



Research Paper

The effect of eight weeks of high-intensity interval swimming on hepatic shbg protein levels and glycemic control variables in high-fat diet-fed male rats

Elham Shahabpour¹, Mohamad Amin Delavari^{1*}, Alireza Jowhari²

Received: Jul 03, 2024

Revised: Sep 24, 2024

Accepted: Sep 28, 2024

Article info

1. Assistant Professor at Department of Sports Sciences, Faculty of Humanities, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2. PhD in Exercise Physiology, Faculty of Psychology and Educational Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran.

***Corresponding Author Address:**
Department of Sport Sciences,
Faculty of Humanities, University of
Hormozgan, Hormozgan, Iran;
E-mail: delavari@hormozgan.ac.ir

Extended Abstract

Background and Aim: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its advanced form, non-alcoholic steatohepatitis (NASH), have been rapidly increased in prevalence worldwide, including in Iran. These hepatic metabolic disorders are associated with an elevated risk of cardiovascular mortality, type 2 diabetes, and other metabolic comorbidities. Hepatokines such as sex hormone-binding globulin (SHBG), beyond their hormonal regulatory functions, have been identified as sensitive biomarkers for the diagnosis of NASH and glycemic disturbances. Recent studies suggest that SHBG concentrations are inversely related to steatosis severity and insulin resistance, lifestyle modifications and physical activity—particularly high-intensity interval training (HIIT)—can enhance SHBG levels. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of eight weeks of HIIT swimming on hepatic SHBG protein levels and selected glycemic control variables in a rat model of NASH induced by a high-fat diet.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 40 male Sprague-Dawley rats (6-8 weeks old, weighing 230 ± 20 g). The animals were randomly assigned to four groups: healthy-control, exercise-healthy, control-patient, and exercise-patient. To induce NASH, the patient groups were fed a high-fat diet for eight weeks. Following confirmation the induction of the disease through macroscopic, microscopic, and biochemical assessments, the exercise intervention was initiated. The exercise groups underwent a HIIT swimming protocol consisting of 20×30 -second swim bouts, each followed by 30 seconds of rest, with a weight attached to the tail. The HIIT was

Cite this article:

Shahabpour E, Delavari M, Jowhari A. The effect of eight weeks of high-intensity interval swimming on hepatic shbg protein levels and glycemic control variables in high-fat diet-fed male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2025;13(35):24-41. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.7853.1892>



conducted three times per week for eight weeks. Exercise intensity progressed from 7% of body weight in the first week to 14% by the eighth week.

Forty-eight hours after the final exercise session, blood and liver tissue samples were collected. SHBG protein levels were measured via Western blot, serum insulin was assessed using ELISA, and fasting blood glucose was determined using a photometric method. Insulin resistance was calculated using the HOMA-IR formula.

During the study, animal housing conditions (temperature 22-24°C, humidity 45%, dark-light cycle 12:12) and free access to water and food were observed. To reduce animal stress, a familiarization phase with the pool and training environment was performed two weeks prior to the intervention. Data were analyzed using one-way analysis of variance and Bonferroni post hoc test at a significance level of $p < 0.05$.

Findings: Pathological, biochemical, and macroscopic changes characteristic of NASH were observed in rats. Macroscopically, the livers of the diseased groups appeared pale and swollen compared to the smooth, reddish livers of the healthy groups. Microscopic observations with H&E and Oil Red O staining revealed marked steatosis, inflammation, and extensive fat accumulation in the livers of the diseased animals, consistent with established NASH pathology and previous studies. Biochemical assays showed significantly increased levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate transaminase (AST) enzymes in diseased groups versus healthy controls, confirming hepatocellular injury and successful disease induction. Hepatic sex hormone-binding globulin (SHBG) protein was highest in the healthy -control group, while significantly reduced in control-patient ($p = 0.001$) and exercise-patient ($p = 0.002$) groups when compared to healthy controls. Still, the exercise-patient group showed a non-significant upward trend in SHBG compared to control-patient. Fasting blood glucose was significantly reduced in the exercise-patient group compared to control-patient ($p = 0.001$), indicating improved glycemic regulation through HIIT swimming. Although insulin and HOMA-IR values were lower in the NASH exercise group compared to the NASH control group, the differences were not statistically significant ($p = 0.14$).

In terms of body weight, the healthy exercise group exhibited a significant reduction compared to both the healthy control ($p = 0.003$) and NASH control ($p = 0.002$) groups. The NASH exercise group also showed a non-significant downward trend in body weight compared to the NASH control group (Table 1).

Table 1. Summary of main variables in experimental groups

Variable	Healthy-Control	Exercise-Healthy	Control-Patient	Exercise-Patient
Body weight (g)	Stable	Reduced*	Increased	Reduced
SHBG (unit/g liver)	High	High	Low*	Slightly higher
Fasting blood glucose (mgU/dL)	Low	Low	High*	Reduced*
Insulin (ngU/mL)	Low	Low	High*	Reduced
Insulin resistance (micro.U/L)	Low	Low	High*	Reduced

*Significant difference compared to respective control groups, $p < 0.05$.

Conclusion: The findings of this study clearly demonstrate that eight weeks of HIIT swimming significantly reduced fasting blood glucose and prevented further declines in hepatic SHBG levels in a diet-induced NASH rat model. Although changes in insulin resistance were not statistically significant, a downward trend was observed, reflecting the exercise's potential for beneficial impact. Given the prognostic value of SHBG in liver pathology and type 2 diabetes, the present results underscore the capacity of HIIT to modulate metabolic disorders and possibly exert direct regulative effects on hepatic molecular dynamics. Additionally, aquatic environments may minimize injury risk and inflammation, making swimming particularly suitable for metabolically impaired subjects. In summary, sustained high-intensity exercise—even in the absence of dietary restriction—can play a crucial role in managing

NAFLD/NASH. Further research is warranted to explore the underlying mechanisms and long-term effects of such interventions.

Keywords: High-intensity interval training; Non-alcoholic steatohepatitis; Sex hormone-binding globulin; Insulin resistance; Fasting blood glucose.

Ethical Considerations: This study was approved by the Research Ethics Committee of Shiraz University of Medical Sciences (Code: IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008). All experimental procedures were conducted in accordance with institutional guidelines for the care and use of laboratory animals.

Compliance with Ethical Guidelines: The research adhered to the ethical standards of the Declaration of Helsinki and institutional guidelines. Participation was voluntary, and confidentiality of data was maintained at all stages.

Funding: This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest regarding the publication of this study.



مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر سطوح پروتئین SHGB کبد و برخی از متغیرهای کنترل گلاسمیک در موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با غذای پرچرب

الهام شهاب پور^۱، محمدمبین دلاوری^{۱*}، علیرضا جوهری^۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۳

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و هدف: بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) پیش‌بینی‌کننده‌ی خطر قوی برای دیابت نوع دو می‌باشد. سطح گلوبولین متصل به هورمون جنسی (SHBG) یک پیش‌بینی‌کننده برای NASH است. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر سطوح پروتئین SHGB کبد و برخی از متغیرهای کنترل گلاسمیک در موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با غذای پرچرب انجام شد. **روش تحقیق:** تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر (سن: شش تا هشت هفته، وزن: 20 ± 230 گرم، نژاد: اسپراگوه-داولی) پس از دوره القا بیماری NASH، به‌طور تصادفی در چهار گروه کنترل - بیمار، تمرین - بیمار، کنترل - سالم و تمرین - سالم قرار گرفتند. تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت (هشت هفته، سه روز در هفته، روزهای زوج) بود. در پایان، پروتئین SHBG درون کبدی به شیوه وسترن بلات و انسولین و قندخون ناشتای سرم به ترتیب به روش الایزا و فتومتریک اندازه‌گیری شد. هم‌چنین مقاومت به انسولین با استفاده از داده‌های قندخون ناشتا و انسولین؛ از طریق فرمول محاسبه گردید. برای تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون بونفرونی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ استفاده شد. **یافته‌ها:** در متغیر SHBG، در گروه کنترل - بیمار نسبت به کنترل - سالم ($p = 0.002$)، و گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - سالم ($p = 0.001$) و گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - سالم ($p = 0.001$)، کاهش معنی‌دار مشاهده شد. از سوی دیگر، کاهش معنی‌دار قندخون ناشتا در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار ($p = 0.001$) دیده شد؛ اما مقاومت به انسولین در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار ($p = 0.14$) تغییر معنی‌داری نداشت. **نتیجه‌گیری:** تمرینات شنا با شدت بالا، احتمالاً بتواند موجب کاهش و کنترل قندخون ناشتا از طریق پروتئین SHBG درون کبدی در بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، استئاتوهپاتیت غیرالکلی، پروتئین گلوبولین متصل به هورمون جنسی، مقاومت به انسولین.

