2), 197-202. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.07.038>
- Liao, B., & Xu, Y. (2011). Exercise improves skeletal muscle insulin resistance without reduced basal mTOR/S6K1 signaling in rats fed a high-fat diet. *European Journal of Applied Physiology*. 111(11), 2743-2752. <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-011-1892-5>
- Livak, K.J., & Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 25(4), 402-408. <http://dx.doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Luo, Y., Chen, Q., Zou, J., Fan, J., Li, Y., & Luo, Z. (2022). Chronic intermittent hypoxia exposure alternative to exercise alleviates high-fat-diet-induced obesity and fatty liver. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5209. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23095209>
- Mahat, B., Mauger, J F., & Imbeault, P. (2021). Effects of different oxygen tensions on differentiated human preadipocytes lipid storage and mobilisation. *Archives of Physiology & Biochemistry*, 127(1), 37-43. <http://dx.doi.org/10.1080/13813455.2019.1609995>

- Maiti, P., Muthuraju, S., Ilavazhagan, G., & Singh, S.B. (2008). Hypobaric hypoxia induces dendritic plasticity in cortical and hippocampal pyramidal neurons in rat brain. *Behavioural Brain Research*, 189(2), 233-243. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.01.007>
- Melo, L., Bilici, M., Hagar, A., & Klaunig, J.E. (2021). The effect of endurance training on non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Physiological Reports*, 9(15), e14926. <http://dx.doi.org/10.14814/phy2.14926>
- Mylonis, I., Simos, G., & Paraskeva, E. (2019). Hypoxia-inducible factors and the regulation of lipid metabolism. *Cells*, 8(3), 214. <http://dx.doi.org/10.3390/cells8030214>
- Ong, K.T., Mashek, M.T., Bu, S.Y., Greenberg, A.S., & Mashek, D.G. (2011). Adipose triglyceride lipase is a major hepatic lipase that regulates triacylglycerol turnover and fatty acid signaling and partitioning. *Hepatology*, 53(1), 116-126. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.24006>
- O'Rourke, R.W., Meyer, K.A., Gaston, G., White, A.E., Lumeng, C.N., & Marks, D.L. (2013). Hexosamine biosynthesis is a possible mechanism underlying hypoxia's effects on lipid metabolism in human adipocytes. *Public Library of Science*, 8(8), e71165. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0071165>
- Ou, L., & Leiter, J. (2004). Effects of exposure to a simulated altitude of 5500 m on energy metabolic pathways in rats. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 141(1), 59-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2004.04.001>
- Peterson, T.R., Sengupta, S.S., Harris, T.E., Carmack, A.E., Kang, S.A., Balderas, E., ... & Sabatini, D.M. (2011). mTOR complex 1 regulates lipin 1 localization to control the SREBP pathway. *Cell*, 146(3), 408-420. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.034>
- Qiu, S., Xu, H., Lin, Z., Liu, F., & Tan, F. (2019). The blockade of lipophagy pathway is necessary for docosahexaenoic acid to regulate lipid droplet turnover in hepatic stellate cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1841-1850. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.035>
- Rezadoost, M.H., Kordrostami, M., & Kumleh, H.H. (2016). An efficient protocol for isolation of inhibitor-free nucleic acids even from recalcitrant plants. *Biotech*, 6(1), 61. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-016-0375-0>
- Ricoult, S.J., & Manning, B.D. (2013). The multifaceted role of mTORC1 in the control of lipid metabolism. *EMBO Reports*, 14(3), 242-251. <http://dx.doi.org/10.1038/embor.2013.5>
- Sabatini, D.M. (2017). Twenty-five years of mTOR: Uncovering the link from nutrients to growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(45), 11818-11825. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1716173114>
- SaiRam, M., Sharma, S., Dipti, P., Pauline, T., Kain, A., Mongia, S., ... & Devendra, K. (1998). Effect of hypobaric hypoxia on immune function in albino rats. *International Journal of Biometeorology*, 42, 55-59. <http://dx.doi.org/10.1007/s004840050084>
- Santos-Alves, E., Marques-Aleixo, I., Rizo-Roca, D., Torrella, J., Oliveira, P., Magalhães, J., & Ascensão, A. (2015). Exercise modulates liver cellular and mitochondrial proteins related to quality control signaling. *Life Sciences*, 135, 124-130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2015.06.007>

