Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences
2025, Volume 13, No. 4: 26-36.

Original article

Effect of high-intensity interval training on hepatic CPT1A and SREBP-1c protein levels in male wistar rats

Saideh Ahmadinejad[1], Fatemeh Kazeminasab[1]

1. Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, University of Kashan, Kashan, Iran

Corresponding author: Fatemeh Kazeminasab, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, University of Kashan, Kashan, Iran. e-mail: fkazeminasab@kashanu.ac.ir

Received: 23 August 2025 Revised: 19 November 2025 Accepted: 25 November 2025

Keywords:
Exercise training, Lipolysis, Lipogenesis, CPT1a, SREBP1c

Abstract

Background & Aim: Lipolysis and hepatic lipogenesis can help improve insulin resistance by regulating lipid metabolism and glucose. Exercise, as an effective strategy, plays an important role in increasing of CPT1a and reducing of SREBP1c protein levels and preventing complications of type 2 diabetes and obesity. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of high-intensity interval training on CPT1a and SREBP1c protein levels in the liver tissue of male Wistar rats.

***Methods*:** In this study, 12 Wistar rats were selected. The rats were randomly divided into two exercise groups and a control group. The control group was fed a standard diet until the end of the study. The exercise group performed aerobic exercise for 10 weeks according to a high-intensity interval training (HIIT) protocol. 48 hours after the last exercise session, the rats were anesthetized and liver tissue was extracted to examine CPT1a and SREBP1c protein levels. The protein levels were quantified using the Western blot technique. Comparison of the two groups was performed using independent t-test, considering the significance level ($p<0.05$) and using SPSS version 19 software.

***Results*:** The results of the study indicated signs of intracellular fat accumulation (steatosis), ballooned cells, and irregular hepatocyte structure compared to the exercise group. Also, hepatocyte density was maintained in the exercise group compared to the control group, and no signs of obvious tissue damage were observed**.** The results showed that 10 weeks of HIIT significantly reduced the levels of SREBP1c ($p=0.04$), and significantly increased the levels of CPT1a protein in exercise rats compared to the control rats ($p=0.02$).

***Conclusion*:** The results of the study indicate that HIIT has positive effects on improving liver metabolism by reducing lipogenesis and increasing hepatic lipolysis, and prevents the harmful effects of type 2 diabetes and obesity.

How to Cite this Article: Ahmadinejad S, Kazeminasab F. Effect of high-intensity interval training on hepatic CPT1A and SREBP-1c protein levels in male wistar rats. J Torbat Heydariyeh Univ Med Sci. 2025;13(4):26-36.DOI:

Copyright © 2025 Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite.

مجله دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه
دوره۱۳. شماره ۴. زمستان ۱۴۰۴

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر سطوح پروتئین‌های CPT1a و SREBP1c کبدی در رت‌های نر نژاد ویستار

سعیده احمدی نژاد[۱]، فاطمه کاظمی نسب[۱]

۱. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت:
۱۴۰۴/۰۶/۰۱
تاریخ بازنگری:
۱۴۰۴/۰۸/۲۸
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۴/۰۹/۰۴

کلیدواژه‌ها:
تمرینات ورزشی، لیپولیز، لیپوژنز، CPT1a، SREBP1c

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه محفوظ است.

چکیده

زمینه و هدف: لیپولیز و لیپوژنز کبدی با تنظیم متابولیسم چربی و گلوکز می‌تواند به بهبود مقاومت به انسولین کمک کند. فعالیت ورزشی به‌عنوان یک راهکار مؤثر نقش مهمی در افزایش سطوح پروتئین‌های CPT1a و کاهش میزان پروتئین SREBP1c و پیشگیری از عوارض بیماری دیابت نوع دو و چاقی دارند. لذا هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی با شدت بالابر سطوح پروتئین‌های CPT1a وSREBP1c در بافت کبد رت‌های نر نژاد ویستار بود.

روش‌ها: در این تحقیق ۱۲ سر رت ویستار انتخاب شدند. رت‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه ورزشی و کنترل تقسیم شدند. موش‌های گروه کنترل تا پایان پژوهش، رژیم غذایی استاندارد تغذیه کردند. گروه ورزشی طبق یک پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، به مدت ۱۰ هفته تمرین هوازی انجام دادند. ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها بی‌هوش شدند و بافت کبد برای بررسی سطوح پروتئینی CPT1a و SREBP1c استخراج شد. بررسی‌های هیستوپاتولوژیک بافت کبد با استفاده از رنگ‌آمیزی H&E و میزان پروتئین‌ها با استفاده از تکنیک وسترن بلات اندازه‌گیری شد. مقایسه دو گروه با استفاده از آزمون t مستقل با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری ($p<0.05$) و با نرم‌افزار SPSS.version 19 انجام‌گرفت.

نتایج: نتایج مطالعه حاکی از وجود نشانه‌هایی از تجمع چربی داخل سلولی (استئاتوز)، سلول‌های بالونی‌شده و ساختار نامنظم هپاتوسیت‌ها در مقایسه با گروه تمرین ورزشی بود. همچنین تراکم هپاتوسیت‌ها در گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل حفظ شده بود و نشانه‌ای از آسیب واضح بافتی مشاهده نگردید. از نظر سطوح پروتئینی نتایج مطالعه نشان داد ۱۰ هفته HIIT باعث کاهش معنادار سطوح پروتئین SREBP1c ($p=0.04$) و افزایش معنادار سطوح پروتئین CPT1a ($p=0.02$) در رت‌های تمرینی نسبت به رت‌های کنترل شد.