۱. استادیارگروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه هرمزگان، هرمزگان، ایران.
۲. دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

* آدرس نویسنده مسئول:
هرمزگان، دانشگاه هرمزگان،
دانشکده علوم انسانی، گروه علوم
ورزشی؛

پست الکترونیک:

delavari@hormozgan.ac.ir

مقدمه

شیوع جهانی بیماری کبد چرب غیرالکلی^۱ (NAFLD) در سال ۲۰۱۶، ۲۵ درصد بود و در سال ۲۰۱۹ به بیش از ۳۰ درصد افزایش یافت. شیوع این بیماری در آسیا، آمریکای لاتین و خاورمیانه-آفریقای شمالی به ترتیب ۳۰/۸ درصد، ۳۴/۵ درصد و ۴۲/۶ درصد است (۱). شیوع NAFLD در جمعیت‌های خاص، به ویژه در میان افراد چاق و مبتلایان به سندرم متابولیک بالاتر است (۲). شیوع جهانی استئاتوهپاتیت غیرالکلی^۲ (NASH) بین دو تا شش درصد برآورد شده است. تقریباً هفت درصد از بیماران مبتلا به NAFLD فیروز پیشرفته دارند. این میزان در بین بیماران مبتلا به NASH بین ۲۱ تا ۵۰ درصد بوده است. میزان مرگ و میر مربوط به NAFLD، به ویژه آن‌هایی که به علائم NASH مبتلا هستند، حدود ۲۰ نفر در هر ۱۰۰۰ نفر در سال بوده و این آمار هر ساله رو به افزایش است (۱). این بیماری با سایر ناهنجاری‌های متابولیک از جمله هیپرتری‌گلیسیریدیسم^۳ و سطوح پایین لیپوپروتئین کلسترول با چگالی بالا^۴ (HDL)، عدم تحمل گلوکز، مقاومت به انسولین، دیابت نوع دو و بیماری قلبی-عروقی، رابطه دارد. نشان داده شده است که برخی هپاتوکین‌ها از جمله گلوبولین متصل به هورمون جنسی^۵ (SHBG) می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی در بیماران NAFLD عمل کنند و تأثیرات بالقوه‌ای از خود نشان دهند (۳). عامل SHBG یک پروتئین ترشح شده از کبد است که استروئیدهای جنسی را به بافت‌های هدف آن‌ها متصل می‌کند و آن‌ها را انتقال می‌دهد (۴). بسیاری از مطالعات، عملکرد SHBG را با اختلال در متابولیسم مرتبط می‌دانند (۵). ترشح SHBG مستقل از سن و جنسیت، به‌طور معکوس با استئاتوز کبدی^۶، خطر قلبی-متابولیکی و مقاومت به انسولین مرتبط است و سطوح پایین SHBG یک پیش‌بینی‌کننده قوی برای خطر ابتلا به دیابت نوع دو است (۶). چربی کبد، فارغ از چربی احشایی یا چربی کل بدن، یک پیش‌بینی‌کننده مستقل برای سطوح SHBG می‌باشد (۷). مداخلات سبک زندگی از جمله رژیم غذایی و فعالیت بدنی، باعث کاهش چربی کبد و افزایش سطح SHBG می‌شود (۸).

تمرین تناوبی با شدت بالا^۷ (HIIT)، به‌عنوان یک روش تمرینی جدید شناخته شده است (۹). این شیوه تمرینی شامل دوره‌های تلاش حداکثری با فواصل استراحت فعال یا غیرفعال میان این دوره‌هاست. تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که مزیت‌های پروتکل‌های HIIT و تمرینات تداومی با شدت متوسط^۸ (MICT) مشابه هستند و حتی در برخی تحقیقات مزیت‌های HIIT بالاتر بوده است (۱۲-۱۰). پتن^۹ و دیگران (۲۰۲۲)، پس از مقایسه تمرینات HIIT و MICT بر تغییرات SHBG، دریافتند که تمرینات HIIT باعث افزایش بیشتر این پروتئین نسبت به تمرین MICT می‌شود. از طرف دیگر، با وجود تمام مزیت‌های ناشی از انجام فعالیت HIIT، این نوع از تمرینات در محیط خشکی با مشکلات و موانعی همراه است (۱۲)؛ به‌گونه‌ای که در افراد چاق مبتلا به NASH به‌دلیل سنگینی وزن و ماهیت پرشدت بودن این مدل فعالیت، خطر ایجاد صدمه، به‌وجود می‌آید. همچنین، چالش‌های فراوانی بر سر این موضوع وجود دارد که ورزش در محیط آبی به اندازه ورزش در محیط خشکی می‌تواند مؤثر باشد (۱۳). با این حال، هم‌چنان در این زمینه بحث و تفاوت نظر زیادی بر سر بهترین پروتکل تمرینی از نظر نوع، شدت و حجم تمرین وجود دارد (۱۴). صمدی و دیگران (۲۰۱۹)، پس از ۱۲ هفته تمرینات تداومی در آب، افزایش معنی‌دار SHBG و کاهش معنی‌دار مقاومت به انسولین را در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مشاهده نموده‌اند (۱۵). کیم^۱ و دیگران (۲۰۲۱)، پس از یک دوره تمرین فزاینده در آب بر زنان سالمند، افزایش SHBG و کاهش مقاومت به انسولین و درصد چربی بدن را گزارش کرده‌اند (۱۶). آب به دلیل خواص بی‌نظیر هیدرودینامیکی^{۱۱} و ایجاد شرایط بی‌وزنی، باعث کاهش صدمات ناشی از HIIT می‌شود. هم‌چنین، به علت انتقال مناسب گرما در آن، مانع از افزایش دمای بدن در حین تمرینات با شدت بالا می‌شود و در نتیجه، التهاب ناشی از ورزش را کاهش می‌دهد و این موضوع برای بیماران متابولیکی که دارای التهاب سیستمیک دائمی هستند، بسیار حائز اهمیت است (۱۷). محققین حاضر، تحقیقی در زمینه تأثیر HIIT شنا بر بیان پروتئین

1. Nonalcoholic fatty liver disease

2. Nonalcoholic steatohepatitis

3. Hypertriglyceridemia

4. High density lipoprotein cholesterol

5. Sex hormone-binding globulin

6. Hepatic steatosis

7. High-intensity interval training

8. Moderate-intensity continuous training

9. Patten

10. Kim

11. Hydrodynamics

به موش‌های صحرایی گروه HFD خورانده شد. محتوای امولسیون پرچرب از ۷۷ درصد چربی، ۱۴ درصد پروتئین و ۹ درصد کربوهیدرات تشکیل گردید. محتوای این امولسیون شامل روغن ذرت، ساکاروز، پودر شیر خشک، کلسترول، سدیم دزوکسی کولات، توئین ۸۰، پروپیلین گلیکول، مخلوط ویتامین، مواد معدنی و آب مقطر بود. در این امولسیون، پروتئین‌ها توسط پودر شیر خشک، کربوهیدرات‌ها توسط ساکاروز، و چربی توسط روغن ذرت و پودر کلسترول تأمین شدند. هر وعده با مخلوطی از ویتامین و مواد معدنی تکمیل شد. این امولسیون در دمای چهار درجه سانتی‌گراد ذخیره و هنگام استفاده در ظرف آب با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد گرم شد و سپس کاملاً میکس و مخلوط گردید (۱۸). به موش‌های صحرایی گروه سالم نیز از طریق تکنیک گاوژ، روزانه مقدار مساوی محلول نمک (سالین) داده شد.

