

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

Saideh Ahmadinejad<sup>1</sup> , Fatemeh Kazeminasab<sup>1</sup> 

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](mailto:fkazeminasab@kashanu.ac.ir)

Received: 23 August 2025

Revised: 19 November 2025

Accepted: 25 November 2025

## *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.

## **Keywords:**

Exercise training,  
Lipolysis,  
Lipogenesis,  
CPT1a,  
SREBP1c

**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:

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

سعیده احمدی نژاد<sup>۱</sup>، فاطمه کاظمی نسب<sup>۱</sup>

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

## 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 بالا بر سطوح پروتئین‌های CPT1a و SREBP1c 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 انجام گرفت.

**نتایج:** نتایج مطالعه حاکی از وجود نشانه‌هایی از تجمع چربی داخل سلولی (استئاتوز)، سلول‌های بالونی‌شده و ساختار نامنظم هیپاتوسیت‌ها در مقایسه با گروه تمرین ورزشی بود. همچنین تراکم هیپاتوسیت‌ها 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.

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 تربت حیدریه محفوظ است.

## مقدمه

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 از جمله SREBP<sup>۳</sup> 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 تری‌گلیسرید 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<sup>۴</sup>) 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). در همین 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 (۵، 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 پروتئین CPT1a و

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 تری‌گلیسریدها 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 (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 (۴). قبل از ورود به مرحله  $\beta$ -اکسیداسیون، آسیل کارنیتین دوباره به acyl-CoAs تبدیل می‌شود. اختلال در عملکرد این پروتئین می‌تواند به بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نوع دو مرتبط باشد (۴). علاوه بر این، نشان داده شده است که این پروتئین در اثر تمرین ورزشی بیان می‌شود و موجب تحریک فرایند لیپولیز و جلوگیری از تجمع نامناسب تری‌گلیسرید در کبد می‌گردد (۵). در این میان، آنزیم استیل‌کوآ کربوکسیلاز (ACC) نیز نقش حیاتی در تنظیم تعادل بین مسیرهای لیپوژنز و بتا اکسیداسیون ایفا می‌کند، به طوری که با تولید مالونیل‌کوآ، به طور 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 به عنوان 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 به صورت 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 (۶).

<sup>3</sup> Sterol Regulatory Element-Binding

<sup>4</sup> High-Intensity Interval Training

<sup>1</sup>Carnitine Palmitoyl Transferase

<sup>2</sup> Acetyl-CoA Carboxylase

در قفس‌های خود نگهداری شدند و هیچ تمرین یا تماس اضافی به‌جز مراقبت‌های روزمره دریافت نکردند.

### پروتکل تمرین ورزشی

رت‌های 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 ۱۵ دقیقه در روز با شدت ۱۰-۱۵ متر بر دقیقه با شیب ۵ درجه روی تردمیل قرار گرفت تا رت‌ها بتوانند در آزمون حداکثر سرعت ( $V_{max}$ ) بیشترین توانایی خود را نشان دهند. ابتدا در هفته پنجم مطالعه برای محاسبه  $V_{max}$ ، حیوانات ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۶-۱۰ 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  $V_{max}$  تعیین گردید.

بر اساس نتیجه اولین  $V_{max}$  پروتکل HIIT برای رت‌های ورزشی به شرح زیر آغاز شد:

تمرین با ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ دقیقه بر متر (۳۰-۴۰ درصد  $V_{max}$ ) آغاز شد. پروتکل اصلی تمرین شامل ۸ ست ۳ دقیقه ایی با سرعت ۲۶ متر بر دقیقه (۹۰-۸۵ 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 ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه (۳۰-۴۰ درصد  $V_{max}$ ) بر روی تردمیل دویند. بعد از ۵ هفته تمرین، طبق اصل اضافه بار تست  $V_{max}$  برای مرتبه دوم انجام شد تا رت‌ها براساس  $V_{max}$  جدید خود تمرین ورزشی انجام دهند. پروتکل جدید تمرین ورزشی به شرح ذیل طراحی شد:

رت‌ها برای گرم کردن ۵ دقیقه با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه (۴۰-۳۰ درصد  $V_{max}$ ) دویند را آغاز کردند. پروتکل اصلی شامل ۸ ست ۴ دقیقه ایی با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه (۹۰-۸۵ درصد  $V_{max}$ ) با ۷ ست ۲ دقیقه ایی با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه (۴۰-۳۰ درصد  $V_{max}$ )