نتیجه‌گیری: HIIT اثرات مثبتی از طریق کاهش فرایند لیپوژنز و افزایش فرایند لیپولیز کبدی بر بهبود متابولیسم کبدی دارد و باعث پیشگیری اثرات مضر بیماری دیابت نوع دو و چاقی می‌شود. این یافته‌ها بر اهمیت طراحی برنامه‌های تمرینی با در نظر گرفتن تنظیمات متابولیکی کبدی تأکید دارد.

نویسنده مسئول: فاطمه کاظمی‌نسب، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان
آدرس پست الکترونیک: fkazeminasab@kashanu.ac.ir

مقدمه

کبد یکی از اندام‌های اصلی در متابولیسم چربی و تنظیم انرژی در بدن است و نقش کلیدی در فرآیندهای لیپولیز و لیپوژنز ایفا می‌کند (۱). لیپولیز، تجزیه تری‌گلیسیریدها به گلیسرول و اسیدهای چرب است که عمدتاً تحت تأثیر هورمون‌ها و پروتئین‌های ضروری انجام می‌شود و منبع انرژی مورد نیاز بدن را تأمین می‌کند (۲). یکی از پروتئین‌های اساسی در فرایند لیپولیز سیستم آنزیمی کارنیتین ترانسفراز[1](CPT) است که نقش مهمی در بتااکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری ایفا می‌کند (۳). CPT1a مسئول تبدیل acyl-CoAs به آسیل کارنیتین است که سپس طی فرایند ترانس لوکاز به داخل میتوکندری منتقل می‌شود (٤). قبل از ورود به مرحله β-اکسیداسیون، آسیل کارنیتین دوباره به acyl-CoAs تبدیل می‌شود. اختلال در عملکرد این پروتئین می‌تواند به بیماری های متابولیک ازجمله دیابت نوع دو مرتبط باشد (٤). علاوه براین، نشان داده شده است که این پروتئین در اثر تمرین ورزشی بیان می‌شود و موجب تحریک فرایند لیپولیز و جلوگیری از تجمع نامناسب تری‌گلیسیرید در کبد می‌گردد (٥). در این میان، آنزیم استیل‌کوآ کربوکسیلاز[2](ACC) نیز نقش حیاتی در تنظیم تعادل بین مسیرهای لیپوژنز و بتا اکسیداسیون ایفا می‌کند، به‌طوری‌که با تولید مالونیل‌کوآ، به‌طور مستقیم فعالیت CPT1a را مهار می‌کند و در شرایط تغذیه‌ای پرانرژی باعث کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌شود. با این حال، در مطالعه حاضر تمرکز بر CPT1a به‌عنوان شاخص مستقیم ظرفیت بتا اکسیداسیون در میتوکندری انتخاب شده است، چرا که این پروتئین مرحله آغازین ورود اسیدهای چرب به میتوکندری را کنترل می‌کند، در حالی که ACC به‌صورت غیرمستقیم و تحت تنظیم چندگانه (نظیر فسفوریلاسیون توسط AMPK) عمل می‌کند؛ بنابراین بررسی سطح CPT1a، دید دقیق‌تری از تغییرات عملکردی مسیر اکسیداسیون چربی در پاسخ به تمرین ارائه می‌دهد (٦).

از سوی دیگر، در فرایند لیپوژنز چربی از مواد گلوکز و اسیدهای چرب تولید می‌شود که در شرایط مازاد انرژی، این فرایند فعال می‌شود (۱). لیپوژنز کبد توسط تعدادی از فاکتورهای رونویسی ازجمله SREBP[3] تنظیم می‌شود (۷). SREBP1c ایزوفرم غالب تحریک‌شده با انسولین در کبد است و مسئول فعال‌سازی پروتئین‌های دخیل در سنتز اسیدهای چرب و تری‌گلیسرید است و با تغییر در وضعیت تغذیه فعال می‌شود. اخیراً نشان داده شد که تمرین ورزشی بیان پروتئین SREBP1c و دسترسی به اسیدهای چرب زنجیره بلند برای سنتز تری گلیسرید را تنظیم می‌کند (۸).

انواع مختلف تمرینات ورزشی می‌توانند تأثیرات متفاوتی بر بیان این ژن‌ها داشته باشند. تمرینات هوازی مانند دویدن، شنا و دوچرخه‌سواری می‌توانند بیان CPT1a را افزایش دهند که منجر به بهبود ظرفیت اکسیداسیون چربی می‌شود (۹). همچنین، این نوع تمرینات معمولاً بیان SREBP1c را کاهش می‌دهند که می‌تواند به کاهش سنتز چربی کمک کند (۱۰). تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT[4]) که شامل دوره‌های کوتاه فعالیت شدید و استراحت است، می‌توانند تأثیرات قابل‌توجهی بر متابولیسم چربی داشته باشند و ممکن است به دلیل ترکیب اثرات هوازی و بی‌هوازی، تأثیرات منحصر به فردی بر بیان ژن داشته باشند (۱۱). درهمین راستا، شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد تمرینات تناوبی با شدت بالا می‌تواند متابولیسم چربی را از طریق افزایش فرایند لیپولیز و یا کاهش لیپوژنز بهبود بخشد (٥, ۹, ۱۰) همچنین، مونوز و همکاران با هدف بررسی تأثیر هفت روز تمرینات هوازی بر متابولیسم کبدی نشان دادند که تمرینات هوازی قادر به کنترل مکانیسم‌های مربوط به تجمع چربی کبدی و حساسیت به انسولین است (۱۲). این اثرات می‌تواند به سلامت متابولیک کمک کرده و از پیشرفت T2DM جلوگیری کند (۱۳). لذا فرضیه این پژوهش آن است که انجام ۱۰ هفته HIIT موجب افزایش سطوح پروتئینCPT1a و

[1]Carnitine Palmitoyl Transferase
[2] Acetyl-CoA Carboxylase
[3] Sterol Regulatory Element-Binding
[4] High-Intensity Interval Training

کاهش سطوح پروتئین SREBP1c در بافت کبد می‌شود که این تغییرات نشان‌دهنده افزایش ظرفیت اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش فرایند لیپوژنز کبدی است.