اثبات القاء بیماری NASH: پس از پایان هشت هفته، از هر گروه دو موش صحرایی به‌طور تصادفی انتخاب و تشریح شدند (گروه سالم: دو سر و HFD: دو سر). برای اثبات بیماری NASH، از نظر ماکروسکوپی (ظاهر، حالت و رنگ بافت)، میکروسکوپی (از طریق رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین^۴ (H&E) و رنگ‌آمیزی روغن قرمز O^۵؛ و همچنین از نظر بیوشیمیایی (اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز^۶ (ALT) و آسپارات آمینو ترانسفراز^۷ (AST) مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی روغن قرمز O بافت کبد که قبلاً در نیتروژن مایع خنک شده بود، در ایزوپنتان^۸ غوطه‌ور شد و در دمای برش بهینه^۹ قرار داده شد و متعاقباً برای تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی مورفولوژی کبد و محتوای چربی، ذخیره شد. نمونه‌های کبد روی یک کرایواستات لیکا میکروسیستم^{۱۰} ساخت کشور آلمان به برش‌هایی به ضخامت پنج میکرومتر برش داده شدند. مقاطع کبد با پروتکل روغن قرمز O، ساخت کمپانی مرک آلمان^{۱۱} رنگ‌آمیزی شدند. تصاویر، زیر یک میکروسکوپ نوری المپیوس^{۱۲} ساخت کشور ژاپن مشاهده شد و از یک میدان تصادفی چهل ایکس^۱ از کبد هر موش صحرایی با استفاده از نرم افزار تاپ ویو^۲ ساخت کشور چین، گرفته شد (۱۹).

SHBG درون کبدی و تغییرات مقاومت به انسولین، متعاقب تغییرات این پروتئین ناشی از تمرین را در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی نیافتند. از آن‌جا که کنترل مقاومت به انسولین یکی از اهداف فعالیت ورزشی در بیماری NASH می‌باشد، بررسی عامل مولکولی مرتبط با آن، از جمله SHBG، بسیار حائز اهمیت است. به همین دلیل تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته HIIT شنا بر سطوح پروتئین SHBG کبد و برخی از متغیرهای کنترل گلاسمیک در موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با غذای پرچرب، انجام شد.

روش تحقیق

نمونه‌های حیوانی و رژیم غذایی: پژوهش حاضر با توجه به هدف، از نوع کاربردی و از نظر روش کار، از نوع تجربی بود. در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر (سن: شش تا هشت هفته) از نژاد اسپراگ-داولی^۱ با میانگین وزن 20 ± 230 گرم، از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شدند. اصول اخلاقی پژوهش مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه شیراز با کد IR.SUMS. REHAB.REC.1400.008 رعایت گردید. موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به دو گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شدند و غذای استاندارد دریافت کردند. گروه دوم طی مدت هشت هفته اول، علاوه بر غذای استاندارد، تحت رژیم غذایی پرچرب^۲ (HFD) قرار گرفتند؛ تا بیماری NASH در آن‌ها القا شود (۱۸). موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشگاه شیراز با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی به‌صورت آزادانه و استاندارد در دسترس حیوانات قرار داشت. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزادانه در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. رژیم پرچرب به‌کار رفته در هشت هفته اول تحقیق حاضر به‌صورت امولسیون^۳ (به حالت مایع با ویسکوزیته بالا) استفاده شد و با استفاده از روش گاوژ روزانه (به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)

1. Sprague – Dawley

2. High fat diet

3. Emulsion

4. Hematoxylin and Eosin

5. Oil red O staining protocol

6. Alanine transaminase

7. Aspartate aminotransferase

8. Isopentane

9. Tissue-Plus® (OCT) (Fisher HealthCare™)

10. Cryostat Leica Microsystems

11. Merck, Darmstadt, Germany, 105230

12. Olympus

تناوبی، چندین مرتبه پس از یک دقیقه شنا به وسیله صفحه استراحت از آب خارج شده و دوباره در آب قرار داده شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آخرین جلسه آشنایی، موش‌های صحرایی گروه تمرین، ابتدا پنج دقیقه گرم کردن و سپس تمرین اصلی HIIT شنا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. در پایان هر برنامه تمرینی نیز پنج دقیقه عمل سرد کردن اعمال شد و سپس، تمام موش‌های صحرایی کاملاً خشک شده و به قفس‌هایشان منتقل شدند. این برنامه تمرینی به مدت هشت هفته (سه روز در هفته، روزهای زوج) انجام شد. بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به میزان هفت درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود و هر هفته یک درصد به آن اضافه شد؛ به طوری که در هفته آخر (هشتم) موش‌های صحرایی با وزنه‌ای به میزان ۱۴ درصد وزن بدن خود شنا کردند (جدول یک) (۲۲). تمرینات، عصرهنگام (بهترین زمان تمرین در بازه فعالیتی طبیعی موش‌های صحرایی) انجام شد (۲۳).

نحوه مداخله تمرینی: پس از اثبات القا بیماری در موش‌های صحرایی (۲۰)، از گروه HFD، ۱۸ سر موش صحرایی باقی ماند که به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل-بیمار (۹ سر) و تمرین-بیمار (۹ سر) تقسیم شدند. از گروه سالم نیز ۱۸ سر موش صحرایی باقی ماند و آن‌ها نیز به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل-سالم (۹ سر) و گروه تمرین-سالم (۹ سر) تقسیم شدند. لازم به ذکر است رژیم غذایی پرچرب گروه‌های بیمار تا پایان دوره تمرینات ادامه داشت. موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین به مدت دو هفته مرحله آشنایی با استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) را قبل از شروع تمرین اصلی گذراندند (۲۱). در هفته اول، موش‌های صحرایی با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب ۵۰ سانتی‌متر و میانگین دمای 30 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت ۲۰ دقیقه به‌طور متناوب شنا کردند. در هفته دوم، وقتی که موش‌های صحرایی به خوبی با استخر حیوانات آشنا شدند؛ برای آشنایی با نوع تمرین

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی شنا با شدت بالا

هفته‌ها	گرم کردن (دقیقه)	تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)	سرد کردن (دقیقه)
هفته اول	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۷	۵
هفته دوم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۸	۵
هفته سوم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۹	۵
هفته چهارم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۰	۵
هفته پنجم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۱	۵
هفته ششم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۲	۵
هفته هفتم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۳	۵
هفته هشتم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۴	۵

در زمان اجرای برنامه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (سه تا پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. ابتدا نمونه‌های خونی از بطن چپ قلب موش‌های صحرایی به میزان پنج سی‌سی گرفته شد؛ بلافاصله در داخل لوله آزمایش ژل کلات انتقال یافت و سپس با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲۰

روش‌های آزمایشگاهی: وزن موش‌های صحرایی در روز اول شروع دوره تحقیق اندازه‌گیری شد و پس از آن، به‌طور منظم در عصر روزهای جمعه هر هفته، وزن‌کشی انجام شد و تا پایان دوره تحقیق این روند ادامه داشت. پس از به‌دست آوردن وزن هر یک از موش‌های صحرایی در هر گروه، میانگین وزنی هر گروه ثبت شد. در طول مداخله، گروه‌های کنترل-سالم و کنترل-بیمار هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل از جمله استرس آزمودنی‌ها

مقادیر انسولین و گلوکز ناشتا طی فرآیندهای آزمایشگاهی، اندازه‌گیری مقاومت به انسولین با استفاده از شاخص مقاومت به انسولین از طریق معادله زیر محاسبه شد (۴۲):

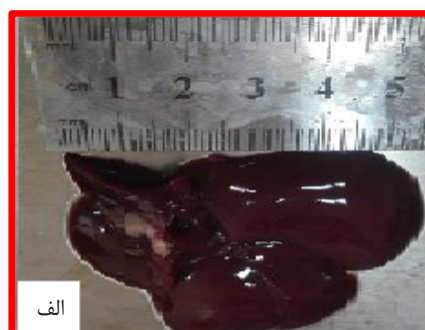
$$IR = [\text{fasting glucose (mg/dL)} \times \text{fasting insulin (mU/L)} \div 405]$$

روش‌های تحلیل آماری: در بخش آمار توصیفی، از شاخص‌های پراکندگی، میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. در بخش آمار استنباطی برای تعیین نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک^{۱۰} استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن داده‌ها، از روش تجزیه و تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی^{۱۱} برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها و تعیین محل دقیق تفاوت‌ها استفاده گردید. همچنین از آزمون t مستقل برای بررسی تفاوت میان دو گروه سالم و HFD در پایان مرحله القا NASH، استفاده شد. تمام روش‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ انجام شد و برای رسم نمودارها، از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۹ بهره‌برداری گردید.

یافته‌ها

یافته‌های مربوط به اثبات NASH در پایان دوره القاء بیماری NASH از طریق رژیم پرچرب، از نظر ماکروسکوپی (شکل یک)، میکروسکوپی (شکل دو) و بیوشیمیایی (جدول یک) آورده شده است. همان‌طور که در شکل یک مشاهده می‌شود، رنگ بافت کبد HFD به دلیل تجمع بالای تری‌گلیسیرید در آن، متمایل به روشن‌تر و رنگ کبد سالم به دلیل عدم تجمع تری‌گلیسیرید، به رنگ تیره‌تر می‌باشد.