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 ۴-۵ هفته، وزن اولیه  $20 \pm 200$  گرم انتخاب شدند. رت‌ها از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و سپس به آزمایشگاه حیوانات فیزیولوژی و ورزشی دانشگاه کاشان منتقل شدند. حیوانات در قفس‌های مناسب با دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ 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) ( $n=6$ ) و گروه کنترل (تمرین نکرده) ( $n=6$ ) 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. رت‌های 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 رت‌ها 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

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 (% $V_{max}$ )	سرعت تردمیل زمان گرم / سرد کردن و استراحت (متر بر دقیقه)	تعداد تکرار	نسبت زمان تمرین به استراحت (دقیقه)	شدت زمان تمرین (% $V_{max}$ )	سرعت تردمیل زمان تمرین (متر بر دقیقه)	شیب (درجه)	مدت کل (دقیقه)
اول	۵	۴۰ - ۳۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۹۰ - ۸۵	۲۶	۵	۴۸
دوم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۹۰ - ۸۵	۲۶	۵	۴۸
سوم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۹۰ - ۸۵	۲۶	۵	۴۸
چهارم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۹۰ - ۸۵	۲۶	۵	۴۸
پنجم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۰	۱۵	۳:۲	۹۰ - ۸۵	۲۶	۵	۴۸
ششم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۹۰ - ۸۵	۳۰	۵	۵۶
هفتم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۹۰ - ۸۵	۳۰	۵	۵۶
هشتم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۹۰ - ۸۵	۳۰	۵	۵۶
نهم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۹۰ - ۸۵	۳۰	۵	۵۶
دهم	۵	۴۰ - ۳۰	۱۲	۱۵	۴:۲	۹۰ - ۸۵	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 ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و در نیتروژن مایع قرار گرفت. در نهایت بافت منجمد شده جهت استخراج پروتئین‌ها در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. لازم به ذکر است که برای تجزیه و تحلیل 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 (IX, Sigma-Aldrich) به نسبت ۱۰  $\mu$ L به ۱ mg بافت 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

با ضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم تهیه شده 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 (۱۷-۱۹). ارزیابی هیستولوژی نیز نسبت به گروه‌بندی حیوانات کور (blind) بود.

#### تجزیه و تحلیل 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 استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 19 انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر،  $p < 0.05$  در نظر گرفته شده است.

#### نتایج

با استفاده از تکنیک وسترن بلات میزان سطوح پروتئین SREBP1c و CPT1a نسبت به پروتئین B-actin مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون t-مستقل به روشنی نشان می‌دهد که ۱۰ هفته HIIT باعث کاهش معنادار سطوح پروتئین SREBP1c تمرینی نسبت به رت‌های کنترل شد ( $p=0.04$ ) (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد سطوح پروتئین CPT1a در رت‌های تمرینی نسبت به رت‌های کنترل به‌طور معناداری افزایش یافت

۱۰۰ ولت به غشای نیتروسولوزی منتقل شدند. غشاها در بافر سالین (pH 7.2، حاوی ۱/۰٪ توئین ۲۰)، با بافر مسدودکننده (۵٪ شیر و ۰.۵٪ BSA) به مدت ۱ ساعت مسدود شدند. سپس غشاها یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با آنتی‌بادی‌های SREBP1c و CPT1a انکوبه شدند:

SREBP1c: (Santa Cruz, sc-13551)

CPT1a: (Proteintech, 15184-1-AP)