- Schweiger, M., Lass, A., Zimmermann, R., Eichmann, T. O., & Zechner, R. (2009). Neutral lipid storage disease: genetic disorders caused by mutations in adipose triglyceride lipase/PNPLA2 or CGI-58/ABHD5. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(2), E289–E296. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00099.2009>
- Shimano, H., & Sato, R. (2017). SREBP-regulated lipid metabolism: convergent physiology—divergent pathophysiology. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(12), 710-730. <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2017.91>
- Simon, T.G., Roelstraete, B., Hartjes, K., Shah, U., Khalili, H., Arnell, H., & Ludvigsson, J.F. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease in children and young adults is associated with increased long-term mortality. *Journal of Hepatology*, 75(5), 1034-1041. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2021.06.034>
- Suk, M., & Shin, Y. (2015). Effect of high-intensity exercise and high-fat diet on lipid metabolism in the liver of rats. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 19(4), 289. <http://dx.doi.org/10.5717/jenb.2015.15122303>
- Sullivan, S. (2010). Implications of diet on nonalcoholic fatty liver disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 26(2), 160. <http://dx.doi.org/10.1097/mog.0b013e3283358a58>
- Takahashi, Y., Soejima, Y., & Fukusato, T. (2012). Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 18(19), 2300. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v18.i19.2300>
- Tsuru, H., Osaka, M., Hiraoka, Y., & Yoshida, M. (2020). HFD-induced hepatic lipid accumulation and inflammation are decreased in Factor D deficient mouse. *Scientific Reports*, 10(1), 17593. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-74617-5>
- Tu, G., Dai, C., Qu, H., Wang, Y., & Liao, B. (2020). Role of exercise and rapamycin on the expression of energy metabolism genes in liver tissues of rats fed a high-fat diet. *Molecular Medicine Reports*, 22(4), 2932-2940. <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2020.11362>
- Wang, R., Guo, S., Tian, H., Huang, Y., Yang, Q., Zhao, K., . . . & Liu, T. (2019). Hypoxic training in obese mice improves metabolic disorder. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, 527. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2019.00527>
- Wang, Y., Shi, M., Fu, H., Xu, H., Wei, J., Wang, T., & Wang, X. (2010). Mammalian target of the rapamycin pathway is involved in non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular Medicine Reports*, 3(6), 909-915. <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2010.365>
- Wu, B., Xu, C., Tian, Y., Zeng, Y., Yan, F., Chen, A., . . . & Chen, L. (2022). Aerobic exercise promotes the expression of *Atgl* and attenuates inflammation to improve hepatic steatosis via lncRNA SRA. *Scientific Reports*, 12(1), 5370. <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-1035461/v1>
- Wu, F.F., Zhang, K.L., Wang, Z.M., Yang, Y., Li, S.H., Wang, J.Q., ... Wang, Y.Y. (2021). Benefit of a single simulated hypobaric hypoxia in healthy mice performance and analysis of mitochondria-related gene changes. *Scientific Reports*, 11(1), 4494. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-80425-8>
- Wu, J.W., Wang, S.P., Alvarez, F., Casavant, S., Gauthier, N., Abed, L., ... & Mitchell, G.A. (2011). Deficiency of liver adipose triglyceride lipase in mice causes progressive hepatic steatosis. *Hepatology*, 54(1), 122-132. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.24338>



- Yan, Y.H., Chou, C.C., Lee, C.T., Liu, J.Y., & Cheng, T.J. (2011). Enhanced insulin resistance in diet-induced obese rats exposed to fine particles by instillation. *Inhalation Toxicology*, 23(9), 507-519. <http://dx.doi.org/10.3109/08958378.2011.587472>
- Yang, Q., Sun, S., Liu, W., Liu, Q., & Wang, J. (2020). Hypoxia training improves hepatic steatosis partly by downregulation of CB1 receptor in obese mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 525(3), 639-645. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.02.134>
- Yasari, S., Prud'homme, D., Wang, D., Jankowski, M., Levy, E., Gutkowska, J., & Lavoie, J.M. (2010). Exercise training decreases hepatic SCD-1 gene expression and protein content in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 335(1-2), 291-299. <http://dx.doi.org/10.1007/s11010-009-0279-y>
- Yecies, J.L., Zhang, H.H., Menon, S., Liu, S., Yecies, D., Lipovsky, A.I., ... & Manning, B.D. (2011). Akt stimulates hepatic SREBP1c and lipogenesis through parallel mTORC1-dependent and independent pathways. *Cell Metabolism*, 14(1), 21-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2011.06.002>
- Younossi, Z.M., Corey, K.E., Alkhoury, N., Noureddin, M., Jacobson, I., Lam, B., ... & Ravendhra, N. (2020). Clinical assessment for high-risk patients with non-alcoholic fatty liver disease in primary care and diabetology practices. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 52(3), 513-526. <http://dx.doi.org/10.1111/apt.15830>
- Yousefi, S., & Simon, H.-U. (2009). Autophagy in cancer and chemotherapy. *Death Receptors and Cognate Ligands in Cancer*, 183-190. [http://dx.doi.org/10.1007/400\\_2008\\_25](http://dx.doi.org/10.1007/400_2008_25)