روش‌ها

سازگاری حیوانات

پژوهش حاضر با توجه به هدف از نوع توسعه ای-بنیادی و با توجه به روش از نوع تجربی بود. در این تحقیق ۱۲ رت نر Wistar، سن ٤-٥ هفته، وزن اولیه ۲۰ ± ۲۰۰ گرم انتخاب شدند. رت ها از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و سپس به آزمایشگاه حیوانات فیزیولوژی ورزشی دانشگاه کاشان منتقل شدند. حیوانات در قفس‌های مناسب با دمای ۲۲-۲٤ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٥۰ درصد و چرخه نور تا تاریکی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. اصول اخلاقی نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی به‌طور کامل رعایت شد. آب و غذای حیوانات به‌صورت رایگان و استاندارد برای حیوانات آزمایشگاهی تهیه و در اختیار آن‌ها قرار گرفت. این پژوهش دارای تأییدیه کمیته اخلاق به شماره (IR.KASHANU.REC.1402.024) است.

گروه‌بندی حیوانات

بعد از یک هفته سازگاری رت‌ها با محیط، رت‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه ورزشی (تمرین کرده) (n=٦) و گروه کنترل (تمرین نکرده) (n=٦) تقسیم شدند. فرایند تصادفی‌سازی با استفاده از توالی اعداد تصادفی تولیدشده توسط رایانه انجام شد و رت‌ها بر اساس این توالی به دو گروه تمرینی و کنترل تخصیص یافتند. رت های گروه کنترل تا پایان پژوهش، رژیم غذایی استاندارد تغذیه کردند. گروه تمرین کرده علاوه بر استفاده از رژیم غذایی استاندارد طبق یک پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، به مدت ۱۰ هفته تمرین هوازی انجام دادند. رژیم غذایی استاندارد رت ها شامل ذرت، کازئین، نشاسته‌ی ذرت، گلوتن ذرت، کربنات کلسیم، دی کلسیم فسفات، ویتامین‌ها و مواد معدنی بود. لازم به ذکر است که رت‌های گروه کنترل تنها در قفس‌های خود نگهداری شدند و هیچ تمرین یا تماس اضافی به‌جز مراقبت‌های روزمره دریافت نکردند.

پروتکل تمرین ورزشی

رت های گروه ورزشی تمرین با تردمیل را به مدت ۱۰ هفته انجام دادند که پروتکل آن به شرح زیر بود:

در هفته اول پروتکل سازگاری برای گروه تمرینی انجام خواهد شد، به این صورت که هر رت به مدت ۱٥ دقیقه در روز با شدت ۱٥-۱۰ متر بر دقیقه با شیب ٥ درجه روی تردمیل قرار گرفت تا رت‌ها بتوانند در آزمون حداکثر سرعت (Vmax) بیشترین توانایی خود را نشان دهند. ابتدا در هفته پنجم مطالعه برای محاسبه Vmax، حیوانات ٥ دقیقه گرم کردن با سرعت ٦-۱۰ متر در دقیقه را انجام دادند، سپس سرعت تردمیل هر ۳ دقیقه یک بار ۳ متر بر دقیقه افزایش پیدا کرد، این مراحل ادامه پیدا کرد تا حیوان به واماندگی رسید و بدین‌صورت Vmax تعیین گردید.

بر اساس نتیجه اولین Vmax پروتکل HIIT برای رت‌های ورزشی به شرح زیر آغاز شد:

تمرین با ٥ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ دقیقه بر متر (٤۰-۳۰ درصد v_{max}) آغاز شد. پروتکل اصلی تمرین شامل ۸ ست ۳ دقیقه ایی با سرعت ۲٦ متر بر دقیقه (۹۰-۸٥ درصد v_{max}) بود که بعد از هر ست ۲ دقیقه استراحت فعال با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه انجام شد. همچنین برای سرد کردن ٥ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه (٤۰-۳۰ درصد v_{max}) بر روی تردمیل دویدند. بعد از ٥ هفته تمرین، طبق اصل اضافه بار تست Vmax برای مرتبه دوم انجام شد تا رت‌ها براساس Vmax جدید خود تمرین ورزشی انجام دهند. پروتکل جدید تمرین ورزشی به شرح ذیل طراحی شد:

رت‌ها برای گرم کردن ٥ دقیقه با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه (٤۰-۳۰ درصد v_{max}) دویدن را آغاز کردند. پروتکل اصلی شامل ۸ ست ٤ دقیقه ایی با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه (۹۰-۸٥ درصد v_{max}) با ۷ ست ۲ دقیقه ایی با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه (٤۰-۳۰

درصد v_{max}) استراحت طراحی شد. در مرحله سرد کردن رت‌ها ۵ دقیقه با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه دویدند (جدول ۱).