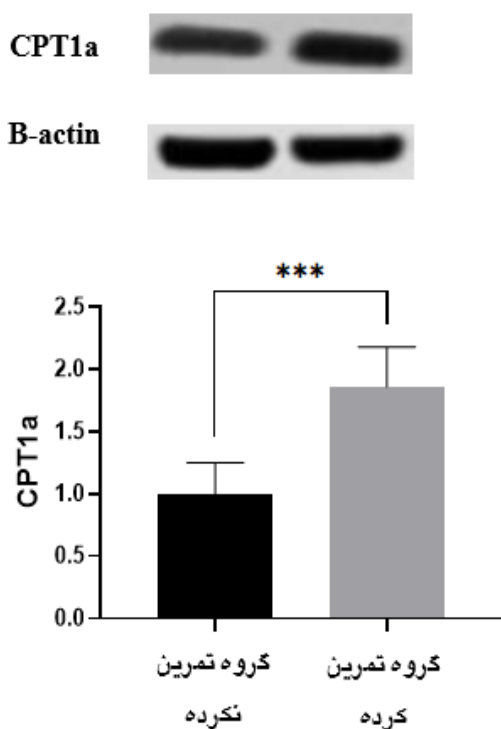
از شستشو، غشاها با آنتی‌بادی ثانویه HRP-conjugated به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. لکه‌ها با استفاده از کیت تشخیص لومینسانس شیمیایی (Clarity Western ECL Substrate, Cat# 1705061, Bio-Rad) باندها با تراکم‌سنج لیزری (RADA, Model 1200, IRAN) و نرم‌افزار داخلی تحلیل شد. تکنیک وسترن بلات برای بررسی سطوح پروتئین‌های CPT1a و SREBP1c انتخاب شد، زیرا این روش اختصاصی، حساس و توانایی مقایسه نسبی سطح پروتئین‌ها در پاسخ به مداخلات فیزیولوژیک از جمله 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 (۱۴-۱۶).

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

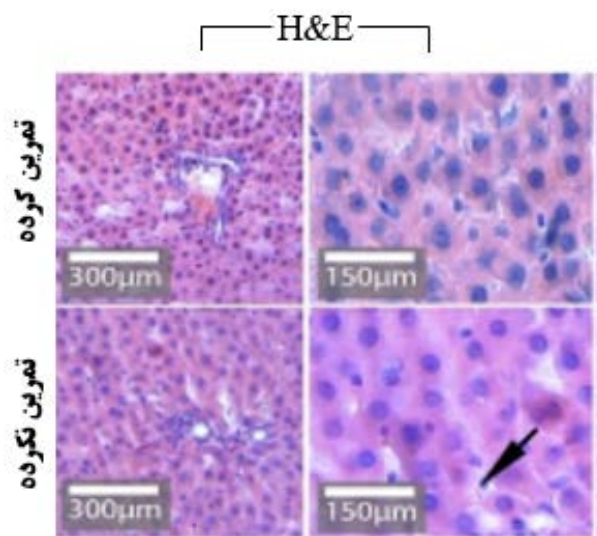
#### H&E<sup>۵</sup> رنگ‌آمیزی بافتی هماتوکسیلین و ائوزین

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 ۲۴ ساعت در دستگاه پردازشگر بافت قرار گرفتند و پس از اتمام فرآیند پردازش، در پارافین بلوک‌گیری شدند. برش‌های بافتی

<sup>5</sup> Hematoxylin and Eosin

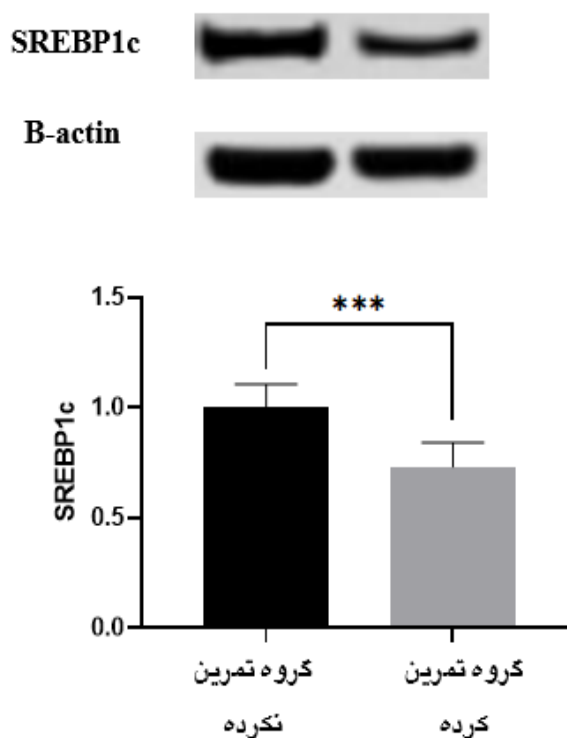


شکل ۲. میزان پروتئین CPT1a پس از اتمام پروتکل تمرینی در دو گروه تمرین کرده و تمرین نکرده (کنترل). تفاوت معنادار بین دو گروه برابر 0.04 است.