دقیقه، سانتریفیوژ شدند. پس از آن، توسط سمپلر به میکروتیوب‌های دو سی‌سی سرم خون منتقل شد و برای آنالیز نهایی، در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس بافت کبد از بدن حیوانات استخراج و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و بلافاصله در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز گردید. آنزیم‌های AST، ALT و قندخون ناشتا با کیت شرکت پارس آزمون (ساخت ایران) با روش آزمایشگاهی فتومتریک سنجش شدند. برای اندازه‌گیری انسولین سرم، از کیت آنتی بادی جفتی همسان مخصوص رت^۱ (ساخت کشور کانادا) و به روش روش الایزا^۲ و همچنین برای اندازه‌گیری پروتئین SHBG درون کبدی، از روش وسترن بلات^۳ استفاده شد. به‌طور کلی مراحل انجام تکنیک وسترن بلات به ترتیب شامل لیزکردن بافت، تعیین غلظت پروتئین به‌وسیله بردفورد^۴، تهیه غلظت‌های مختلف با استفاده از آلبومین سرم گاوی^۵ (BSA) برای کشیدن منحنی استاندارد، غلظت‌های پروتئین، آب و سمپل بافر، آماده‌سازی نمونه، ساخت الکتروفورز بر روی ژل (تکنیک سدیم دودسیل سولفات-پلی آکریل آمید الکتروفورز ژل) (SDS page)^۶، تهیه محلول‌ها، روش انجام آزمایش و ساختن ژل پایین و بالا، الکتروفورز بر ژل SDS page، وسترن بلات یا ایمونوبلاتینگ^۷، مرحله انتقال از ژل به کاغذ، مرحله بلاکینگ^۸، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی اولیه، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی ثانویه، مرحله آشکارسازی، مرحله ظهور فیلم در تاریک‌خانه، و روش نواربندی^۹ بود. در مطالعه حاضر، بعد از اندازه‌گیری



شکل ۱. مقایسه نمای ظاهری کبد سالم (الف) و کبد بیمار (ب)، بلافاصله پس از تشریح در پایان دوره القاء بیماری NASH با رژیم پرچرب

1. Rattus norvegicus (Rat) INS Matched Anti-body Pair Kit
2. ELISA method
3. Western Blot method
4. Bradford

5. Bovine serum albumin
6. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
7. Immunoblotting
8. Blocking stage

9. Stripping method
10. Shapiro-Wilk
11. Bonferroni

نمونه کبد HFD، نشان‌دهنده میزان تجمع‌تری‌گلیسیرید در این بافت است. با این حال، در نمونه کبد سالم هیچ نوع نقطه قرمز رنگی مشاهده نمی‌شود و نشان‌دهنده عدم تجمع تری‌گلیسیرید در نمونه بافت کبد سالم است.

از نظر میکروسکوپی با استفاده از رنگ آمیزی روغن قرمز O، در گروه HFD تجمع چربی بیشتری وجود دارد و این در حالی است که هیچ نشانه‌ای از تجمع چربی در نمونه کبد گروه سالم دیده نمی‌شود (شکل دو). همان‌گونه که در شکل دو مشهود است، تعداد نقطه‌های قرمز رنگ در



شکل ۲. رنگ آمیزی بافت کبد توسط روغن قرمز O (نمای میکروسکوپی)، الف: کبد سالم - به دلیل عدم وجود چربی هیچ نوع رنگ قرمزی به خود نگرفته است. ب: کبد چرب، لیپیدها به رنگ قرمز درآمده‌اند.

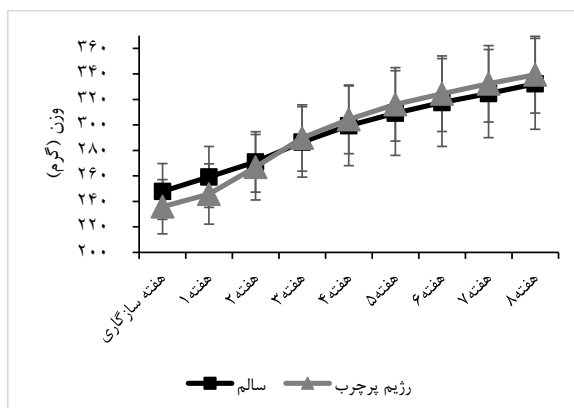
جدول ۲. یافته‌های مربوط به آنزیم‌های کبدی AST و ALT سرم جهت اثبات NASH

متغیرها	گروه	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد	p
AST (واحد در لیتر)	سالم	$39/81 \pm 1/40$	۰/۰۲*
	رژیم پرچرب	$64/37 \pm 3/47$	
ALT (واحد در لیتر)	سالم	$43/34 \pm 2/95$	۰/۰۲*
	رژیم پرچرب	$67/12 \pm 2/58$	

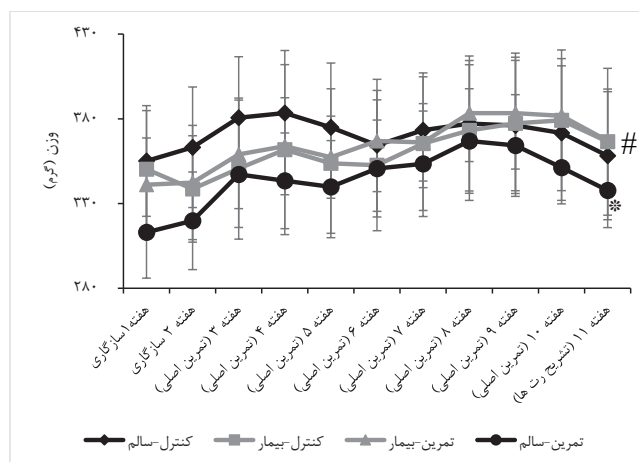
* نشانه تفاوت معنی داری در سطح $p < 0/05$.

داده شده است. یافته‌ها نشان دادند تفاوت معنی‌دار میان این دو گروه در مدت هشت هفته وجود ندارد ($p = 0/84$) (شکل سه). نتایج آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی، وزن گروه‌های تحقیق طی ۱۱ هفته؛ به صورت هفتگی را نشان می‌دهد (شکل چهار). بر اساس میانگین وزن هر گروه در کل دوره مداخله تمرینی، وزن گروه تمرین - سالم در مقایسه با گروه کنترل - سالم ($p = 0/003$) و گروه کنترل - بیمار ($p = 0/002$) کاهش معنی‌دار داشت.

هم‌چنین بر اساس نتایج آزمون t مستقل، یافته‌های مربوط به آنزیم‌های کبدی AST و ALT سرم در موش‌های صحرایی تشریح شده در پایان دوره القاء NASH از طریق رژیم پرچرب، در جدول دو نشان داده شده است. یافته‌ها نشان دادند که در آنزیم‌های کبدی AST و ALT سرم بین دو گروه سالم و گروه HFD تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول دو). نتایج آزمون t مستقل در مورد شاخص وزن (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) در گروه‌های سالم و HFD، در مدت هشت هفته القا رژیم پرچرب، در شکل سه نمایش



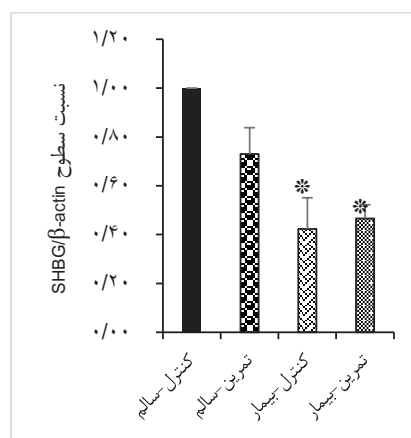
شکل ۳. مقایسه میانگین وزن بین دو گروه سالم و رژیم پرچرب در دوره القا بیماری (هشت هفته اول)



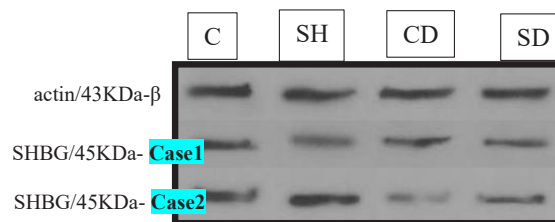
شکل ۴. مقایسه میانگین وزن در مرحله دوم تحقیق. *: نشانه تفاوت معنی‌دار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-سالم. #: نشانه تفاوت معنی‌دار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-بیمار در سطح $p < 0.001$.