جدول ۱. پروتکل HIIT

هفته	مدت گرم/سرد کردن (دقیقه)	شدت گرم/سرد کردن و استراحت (%Vmax)	سرعت تردمیل زمان گرم /سردکردن و استراحت (متر بر دقیقه)	تعداد تکرار	نسبت زمان تمرین به استراحت (دقیقه)	شدت زمان تمرین (%Vmax)	سرعت تردمیل زمان تمرین (متر بر دقیقه)	شیب (درجه)	مدت کل (دقیقه)
اول	۵	۳۰ – ۴۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۸۵ – ۹۰	۲۶	۵	۴۸
دوم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۸۵ – ۹۰	۲۶	۵	۴۸
سوم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۸۵ – ۹۰	۲۶	۵	۴۸
چهارم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۸۵ – ۹۰	۲۶	۵	۴۸
پنجم	۵	۳۰–۴۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۸۵–۹۰	۲۶	۵	۴۸
ششم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۸۵ – ۹۰	۳۰	۵	۵۶
هفتم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۸۵ – ۹۰	۳۰	۵	۵۶
هشتم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۸۵ – ۹۰	۳۰	۵	۵۶
نهم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۸۵ – ۹۰	۳۰	۵	۵۶
دهم	۵	۳۰ – ۴۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۸۵ – ۹۰	۳۰	۵	۵۶

نمونه برداری

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتا بودن رت‌ها با تزریق صفاقی کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوش شدن رت‌ها، مقدار ۳ میلی‌لیتر خون با استفاده از سرنگ از بطن چپ رت گرفته و بلافاصله داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد. بعد از اتمام خون‌گیری، برشی ۵–۴ سانتی در ناحیه شکمی حیوان ایجاد کرده و بافت کبد سریعاً جدا شد و سپس به ویال‌های ۱/۵میلی‌لیتری منتقل و در نیتروژن مایع قرار گرفت. درنهایت بافت منجمد شده جهت استخراج پروتئین‌ها در فریزر ۸۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. لازم به ذکر است که برای تجزیه‌وتحلیل پروتئینی، نمونه‌های بافت کبد از لوب جانبی چپ (left lateral lobe) جمع‌آوری شدند تا یکنواختی نمونه‌ها در تمام حیوانات حفظ شود.

تکنیک وسترن بلات

نمونه‌های بافت کبد در بافر RIPA حاوی کوکتل مهارکننده پروتئاز و فسفاتاز (1X, Sigma-Aldrich) به نسبت ۱۰ µL به ۱ mgبافت هموژنیزه شدند. هموژنات‌ها در ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور 12,000 rpm سانتریفیوژ شدند و غلظت کل پروتئین‌ها با استفاده از روش BCA تعیین شد تا یکنواختی و قابلیت تکرار حفظ شود.

نمونه‌های پروتئینی در بافر بارگیری رقیق‌شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. سپس پروتئین‌ها توسط SDS-PAGE بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۰٪ در ولتاژ ۱۲۰ ولت جدا شدند و به مدت ۱–۲ ساعت با ولتاژ

۱۰۰ ولت به غشای نیتروسلولزی منتقل شدند. غشاها در بافر سالین (pH 7.2، حاوی ۰/۱٪ توئین ۲۰)، با بافر مسدودکننده (۵٪ شیر و ۰,۵٪ BSA) به مدت ۱ ساعت مسدود شدند. سپس غشاها یک شب در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و با آنتی‌بادی‌های SREBP1C و CPT1a انکوبه شدند:

SREBP1C: (Santa Cruz, sc-13551)
CPT1a: (Proteintech, 15184-1-AP)

از شستشو، غشاها با آنتی‌بادی ثانویه HRP-conjugated به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. لکه‌ها با استفاده از کیت تشخیص لومینسانس شیمیایی (Clarity Western ECL Substrate, Cat# 1705061, Bio-Rad) شناسایی شدند و شدت باندها با تراکم‌سنج لیزری (RADA, Model 1200, IRAN) و نرم‌افزار داخلی تحلیل شد. تکنیک وسترن بلات برای بررسی سطوح پروتئین‌های CPT1a و SREBP1c انتخاب شد، زیرا این روش اختصاصی، حساس و توانایی مقایسه نسبی سطح پروتئین‌ها در پاسخ به مداخلات فیزیولوژیک ازجمله تمرین ورزشی را فراهم می‌کند. برای کاهش سوگیری ارزیابی، تحلیل شدت باندهای وسترن بلات توسط کارشناس آزمایشگاه نسبت به تخصیص گروهی حیوانات کور (blinded) انجام شد (١٤-١٦).

برای نرمال‌سازی داده‌های وسترن بلات، از β-actin به‌عنوان پروتئین خانه‌داری استفاده شد. جهت اطمینان از ثبات بیان β-actin، چگالی باندهای آن در تمامی گروه‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که β-actin تحت تأثیر مداخلات تمرینی قرار نگرفت ($p>0.05$). بر همین اساس، نسبت باند پروتئین هدف به β-actin برای تحلیل نهایی استفاده شد.

H&E[5] رنگ‌آمیزی بافتی هماتوکسیلین و ائوزین

بافت‌های کبدی پس از جداسازی، در محلول فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند و به‌صورت قطعات مکعبی برش داده شده و در محلول الکل ۷۰٪ قرار گرفتند. نمونه‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دستگاه پردازشگر بافت قرار گرفتند و پس از اتمام فرآیند پردازش، در پارافین بلوک‌گیری شدند. برش‌های بافتی باضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم تهیه‌شده و پس از قرارگیری در حمام آب گرم، بر روی لام‌های شیشه‌ای منتقل شدند. سپس با استفاده از روش استاندارد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، رنگ‌آمیزی انجام شد. این روش به‌طور گسترده در مطالعات هیستولوژیک برای ارزیابی مورفولوژی کلی بافت، تغییرات ساختمانی سلول‌ها، تجمع چربی، التهاب و سایر آسیب‌های بافتی استفاده می‌شود. لازم به ذکر است که هدف از به‌کارگیری رنگ‌آمیزی H&E در این مطالعه، بررسی تغییرات ساختاری و مورفولوژیکی بافت کبد ناشی از تمرین ورزشی بود. در مقایسه با روش‌های کمی مانند اندازه‌گیری توتال پروتئین (مثلاً با روش BCA یا Bradford)، رنگ‌آمیزی H&E قابلیت نشان دادن تغییرات مکانی و مورفولوژیک در بافت را داراست و اطلاعات تکمیلی در زمینه سلامت و آسیب بافتی فراهم می‌کند (١٧-١٩). ارزیاب هیستولوژی نیز نسبت به گروه‌بندی حیوانات کور (blind) بود.