شکل ۳. فتومیکروگراف با بزرگنمایی کم‌زیاد 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.

(شکل ۲).  $(p=0.02)$ . آنالیزهای هیستوپاتولوژیک سلول‌های کبدی در هر دو گروه در شکل ۳ نمایش داده شده 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 هیپاتوسیت‌ها مشاهده گردید. در مقابل، در گروه تمرین ورزشی، ساختار سلولی بافت کبد به‌طور قابل‌توجهی منظم‌تر بوده و میزان استئاتوز و التهاب سلولی کاهش یافته بود. همچنین تراکم هیپاتوسیت‌ها 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.

## 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، به عنوان یکی از تمرینات ورزشی مؤثر و کارآمد شناخته شده است (۲۰). SREBP1c یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در تنظیم متابولیسم چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها در بدن ایفا می‌کند. این پروتئین به طور 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 به طور قابل توجهی کاهش یافت. در مطالعه دیگر مشاهده شد که هر دو تمرین هوازی با شدت‌های متفاوت سبب کاهش معنادار بیان ژن SREBP1c می‌شود (۲۲). HIIT به عنوان یک برنامه تمرین کم حجم و با شدت بالا می‌تواند سطح SREBP1c کبدی 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 (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر بیان شد که تمرین با تردمیل باعث افزایش اکسیداسیون چربی کبد در مدل حیوانی می‌شود (۲۵).

منتقل می‌کند تا به عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار گیرند (۴). بررسی یافته‌های بیشتر در این پژوهش نشان داد پس از انجام تمرینات ورزشی میزان بیان پروتئین CPT1a نسبت به گروه کنترل به طور 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 (۲۶). یافته این مطالعه همسو با مطالعه یوسف و همکاران که نشان دادند بیان ژن CPT1 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 به جای 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 AMPK (AMP/ ATP در هنگام تمرین ورزشی فعال می‌شود و با خاموش کردن مسیرهای سنتز اسیدهای چرب و کلسترول و روشن کردن فرآیندهای تولید ATP (اکسیداسیون

CPT1a یا کارنیتین پالمیتویل ترانسفراز A1، 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

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 متابولیسم کبدی تأکید دارند و نشان می‌دهند که تمرین منظم نه تنها 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. بدین وسیله از همکارانی که در انجام مراحل مختلف مطالعه ما را همراهی کردند، قدردانی می‌کنیم.

### تضاد منافع

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

### مشارکت نویسندگان:

- (۱) مفهوم‌پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: همه نویسندگان
- (۲) تهیه پیش‌نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: همه نویسندگان
- (۳) تأیید نهایی دست‌نوشته پیش از ارسال به مجله: همه نویسندگان

اسیدهای چرب) جذب گلوکز، فرآیند متابولیک و هموستاز انرژی را تنظیم می‌کند (۳۰). یکی از محدودیت‌های مطالعه، تعداد کم حیوانات (تعداد ۶ 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 شبیه‌سازی شده 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 افزایش CPT1a، 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 متابولیسم 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

## References

- 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>
- 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>
- 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>
- Schlaepfer IR, Joshi M. CPT1A-mediated fat oxidation, mechanisms, and therapeutic potential. *Endocrinology*. 2020;161(2):bqz046.  
<https://doi.org/10.1210/endo/bqz046>
- 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>
- 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>
- 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>
- Ferré P, Phan F, Foulle F. SREBP-1c and lipogenesis in the liver: an update. *Biochemical journal*. 2021;478(20):3723-39.  
<https://doi.org/10.1042/BCJ20210071>
- Wu B, Zhang Z, Xu C, Zhao J. Aerobic exercise improved liver steatosis by modulating miR-34a-mediated PPAR $\alpha$ /SIRT1-AMPK signaling pathway. 2025.  
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-6207434/v1>
- 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>
- 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>
- 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>
- 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.
- 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>
- 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>
- 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>
- 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>
- 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](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, Alae 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/edrv/bnad012>