افزایش غیرمعنی‌دار در گروه تمرین-بیمار ($p = 0.90$) و تمرین - سالم ($p = 0.29$) نسبت به کنترل - بیمار مشاهده شد. شکل شش، تغییرات پروتئین SHBG بافت کبد به صورت نوارهای رنگی و کیفی-بصری با استفاده از روش اندازه‌گیری وسترن بلات را نشان می‌دهد.

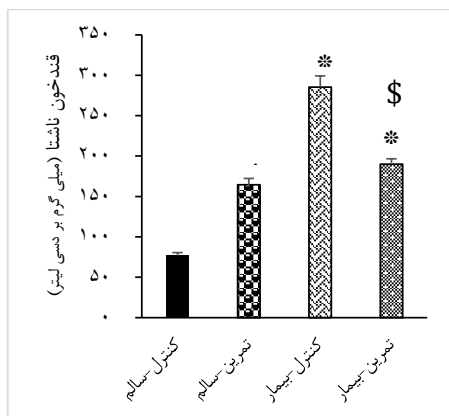
استفاده از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که در متغیر SHBG، تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها وجود دارد ($p = 0.01$). همان‌گونه که در شکل پنج نشان داده شده است، کاهش معنی‌دار در گروه کنترل - بیمار ($p = 0.01$) و تمرین - بیمار ($p = 0.02$) نسبت به کنترل - سالم وجود دارد. همچنین



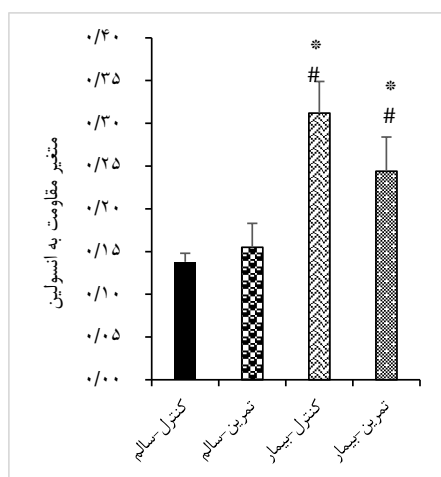
شکل ۵. مقایسه تغییرات سطوح پروتئین SHBG. *: نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین-بیمار و گروه کنترل-بیمار در مقایسه با گروه کنترل-سالم در سطح $p < 0.001$.



شکل ۶. نسبت بیان SHBG/β-actin - باندهای پروتئینی به تفکیک هر گروه مشخص شده است. میزان شدت رنگ و ضخامت باندها نسبت به بتا اکتین سطح غلظت پروتئین SHBG بافت کبد را نشان می‌دهد (C: کنترل - سالم، SH: تمرین - سالم، CD: کنترل - بیمار، SD: تمرین - بیمار).



شکل ۸. مقایسه تغییرات در متغیر قندخون ناشتا، * نشانه تفاوت معنی‌دار گروه کنترل - بیمار، تمرین - بیمار و تمرین - سالم نسبت به کنترل - سالم در سطح $p < 0.001$. # نشانه تفاوت معنی‌دار گروه کنترل - بیمار و تمرین - بیمار نسبت به تمرین - سالم در سطح $p < 0.001$. \$ نشانه تفاوت معنی‌دار گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار در سطح $p < 0.001$.

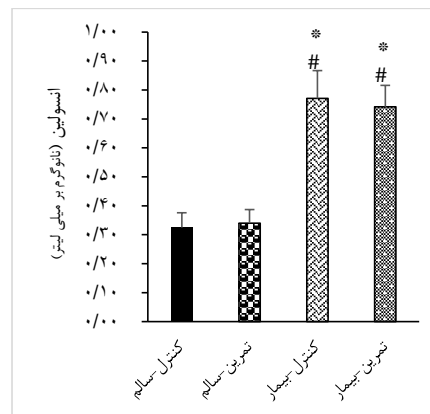


شکل ۹. مقایسه تغییرات متغیر مقاومت به انسولین، * نشانه تفاوت معنی‌دار گروه کنترل - بیمار و گروه تمرین - بیمار نسبت به گروه کنترل - سالم در سطح $p < 0.001$. # نشانه تفاوت معنی‌دار گروه کنترل - بیمار و تمرین - بیمار نسبت به گروه تمرین - سالم در سطح $p < 0.001$.

بحث

یافته‌ها تحقیق حاضر نشان دادند که پروتئین SHBG در گروه کنترل - بیمار و تمرین - بیمار نسبت به گروه کنترل - سالم کاهش معنی‌دار و همچنین در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار، افزایش غیرمعنی‌دار داشت. همچنین، سطح قندخون ناشتا در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار، کاهش معنی‌دار اما در متغیرهای

با توجه به شکل هفت، در متغیر انسولین، افزایش معنی‌دار گروه کنترل - بیمار ($p = 0.001$) و تمرین - بیمار ($p = 0.001$)، نسبت به کنترل - سالم مشاهده شد. همچنین افزایش معنی‌دار گروه کنترل - بیمار ($p = 0.001$) و تمرین - بیمار ($p = 0.001$) نسبت به تمرین - سالم وجود داشت. با این حال، میزان این شاخص در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار کاهش غیرمعنی‌دار ($p = 0.76$) داشت.



شکل ۷. مقایسه تغییرات در متغیر انسولین سرم، * نشانه تفاوت معنی‌دار گروه کنترل - بیمار و تمرین - بیمار نسبت به گروه کنترل - سالم در سطح $p < 0.001$. # نشانه تفاوت معنی‌دار گروه کنترل - بیمار و تمرین - بیمار نسبت به گروه تمرین - سالم در سطح $p < 0.001$.

همان‌طور که در شکل هشت دیده می‌شود در متغیر قندخون ناشتا، افزایش معنی‌دار گروه کنترل - بیمار ($p = 0.001$)، تمرین - بیمار ($p = 0.001$) و تمرین - سالم ($p = 0.001$)، نسبت به کنترل - سالم مشاهده شد. همچنین افزایش معنی‌دار گروه کنترل - بیمار ($p = 0.001$) و تمرین - بیمار ($p = 0.004$) نسبت به تمرین - سالم، وجود داشت. از سوی دیگر کاهش معنی‌دار گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار ($p = 0.001$)، مشاهده شد. براساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی، در شکل نه، در متغیر مقاومت به انسولین، افزایش معنی‌دار در گروه کنترل - بیمار ($p = 0.001$) و تمرین - بیمار ($p = 0.002$)، نسبت به گروه کنترل - سالم مشاهده شد. همچنین افزایش معنی‌دار گروه کنترل - بیمار ($p = 0.002$) و تمرین - بیمار ($p = 0.004$)، نسبت به گروه تمرین - سالم وجود داشت. با این حال کاهش غیرمعنی‌دار گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار ($p = 0.14$) دیده شد.

افزایش عملکرد میتوکندری و در نتیجه، جذب گلوکز شده و حساسیت به انسولین را بالا می‌برد (۲۸). یافته‌های تحقیق حاضر نیز نشان داد در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار، همراستا با کاهش اندک در مقدار انسولین سرم، قندخون ناشتا کاهش معنی‌دار یافت و احتمالاً یکی از دلایل فیزیولوژیکی آن مربوط به اثر تمرین ورزشی بر مکانیسم انسولین و جذب گلوکز خون توسط عضلات اسکلتی فعال است که پیش از این به آن اشاره شد.