تجزیه‌وتحلیل آماری

ابتدا از آزمون شاپیرو ویلک برای تعیین توزیع طبیعی داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون t-مستقل برای مقایسه دو گروه استفاده‌شده است. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS.version 19 انجام‌گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه‌وتحلیل آماری تحقیق حاضر، $p<0.05$ در نظر گرفته‌شده است.

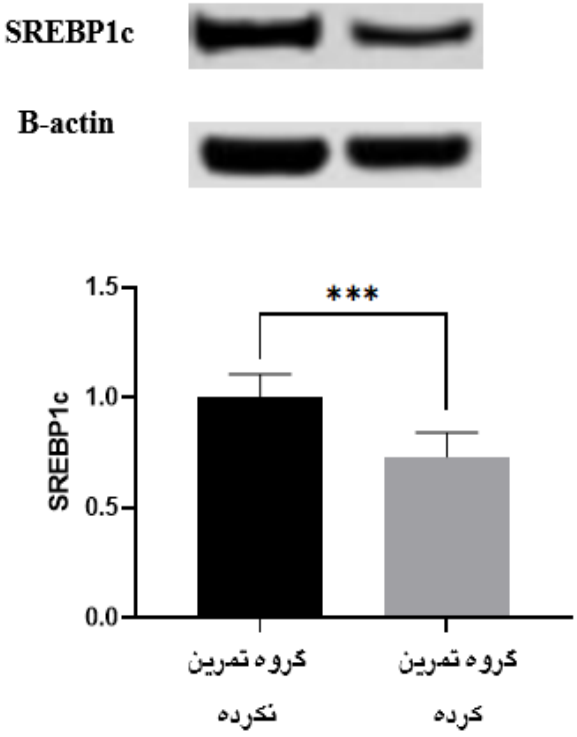
نتایج

با استفاده از تکنیک وسترن بلات میزان سطوح پروتئین SREBP1c و CPT1a نسبت به پروتئین B-actin موردبررسی قرار گرفت. نتایج آزمون t-مستقل به‌روشنی نشان می‌دهد که ۱۰ هفته HIIT باعث کاهش معنادار سطوح پروتئین SREBP1c تمرینی نسبت به رت‌های کنترل شد ($p=0.04$) (شکل۱). همچنین نتایج نشان داد سطوح پروتئین CPT1a در رت‌های تمرینی نسبت به رت‌های کنترل به‌طور معناداری افزایش یافت

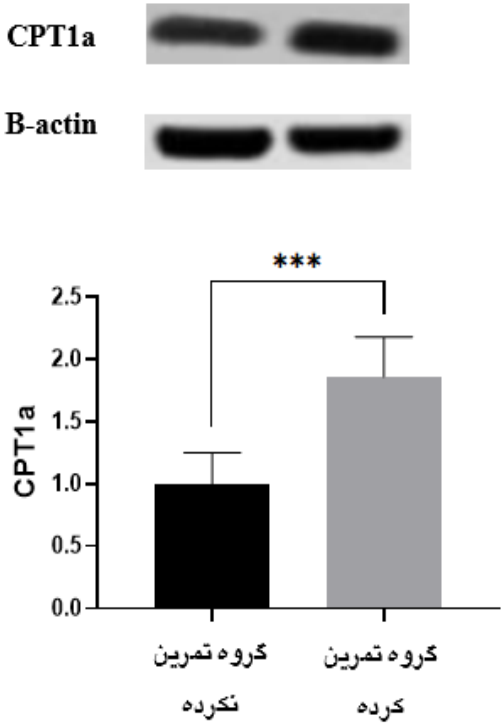
[5] Hematoxylin and Eosin

(p=0.02) (شکل۲). آنالیزهای هیستوپاتولوژیک سلول‌های کبدی در هر دو گروه در شکل ۳ نمایش داده‌شده است.

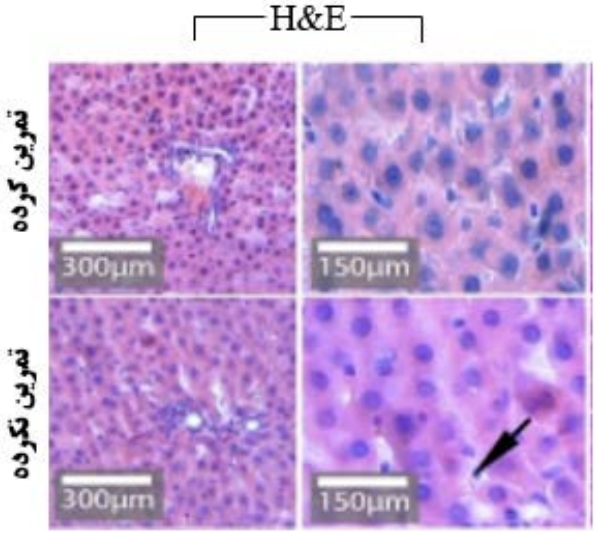
بررسی‌های هیستوپاتولوژیک بافت کبد با استفاده از رنگ‌آمیزی H&E نشان داد که در گروه کنترل، نشانه‌هایی از تجمع چربی داخل سلولی (استئاتوز)، سلول‌های بالونی‌شده و ساختار نامنظم هپاتوسیت‌ها مشاهده گردید. در مقابل، در گروه تمرین ورزشی، ساختار سلولی بافت کبد به‌طور قابل‌توجهی منظم‌تر بوده و میزان استئاتوز و التهاب سلولی کاهش‌یافته بود. همچنین تراکم هپاتوسیت‌ها در گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل حفظ شده بود و نشانه‌ای از آسیب واضح بافتی مشاهده نگردید. این یافته‌ها نشان می‌دهند که تمرین تناوبی با شدت بالا موجب بهبود ساختار بافت کبدی و کاهش آسیب‌های مرتبط با لیپوژنز شده است (شکل ۳).



شکل ۱. میزان پروتئین SREBP1c پس از اتمام پروتکل تمرینی در دو گروه تمرین کرده، تمرین نکرده (کنترل). تفاوت معنادار بین دو گروه برابر 0.04 است.



شکل ۲. میزان پروتئین CPT1a پس از اتمام پروتکل تمرینی در دو گروه تمرین کرده و تمرین نکرده (کنترل). تفاوت معنادار بین دو گروه برابر 0.04 است.



شکل ۳. فتومیکروگراف با بزرگنمایی کم‌وزیاد برای رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) مقاطع کبدی: به سلول‌های کبدی، سینوسوئیدها و ناحیه پورتال دست نخورده در مقطع از گروه‌های تمرین کرده و تمرین نکرده (کنترل) توجه کنید.

بحث

تحقیق حاضر، به ارزیابی اثر تمرین ورزشی بر سطوح پروتئین‌های کلیدی لیپولیز و لیپوژنز پس از تمرین ورزشی در رت‌های نر نژاد ویستار می‌پردازد. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که تمرین ورزشی سبب افزایش معنادار پروتئین CPT1a و کاهش معنادار پروتئین SREBP1c در بافت کبد رت‌ها شد. بررسی ادبیات تحقیق بیانگر آن است که تمرینات هوازی با بهبود متابولیک کبد، به‌عنوان یکی از تمرینات ورزشی مؤثر و کارآمد شناخته‌شده است (۲۰). SREBP1c یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در تنظیم متابولیسم چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها در بدن ایفا می‌کند. این پروتئین به‌طور عمده در بافت‌های کبدی و چربی وجود دارد و در تنظیم سنتز چربی‌ها و قابلیت ذخیره‌سازی آن‌ها مؤثر است (۲۱). براساس یافته‌های پژوهش حاضر پروتئین SREBP1c در رت‌های ورزشی نسبت به رت‌های کنترل به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. در مطالعه دیگر مشاهده شد که هر دو تمرین هوازی با شدت‌های متفاوت سبب کاهش معنادار بیان ژن SREBP1c می‌شود (۲۲). HIIT به‌عنوان یک برنامه تمرین کم‌حجم و با شدت بالا می‌تواند سطح SREBP1cکبدی را کاهش دهد (۱۰). پژوهشی دیگر و همکاران نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوازی با شدت بالا موجب کاهش سطوح SREBP1c در سلول‌های گردش خون محیطی می‌شود (۲۳). در یک پژوهش محققان گزارش کردند که تمرین تناوبی با شدت بالا با کاهش غلظت اسیدهای چرب در گردش و بهبود کنترل گلیسمی همراه است که احتمالاً به دلیل کاهش پروتئین SREBP1c کبدی باشد (۲٤). در مطالعه‌ای دیگر بیان شد که تمرین با تردمیل باعث افزایش اکسیداسیون چربی کبد در مدل حیوانی می‌شود (۲۵).

CPT1a یا کارنیتین پالمیتویل ترانسفراز A۱، آنزیمی است که در میتوکندری سلول‌های کبدی و همچنین در برخی از بافت‌های دیگر حضور دارد. این آنزیم نقش مهمی در متابولیسم اسیدهای چرب دارد. وظیفه اصلی CPT1a این است که اسیدهای چرب با زنجیره‌های بلند را به کارنتین متصل و به داخل میتوکندری منتقل می‌کند تا به‌عنوان منبع انرژی مورداستفاده قرار گیرند (٤). بررسی یافته‌های بیشتر در این پژوهش نشان داد پس از انجام تمرینات ورزشی میزان بیان پروتئین CPT1a نسبت به گروه کنترل به‌طور معنادار افزایش یافت. اولین مرحله اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیره بلند میتوکندری را کاتالیز می‌کند و توسط مالونیل CoA مهار می‌شود. تمرین ورزشی باعث کاهش سطح مالونیل CoA می‌شود؛ بنابراین، کاهش مالونیل CoA توسط استیل کوا کربوکسیلاز ۱ می‌تواند از مهار CPT1 جلوگیری کند (۲٦). یافته این مطالعه همسو بامطالعه یوسف و همکاران که نشان دادند بیان ژنCPT1 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل ۷/۸ برابر افزایش می‌یابد (۲۷). نتایج پژوهش‌های دیگر بیانگر این است که تمرین ورزشی متابولیسم لیپید را به‌جای استفاده از گلوکز در طول تمرین از طریق فعال‌سازی CPT1 ترویج می‌کند که منجر به بهبود استقامت و کاهش کارآمد بافت چربی می‌شود (۲۲). پژوهشی دیگر گزارش کرد که تمرین ورزشی بیان ژن CPT1a را نسبت به گروه کنترل افزایش داد که نشان‌دهنده افزایش ظرفیت اکسیداتیو کبد است که با نتایج مطالعه حاضر همسو است (۲۸). همچنین در مطالعه ویکتور و همکاران نشان داده شد HIIT، نه تنها اکسیداسیون را القا می‌کند، بلکه به نظر می‌رسد که لیپوژنز را کاهش می‌دهد (۵). شاهوزهی و همکاران در پژوهشی نشان می‌دهند که تمرین ورزشی می‌تواند به اکسیداسیون اسیدهای چرب و تجمع TG کبدی و ژن‌های هدف آن، مانند CPT1a کمک کند (۲۹).