یافته‌های مطالعه حاضر در مورد نمونه‌های مبتلا به بیماری NASH مطابق با مطالعات مقطعی بود که در آن سطوح پایین SHBG با سندرم متابولیک یا اجزای آن، از جمله چاقی شکمی، مقاومت به انسولین، هیپرانسولینمی، دیس لیپیدمی^۵ و اختلال در متابولیسم گلوکز همراه است (۲۹)؛ به طوری که در تحقیق حاضر گروه کنترل - بیمار از کمترین میزان پروتئین SHBG نسبت به سایر گروه‌های آزمایش برخوردار بود و این می‌تواند جزو اولین یافته‌هایی باشد که نشان می‌دهد در مدل بیماری NASH این پروتئین کاهش بسیار زیادی خواهد داشت و می‌تواند بر اختلال قندخون و افزایش مقاومت به انسولین بسیار موثر باشد. SHBG در گردش به شدت با لیپیدها و متابولیت‌های متعدد مرتبط است که نشان‌دهنده میزان چربی و مقاومت به انسولین در مردان است (۳۰). این موضوع بیانگر این است که تستوسترون پایین ممکن است نشانگر عدم تعادل متابولیک باشد که بر تولید SHBG کبدی تأثیر می‌گذارد (۲۴). شواهد کنونی نشان می‌دهد که رابطه بین غلظت پایین تستوسترون و دیابت نوع دو، ممکن است دو طرفه یا حتی چند وجهی باشد؛ به طوری که با چاقی، سندرم متابولیک، SHBG و سایر عوامل در ارتباط است (۳۱). در شرایط مقاومت به انسولین، این ارتباط کاهشی میان غلظت تستوسترون و SHBG، نشان‌دهنده تنظیم گنادوستات^۶ هیپوفیز در سطح پایین‌تر، برای حفظ همان سطح تستوسترون آزاد است (۳۲). سطوح پایین SHBG سرم نیز اغلب در شرایط مربوط به مقاومت به انسولین مشاهده می‌شود و به عنوان یک پیش‌بینی‌کننده برای بروز دیابت نوع دو و سندرم متابولیک در نظر گرفته شده است (۳۳). در چاقی و هیپرانسولینمی ثانویه به مقاومت به انسولین، کاهش

مقاومت به انسولین و انسولین، کاهش غیرمعنی‌دار داشت. از آنجایی که SHBG پایین با مقاومت به انسولین بالا و مقادیر بالای انسولین مستقل از تغییرات وزن مرتبط است، سطوح پایین SHBG ممکن است به‌عنوان شاخص هیپرانسولینسم^۱ و مقاومت به انسولین عمل کند (۲۴). کیم^۲ و دیگران (۲۰۲۱)، پس از یک دوره فعالیت ورزشی هوازی در آب، افزایش سطح SHBG و کاهش قندخون و مقاومت به انسولین، مستقل از تغییرات محسوس در وزن زنان سالمند را مشاهده کردند (۱۶). در تحقیق حاضر نیز با وجود این که تغییرات وزن در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار کاهش غیرمعنی‌دار داشت، کاهش معنی‌دار قندخون ناشتا و کاهش غیرمعنی‌دار مقاومت به انسولین و افزایش اندک در پروتئین SHBG مشاهده شد. یکی از دلایل مهمی که ممکن است بر مقاومت به انسولین و پروتئین SHBG کبد بسیار موثر باشد؛ مصرف مداوم رژیم پرچرب ۷۷ درصد توسط نمونه‌های تحقیق حاضر تا پایان دوره تحقیق بود. از آنجا که عوامل پروتئینی متعددی بر مقاومت به انسولین و پروتئین SHBG تأثیر می‌گذارد، ممکن است به‌واسطه مصرف مداوم رژیم پرچرب نزدیک ۸۰ درصد چربی، تحت تأثیر قرار گرفته باشند. با وجود این، شرایط فعالیت HIIT شنا توانست از کاهش بیشتر پروتئین SHBG جلوگیری کند و حتی آن را اندکی افزایش دهد؛ همچنین، سبب کنترل قندخون و مقاومت به انسولین گردید. یکی از دلایل دیگر کاهش معنی‌دار قندخون در تحقیق حاضر احتمالاً اثر مستقیم ورزش، مستقل از انسولین است. فعالیت ورزشی، انتقال‌دهنده گلوکز نوع ۴^۳ (GLUT4) را در عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد و با افزایش انسولین که سطح گلوکز را کاهش می‌دهد، فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B^۴ (PKB/Akt) را القا می‌کند (۲۵). همچنین فعالیت ورزشی، به‌واسطه تحریک غشای عضلانی و سلول‌ها، جذب گلوکز را افزایش می‌دهد (۲۶) و با کاهش مقاومت به انسولین از طریق افزایش توده عضلانی و کاهش توده چربی، حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد (۲۷). بنابراین، ورزش منظم در آب، اتصال انسولین را در سلول‌های عضلانی افزایش می‌دهد و سطح گلوکز خون را با سطوح پایین انسولین تنظیم می‌کند. همچنین فعالیت ورزشی باعث

1. Hyperinsulinism

2. Kim

3. Glucose transporter type 4

4. Protein kinase B

5. Dyslipidemia

6. Gonadostat

در یک مطالعه، همبستگی منفی SHBG با عوامل سندرم متابولیک (شاخص توده بدنی^۵ (BMI)، دور کمر و تری گلیسیرید) و پارامترهای دیابتی (انسولین و شاخص مقاومت به انسولین^۶ (HOMA-IR) مشاهده شده است (۲۴). مطابق با مطالعات قبلی (۳۹، ۴۰)؛ هیپرانسولینمی و مقاومت به انسولین با سطوح پایین SHBG همراه است، که نشان می‌دهد سطح انسولین و یا مقاومت به انسولین تولید SHBG را سرکوب می‌کند (۲۴). در تحقیق حاضر نیز با کاهش معنی‌دار قندخون ناشتا در گروه تمرین-بیمار نسبت به کنترل-بیمار، پروتئین SHBG نیز به طور غیرمعنی‌دار در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار افزایش یافت. با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر و تحقیقات قبلی می‌توان گفت که فعالیت شنای HIIT بدون محدودیت کالریک، سطح قندخون را کنترل و هم‌زمان، به تنظیم و بهبود پروتئین SHBG مرتبط با هورمون‌های جنسی کمک می‌کند. این مفهوم توسط شواهد آزمایشگاهی قبلی مبنی بر این که در آن انسولین ترشح SHBG را به طور مستقیم کاهش داده و از عملکرد تحرکی تیروکسین^۷ و استرادیول^۸ در سنتز آن در سلول‌های سرطانی کبد از رده سلولی HepG2^۹ انسانی جلوگیری می‌نماید، پشتیبانی می‌کند (۴۱). با این حال، برخی مطالعات هیچ ارتباط مستقیمی بین SHBG و انسولین یا مقاومت به انسولین پیدا نکردند (۴۲). علاوه بر این، یک مطالعه آزمایشگاهی نشان داده است که SHBG توسط انسولین تنظیم نمی‌شود، بلکه توسط لیپوژنز ناشی از مونوساکارید در سلول‌های HepG2 انسان سرکوب می‌شود (۴۳)، که نشان می‌دهد کبد چرب یا اختلال عملکرد، علاوه بر مقاومت به انسولین، از طریق افزایش لیپوژنز در سلول‌های کبدی نیز باعث کاهش SHBG می‌شود. با توجه به مطالب گفته شده ممکن است در تحقیق حاضر نیز فعالیت ورزشی HIIT شنا؛ لیپوژنز کبدی را کاهش داده باشد و باعث افزایش پروتئین SHBG در گروه‌های تمرین - بیمار و تمرین - سالم نسبت به کنترل - بیمار شده باشد. به تازگی ثابت شده است که انسولین به‌طور مستقیم SHBG را در داخل بدن سرکوب نمی‌کند، بلکه بهبود مقاومت به انسولین، باعث افزایش SHBG پس از درمان