از دلایل افزایش فعالیت CPT1a و به دنبال آن افزایش لیپولیز و همچنین کاهش SERBP1c و به دنبال آن کاهش لیپوژنز پس از تمرینات ورزشی، می‌توان به افزایش کاتکولامین‌ها و کاهش انسولین اشاره کرد. با کاهش انسولین و با وضعیت انرژی کم (افزایش AMP/ ATP) AMPK در هنگام تمرین ورزشی فعال می‌شود و با خاموش کردن مسیرهای سنتز اسیدهای چرب و کلسترول و روشن کردن فرآیندهای تولید ATP (اکسیداسیون

اسیدهای چرب) جذب گلوکز، فرآیند متابولیک و هموستاز انرژی را تنظیم می‌کند (۳۰).

یکی از محدودیت‌های مطالعه، تعداد کم حیوانات (تعداد ٦ رت در هر گروه) بود که بر اساس مطالعات پیشین انتخاب شد. اندازه اثرها نشان‌دهنده تغییرات قابل‌توجه سطوح پروتئینی است. برای مطالعات آینده، توصیه می‌شود گروه کنترل شبیه‌سازی‌شده با تردمیل "sham-treadmill" اضافه شود تا اثرات احتمالی تماس با حیوانات "Handling" بر نتایج بررسی گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا با کاهش بیان پروتئین SREBP1c و افزایشCPT1a، موجب بهبود متابولیسم چربی در کبد رت‌های نر شد. این تغییرات نشان‌دهنده کاهش لیپوژنز و تقویت لیپولیز در کبد است که می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌هایی مانند کبد چرب غیرالکلی نقش کلیدی ایفا کند. از منظر کاربردی، یافته‌های این مطالعه می‌تواند برای ورزشکارانی که به دنبال بهبود ترکیب بدنی، کاهش چربی احشایی و ارتقای عملکرد متابولیکی هستند، ارزشمند باشد. تمرینات HIIT به دلیل ماهیت شدید و زمان کم، به‌ویژه برای ورزشکاران در رشته‌های رزمی، دو و میدانی، فوتبال، کشتی و سایر فعالیت‌های متناوب که نیاز به ظرفیت بالای اکسیداسیون چربی و مدیریت وزن دارند، قابل توصیه است. همچنین،HIIT می‌تواند به‌عنوان یک مداخله مؤثر برای ورزشکاران مبتلابه چاقی شکمی یا چربی کبد در دوره‌های آماده‌سازی بدنی استفاده شود. این یافته‌ها بر اهمیت طراحی برنامه‌های تمرینی با در نظر گرفتن تنظیمات متابولیکی کبدی تأکید دارند و نشان می‌دهند که تمرین منظم نه‌تنها بر عملکرد سیستم عضلانی بلکه بر سلامت اندام‌های داخلی نیز تأثیرگذار است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با شناسه IR.KASHANU.REC.1402.024 به تصویب رسیده است. بدین‌وسیله از همکارانی که در انجام مراحل مختلف مطالعه ما را همراهی کردند، قدردانی می‌کنیم.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

(۱) مفهوم‌پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه‌وتحلیل و تفسیر داده‌ها: همه نویسندگان

(۲) تهیه پیش‌نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: همه نویسندگان

(۳) تائید نهایی دست‌نوشته پیش از ارسال به مجله: همه نویسندگان

References

1. Jeon YG, Kim YY, Lee G, Kim JB. Physiological and pathological roles of lipogenesis. Nature Metabolism. 2023;5(5):735-59.
https://doi.org/10.1038/s42255-023-00786-y

2. Grabner GF, Xie H, Schweiger M, Zechner R. Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores. Nature metabolism. 2021;3(11):1445-65.
https://doi.org/10.1038/s42255-021-00493-6

3. Yao Y, Zhang A, Zhang Z, Liu Z, Chua T-S, Sun M. Cpt: Colorful prompt tuning for pre-trained vision-language models. AI Open. 2024;5:30-8.
https://doi.org/10.1016/j.aiopen.2024.01.004

4. Schlaepfer IR, Joshi M. CPT1A-mediated fat oxidation, mechanisms, and therapeutic potential. Endocrinology. 2020;161(2):bqz046.
https://doi.org/10.1210/endocr/bqz046

5. Min C, Lei Z, Siyu C, Yaqian Q, Jingquan S. Acute and chronic effects of high-intensity interval training (HIIT) on postexercise intramuscular lipid metabolism in rats. Physiological Research. 2021;70(5):735.
https://doi.org/10.33549/physiolres.934722

6. Abu-Elheiga L, Matzuk MM, Abo-Hashema KA, Wakil SJ. Continuous fatty acid oxidation and reduced fat storage in mice lacking acetyl-CoA carboxylase 2. Science. 2001;291(5513):2613-6.
https://doi.org/10.1126/science.1056843

7. Su F, Koeberle A. Regulation and targeting of SREBP-1 in hepatocellular carcinoma. Cancer and Metastasis Reviews. 2024;43(2):673-708.
https://doi.org/10.1007/s10555-023-10156-5

8. Ferré P, Phan F, Foufelle F. SREBP-1c and lipogenesis in the liver: an update. Biochemical journal. 2021;478(20):3723-39.
https://doi.org/10.1042/BCJ20210071