تستوسترون تام به سطوح پایین‌تر SHBG ناشی از کاهش سنتز کبدی این پروتئین همراه است و در پاسخ به کاهش پروتئین SHBG، سطح تستوسترون آزاد نیز کاهش می‌یابد و این یک روند دوطرفه است (۳۴)؛ که در آن استروئیدزایی سلول‌های لایدیگ^۱ به دلیل مقاومت اندام هدف در برابر عمل انسولین و یا تولید سایتوکاین‌ها توسط بافت چربی، مختل می‌شود (۳۵). اختلالات مزمن در متابولیسم گلوکز و هیپرانسولینمی نشان داده‌اند که استروئیدزایی سلول‌های لیدیگ از طریق القای DAX1^۲ به واسطه انسولین (معکوس کننده جنسی حساس به دوز، منطقه بحرانی هیپوپلازی آدرنال^۳، در کروموزوم X) مختل می‌گردد (۳۶). این با یک رابطه دو طرفه بین چربی احشایی و تستوسترون مطابقت دارد که به موجب آن افزایش چربی احشایی منجر به افزایش ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، استرادیول، انسولین و لپتین می‌شود که همگی ممکن است فعالیت محور غدد جنسی هیپوتالاموس-هیپوفیز را در سطوح مختلف مهار کنند (۳۷). بنابراین، تستوسترون پایین باعث تجمع بیشتر چربی احشایی می‌شود از این طریق سایتوکاین‌های التهابی مقاومت به انسولین را افزایش می‌دهد. این فعل و انفعال پیچیده پاتوفیزیولوژیک، فرضیه هیپوگنادال-چاقی-آدیپوسایتوکاین^۴ نامیده می‌شود که رابطه دو طرفه بین سطوح پایین تستوسترون و سندرم متابولیک را توصیف می‌کند (۳۸). در همین راستا، یافته‌های تحقیق حاضر نشان دادند که علی‌رغم مصرف مداوم رژیم پرچرب تا پایان دوره تحقیق؛ فعالیت ورزشی، در شرایط بیماری NASH، توانست سطح پروتئین SHBG را افزایش دهد و مانع از کاهش زیاد آن به واسطه تجمع چربی در بافت کبد شود. یکی از دلایل مهم این یافته بدست آمده، تأثیر مستقیم ورزش بر تعدیل و بهبود سطوح تستوسترون در شرایط بیماری NASH است و احتمال دارد که در شرایط بیماری با اثرگذاری مثبت ورزش بر این هورمون، سطح پروتئین SHBG نیز بهبود یافته باشد. با این وجود، چون در تحقیق حاضر سطح تستوسترون خون مورد سنجش قرار نگرفت؛ نمی‌توان به قطعیت بر این موضوع استناد کرد و می‌توان آن را جزو محدودیت‌های تحقیق به شمار آورد.

1. Leydig cells

2. Dosage sensitive sex reversal (DSS), adrenal hypoplasia congenita (AHC) critical region on the X chromosome, gene 1

3. Adrenal hypoplasia

4. Hypogonadal-obesity-adipocytokine hypothesis

5. Body mass index

6. Homeostatic model assessment of insulin resistance

7. Thyroxine

8. Estradiol

9. HepG2 cell line

معنی‌دار میانگین وزن بدن در گروه تمرین - سالم نسبت به گروه کنترل - بیمار و کنترل - سالم، افزایش معنی‌دار در سطوح SHBG در این گروه نسبت گروه کنترل - بیمار مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تنها با کنترل وزن از طریق تمرین تناوبی شنا با شدت بالا و بدون محدودیت کالریک در نمونه‌های مبتلا به NASH، می‌توان به طور بالقوه بیان پروتئین SHBG را تعدیل (مثبت) نمود. در نتیجه، به نظر می‌رسد علی‌رغم عدم محدودیت کالریک، فعالیت ورزشی به کار برده شده می‌تواند بر بیان پروتئین SHBG مرتبط با هورمون‌های جنسی و تنظیم متابولیک اثر مثبت داشته باشد، اگرچه تحقیقات بیشتری لازم است بر تاثیر این گونه فعالیت بر مقاومت به انسولین ناشی از بروز بیماری مشخص شود.

تعارض منافع

بدینوسیله نویسندگان این مقاله اعلام می‌نمایند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در این مقاله وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

از تمام کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

شدید هیپوگلاسمی با انسولین می‌شود (۴۴). در یک مطالعه نشان داده شد که سطوح SHBG پلاسما به طور مثبت، تحت تاثیر تستوسترون و به طور منفی، تحت تاثیر قندخون ناشتا و تری‌گلیسیرید قرار گرفت (۲۴). در تحقیق حاضر نیز فعالیت HIIT شنا باعث کاهش معنی‌دار قندخون در گروه تمرین - بیمار نسبت به کنترل - بیمار شد، و به واسطه این هیپوگلاسمی، احتمالاً منجر به افزایش پروتئین SHBG درون کبدی و بهبود مقاومت به انسولین در گروه مذکور نسبت به کنترل - بیمار شد؛ هر چند که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نشد. سطح تستوسترون و SHBG در مردان غیر دیابتی نشان داد که غلظت این پروتئین با سطح انسولین رابطه منفی دارد (۴۵)، بنابراین بر رابطه بین حساسیت به انسولین و SHBG در گردش بیشتر تاکید می‌شود؛ به طوری که با افزایش غلظت سرمی تستوسترون و SHBG به همراه کاهش وزن، حساسیت به انسولین افزایش می‌یابد (۴۶). از دست دادن ۱۰ درصد وزن اولیه بدن منجر به افزایش تستوسترون تام تقریباً ۲-۴ نانومول در لیتر می‌شود، در حالی که جراحی چاقی حتی ممکن است سطوح تستوسترون تام را تا ۱۰ نانومول در لیتر افزایش دهد (۴۷). یافته‌های تحقیق حاضر نیز این موضوع را تایید می‌کنند، زیرا که همزمان با کاهش

منابع

1. Henry L, Paik J, Younossi ZM. The epidemiologic burden of non-alcoholic fatty liver disease across the world. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2022;56(6):942-56. <https://doi.org/10.1111/apt.17158>
2. Rinella ME, Sanyal AJ. Management of NAFLD: a stage-based approach. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016;13(4):196-205. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.3>
3. Meex RC, Watt MJ. Hepatokines: linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Nature Reviews Endocrinology*. 2017;13(9):509-20. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.56>
4. Ye J, Yao Z, Tan A, Gao Y, Chen Y, Lin X, He R, Tang R, Hu Y, Zhang H, Yang X. Low serum sex hormone-binding globulin associated with insulin resistance in men with nonalcoholic fatty liver disease. *Hormone and Metabolic Research*. 2017;49(05):359-64. <https://doi.org/10.1055/s-0043-102690>
5. Alinezhad A, Jafari F. The relationship between components of metabolic syndrome and plasma level of sex hormone-binding globulin. *European Journal of Translational Myology*. 2019;29(2):8196. <https://doi.org/10.4081/ejtm.2019.8196>
6. Lazo M, Zeb I, Nasir K, Tracy RP, Budoff MJ, Ouyang P, Vaidya D. Association between endogenous sex hormones and liver fat in a multiethnic study of atherosclerosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015;13(9):1686-93. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.12.033>

7. Hua X, Li M, Pan F, Xiao Y, Cui W, Hu Y. Non-alcoholic fatty liver disease is an influencing factor for the association of SHBG with metabolic syndrome in diabetes patients. *Scientific Reports*. 2017;7(1):14532. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15232-9>
8. Winters SJ, Gogineni J, Karegar M, Scoggins C, Wunderlich CA, Baumgartner R, Ghooray DT. Sex hormone-binding globulin gene expression and insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(12):E2780-8. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-2640>
9. Hallsworth K, Adams LA. Lifestyle modification in NAFLD/NASH: facts and figures. *JHEP Reports*. 2019;1(6):468-79. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2019.10.008>
10. Guturu P, Duchini A. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: role of obesity, insulin resistance and mechanisms of hepatotoxicity. *International Journal of Hepatology*. 2012;2012(1):212865. <https://doi.org/10.1155/2012/212865>
11. Kim D, Kim WR. Nonobese fatty liver disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2017;15(4):474-85. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.08.028>
12. Patten RK, McIlvenna LC, Levinger I, Garnham AP, Shorakae S, Parker AG, McAinch AJ, Rodgers RJ, Hiam D, Moreno-Asso A, Stepto NK. High-intensity training elicits greater improvements in cardio-metabolic and reproductive outcomes than moderate-intensity training in women with polycystic ovary syndrome: a randomized clinical trial. *Human Reproduction*. 2022;37(5):1018-29. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac047>
13. Bergamin M, Ermolao A, Tolomio S, Berton L, Sergi G, Zaccaria M. Water-versus land-based exercise in elderly subjects: effects on physical performance and body composition. *Clinical Interventions in Aging*. 2013;1109-17. <https://doi.org/10.2147/cia.s44198>
14. Mohseni-Takaloo S, Beigrezaei S, Yazdanpanah Z, Rajaie SH, Soltani S, Zohrabi T, Kaviani M, Forbes SC, Baker JS, Salehi-Abargouei A. Does exercise beneficially affect sex hormones when added to hypo-caloric diets in adults with overweight or obesity? A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *European Journal of Endocrinology*. 2022;186(2):285-95. <https://doi.org/10.1530/eje-21-0675>
15. Samadi Z, Bambaiechi E, Valiani M, Shahshahan Z. Evaluation of changes in levels of hyperandrogenism, hirsutism and menstrual regulation after a period of aquatic high intensity interval training in women with polycystic ovary syndrome. *International Journal of Preventive Medicine*. 2019;10(1):187. https://doi.org/10.4103/ijpvm.ijpvm_360_18
16. Kim JH, Ha MS, Ha SM, Kim DY. Aquatic exercise positively affects physiological frailty among postmenopausal women: a randomized controlled clinical trial. *In Health Care*. 2021;(9)4,:409. <https://doi.org/10.3390/healthcare9040409>
17. Omar JS, Jaradat N, Qadoumi M, Qadoumi AN. Regular swimming exercise improves metabolic syndrome risk factors: a quasi-experimental study. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*. 2021;13(1):22. <https://doi.org/10.1186/s13102-021-00254-8>
18. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, Zhang L, Wang Y. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sciences*. 2006;79(11):1100-7. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.03.021>