9. Wu B, Zhang Z, Xu C, Zhao J. Aerobic exercise improved liver steatosis by modulating miR-34a-mediated PPARα/SIRT1-AMPK signaling pathway. 2025.
https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-6207434/v1

10. Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjae S, Khakdan S. High-intensity interval training (HIIT) alleviated NAFLD feature via miR-122 induction in liver of high-fat high-fructose diet induced diabetic rats. Archives of physiology and biochemistry. 2020;126(3):242-9.
https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1510968

11. Eftekharzadeh M, Atashak S, Azarbayjani MA, Moradi L, Rahmati-Ahmadabad S. The Effect of Aerobic Exercise on SREBP-1c Gene Expression in Skeletal Muscle in Obese Female Rats. Thrita. 2023;12(1).
https://doi.org/10.5812/thrita-138382

12. Muñoz V, Gaspar R, Mancini M, de Lima R, Vieira R, Crisol B, et al. Short-term physical exercise controls age-related hyperinsulinemia and improves hepatic metabolism in aged rodents. Journal of Endocrinological Investigation. 2023;46(4):815-27.
https://doi.org/10.1007/s40618-022-01947-8

13. Kazemi Nasab F, Marandi SM, Shirkhani S, Sheikhanian Poor A, Ghaedi K. The Effect of 8 Weeks Aerobic Exercise on LXRa, PEPCK, and G6PC2 mRNA in Obese Prediabetic Mice. Sport Physiology. 2020;12(48):17-38.

14. Mahmood T, Yang P-C. Western blot: technique, theory, and trouble shooting. North American journal of medical sciences. 2012;4(9):429.
https://doi.org/10.4103/1947-2714.100998

15. Hardie DG, Carling D. The AMP-activated protein kinase: Fuel gauge of the mammalian cell? European journal of biochemistry. 1997;246(2):259-73.
https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00259.x

16. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. The Journal of clinical investigation. 2002;109(9):1125-31.
https://doi.org/10.1172/JCI0215593

17. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. Cold spring harbor protocols.
https://doi.org/10.1101/pdb.prot4986

18. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques: Elsevier health sciences; 2008.

19. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 1976;72(1-2):248-54.

https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

20. Gripp F, Nava RC, Cassilhas RC, Esteves EA, Magalhães COD, Dias-Peixoto MF, et al. HIIT is superior than MICT on cardiometabolic health during training and detraining. European journal of applied physiology. 2021;121:159-72.

https://doi.org/10.1007/s00421-020-04502-6

21. Sozen E, Demirel-Yalciner T, Sari D, Avcilar C, Samanci TF, Ozer NK. Deficiency of SREBP1c modulates autophagy mediated lipid droplet catabolism during oleic acid induced steatosis. Metabolism Open. 2021;12:100138.

https://doi.org/10.1016/j.metop.2021.100138

22. Aoi W, Naito Y, Takanami Y, Ishii T, Kawai Y, Akagiri S, et al. Astaxanthin improves muscle lipid metabolism in exercise via inhibitory effect of oxidative CPT I modification. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2008;366(4):892-7.

https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.12.019

23.Raza GS, Kaya Y, Stenbäck V, Sharma R, Sodum N, Mutt SJ, et al. Effect of Aerobic Exercise and Time-Restricted Feeding on Metabolic Markers and Circadian Rhythm in Mice Fed with the High-Fat Diet. Molecular Nutrition & Food Research. 2024;68(5):2300465.

https://doi.org/10.1002/mnfr.202300465

24. Amri J, Parastesh M, Sadegh M, Latifi S, Alaee M. High-intensity interval training improved fasting blood glucose and lipid profiles in type 2 diabetic rats more than endurance training; possible involvement of irisin and betatrophin. Physiology international. 2019;106(3):213-24.

https://doi.org/10.1556/2060.106.2019.24

25. Ma S, Yang J, Tominaga T, Liu C, Suzuki K. A low-carbohydrate ketogenic diet and treadmill training enhanced fatty acid oxidation capacity but did not enhance maximal exercise capacity in mice. Nutrients. 2021;13(2):611.

https://doi.org/10.3390/nu13020611

26. Deja S, Fletcher JA, Kim C-W, Kucejova B, Fu X, Mizerska M, et al. Hepatic malonyl-CoA synthesis restrains gluconeogenesis by suppressing fat oxidation, pyruvate carboxylation, and amino acid availability. Cell Metabolism. 2024;36(5):1088-104. e12.

https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.02.004

27. Joseph JS, Ayeleso AO, Mukwevho E. Role of exercise-induced calmodulin protein kinase (CaMK) II activation in the regulation of omega-6 fatty acids and lipid metabolism genes in rat skeletal muscle. Physiol Res. 2017;66(6):969-77.

https://doi.org/10.33549/physiolres.933509

28. Joseph JS, Fagbohun OF. Exercise increases the expression of glucose transport and lipid metabolism genes at optimum level time point 6 h post-exercise in rat skeletal muscle. Comparative Clinical Pathology. 2022;31(1):147-53.

https://doi.org/10.1007/s00580-022-03318-4

29.Shahouzehi B, Masoumi-Ardakani Y, Nazari-Robati M, Aminizadeh S. The effect of high-intensity interval training and l-carnitine on the expression of genes involved in lipid and glucose metabolism in the liver of wistar rats. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2022;66:e23220100.

https://doi.org/10.1590/1678-4324-2023220100

30. Townsend LK, Steinberg GR. AMPK and the Endocrine Control of Metabolism. Endocrine reviews. 2023;44(5):910-33.

https://doi.org/10.1210/endrev/bnad012