19. Chen B, Ma Y, Xue X, Wei J, Hu G, Lin Y. Tetramethylpyrazine reduces inflammation in the livers of mice fed a high fat diet. *Molecular Medicine Reports*. 2019;19(4):2561-8. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9928>
20. Jowhari A, Daryanoosh F, Koushkie Jahromi M, Nekooeian A A. Effect of high-intensity intermittent swimming training on peroxisome proliferator-activated receptors- α and liver enzymes in non-alcoholic steatohepatitis male rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2023;30(10):6034-6051. [In Persian]. <https://doi.org/10.18502/ssu.v30i10.11454>
21. Farzanegi P, habibian M, alinejad H. The combined effect of regular aerobic exercise with garlic extract on renal apoptosis regulatory factors in aged rats with chronic kidney disease. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2016;19(3):62-70. [In Persian]. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-4153-en.html>
22. Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Guerra Martinez C, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, Galina A. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *PloS One*. 2015;10(6):e0131766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131766>
23. Shafiee A, kordi M, Gaeini A, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of Mir-210 and EphrinA3 mrna in soleus muscle healthy male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2014;17(3):26-34. [In Persian]. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-2770-en.html>
24. Mohammed M, Al-Habori M, Abdullateef A, Saif-Ali R. Impact of metabolic syndrome factors on testosterone and SHBG in type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Journal of Diabetes Research*. 2018;2018(1):4926789. <https://doi.org/10.1155/2018/4926789>
25. Sylow L, Kleinert M, Richter EA, Jensen TE. Exercise-stimulated glucose uptake—regulation and implications for glycaemic control. *Nature Reviews Endocrinology*. 2017;13(3):133-48. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.162>
26. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, Delcros G, Peltier SL, Sirvent P. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific Reports*. 2017;7(1):204. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00276-8>
27. Amador M, Meza CA, McAinch AJ, King GA, Covington JD, Bajpeyi S. Exercise-induced improvements in insulin sensitivity are not attenuated by a family history of type 2 diabetes. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;13(11):120. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00120>
28. Hesselink MK, Schrauwen-Hinderling V, Schrauwen P. Skeletal muscle mitochondria as a target to prevent or treat type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*. 2016;12(11):633-45. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.104>
29. Antonio L, Wu FC, O'Neill TW, Pye SR, Carter EL, Finn JD, Rutter MK, Laurent MR, Huhtaniemi IT, Han TS, Lean ME. Associations between sex steroids and the development of metabolic syndrome: a longitudinal study in European men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100(4):1396-404. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4184>
30. Wang Q, Kangas AJ, Soininen P, Tiainen M, Tynkkynen T, Puukka K, Ruokonen A, Viikari J, Kähönen M, Lehtimäki T, Salomaa V. Sex hormone-binding globulin associations with circulating lipids and metabolites and the risk for type 2 diabetes: observational and causal effect estimates. *International Journal of Epidemiology*. 2015;44(2):623-37. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv093>

31. Wittert G, Bracken K, Robledo KP, Grossmann M, Yeap BB, Handelsman DJ, Stuckey B, Conway A, Inder W, McLachlan R, Allan C. Testosterone treatment to prevent or revert type 2 diabetes in men enrolled in a lifestyle programme (T4DM): a randomised, double-blind, placebo-controlled, 2-year, phase 3b trial. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2021;9(1):32-45. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(20\)30367-3](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(20)30367-3)
32. Salminen M, Vahlberg T, Riih   I, Niskanen L, Kivel   SL, Irjala K. Sex hormones and the risk of type 2 diabetes mellitus: A 9-year follow up among elderly men in Finland. *Geriatrics & Gerontology International*. 2015;15(5):559-64. <https://doi.org/10.1111/ggi.12312>
33. Ottarsdottir K, Hellgren M, Bock D, Nilsson AG, Daka B. Longitudinal associations between sex hormone-binding globulin and insulin resistance. *Endocrine Connections*. 2020;9(5):418-25. <https://doi.org/10.1530/ec-20-0141>
34. Ter Horst R, van den Munckhof IC, Schraa K, Aguirre-Gamboa R, Jaeger M, Smeekens SP, Brand T, Lemmers H, Dijkstra H, Galesloot TE, de Graaf J. Sex-specific regulation of inflammation and metabolic syndrome in obesity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2020;40(7):1787-800. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.120.314508>
35. Kurniawan LB, Adnan E, Mulyono B, Windarwati. Insulin resistance and testosterone level in Indonesian young adult males. *Romanian Journal of Internal Medicine*. 2020;58(2):93-8. <https://doi.org/10.2478/rjim-2020-0004>
36. Holota H, Thirouard L, Monrose M, Garcia M, De Haze A, Saru JP, Caira F, Beaudoin C, Volle DH. FXR   modulates leydig cell endocrine function in mouse. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2020;518:110995. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110995>
37. Gianatti EJ, Grossmann M. Testosterone deficiency in men with Type 2 diabetes: pathophysiology and treatment. *Diabetic Medicine*. 2020;37(2):174-86. <https://doi.org/10.1111/dme.13977>
38. Estoppey P, Clair C, Auderset D, Puder JJ. Sex differences in type 2 diabetes. *Cardiovascular Medicine*. 2023;26(3):96-9. <https://doi.org/10.4414/cvm.2023.02273>
39. Emami MR, Safabakhsh M, Khorshidi M, Moghaddam OM, Mohammed SH, Zarezadeh M, Alizadeh S. Effect of bariatric surgery on endogenous sex hormones and sex hormone-binding globulin levels: a systematic review and meta-analysis. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. 2021;17(9):1621-36. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2021.05.003>
40. Zhang X, Mou Y, Aribas E, Amiri M, Nano J, Bramer WM, Kavousi M, de Kneeght RJ, Asllanaj E, Ghanbari M. Associations of sex steroids and sex hormone-binding globulin with non-alcoholic fatty liver disease: a population-based study and meta-analysis. *Genes*. 2022;13(6):966. <https://doi.org/10.3390/genes13060966>
41. Simons PI, Valkenburg O, Stehouwer CD, Brouwers MC. Sex hormone-binding globulin: biomarker and hepatokine?. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2021;32(8):544-53. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.05.002>
42. Wan Q, Xie Y, Zhou Y, Shen X. Research progress on the relationship between sex hormone-binding globulin and male reproductive system diseases. *Andrologia*. 2021;53(1):e13893. <https://doi.org/10.1111/and.13893>
43. Bourebaba N, Ngo T,   mieszek A, Bourebaba L, Marycz K. Sex hormone binding globulin as a potential drug candidate for liver-related metabolic disorders treatment. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;153:113261. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113261>

44. Huang R, Wang Y, Yan R, Ding B, Ma J. Sex hormone binding globulin is an independent predictor for insulin resistance in male patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Therapy*. 2023;14(10):1627-37. <https://doi.org/10.1007/s13300-023-01445-x>
45. Mohammadrezaei A, Mokhtari Ardekani A, Abbasalizad-Farhangi M, Mesgari-Abbasi M, Mousavi R. Association between sex hormone-binding globulin, atherogenic indices of plasma among young sedentary males. *Nutrition and Metabolic Insights*. 2023;16:11786388231155006. <https://doi.org/10.1177/11786388231155006>
46. Smith SJ, Teo SYM, Lopresti AL, Heritage B, Fairchild TJ. Examining the effects of calorie restriction on testosterone concentrations in men: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*. 2022;80(5):1222-1236. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab072>
47. Kovács G, Mohos E, Kis JT, Tabák Á, Gerendy P, Pettkó J, Nagy D, Győrbíró D, Kaló Z. Cost-Effectiveness of Bariatric Surgery in Patients Living with Obesity and Type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Research*. 2023:9686729. <https://doi.org/10.1155/2023/9686729>