

تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن های LXRa، PEPCK و G6PC2 در کبد موش های چاق پیش دیابتی

فاطمه کاظمی نسب^۱، سیدمحمد مرندي^۲، سمانه شیرخانی^۳، آرزو شیخانیان پور^۴، کامران قائدی^۵

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران (نویسنده مسئول)

۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۳ و ۴. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۵. استاد زیست شناسی سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۲

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان mRNA LXRa، PEPCK و G6PC2 در بافت کبد موش های چاق پیش دیابتی انجام شد. تعداد ۱۸ سر موش نر C57BL/6 به دو گروه تقسیم شدند: ۱- موش های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (موش های پیش دیابتی) (تعداد = ۱۲) و ۲- موش های تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد (موش های غیرچاق) (تعداد = ۶). تأیید شرایط پیش دیابتی با تست تحمل گلوکز (GTT) انجام گرفت. سپس موش های پیش دیابتی به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: رژیم غذایی پرچرب-تمرین (HFD-Exe) و رژیم غذایی پرچرب-بی تحرک (HFD-Sed). موش های گروه تمرینی به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته با سرعت متوسط ۲۱ متر بر دقیقه و به مدت ۴۵ دقیقه روی نوار گردان تمرین کردند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش ها قربانی و خون از قلب موش ها گرفته شد. بافت کبد جدا شد و برای اندازه گیری سطح بیان LXRa و ABCA1 در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. نتایج نشان داد سطوح LXRa و ABCA1 کبدی در موش های تمرین کرده به طور معناداری از موش های تمرین نکرده بیشتر بود. بیان نسبی ژن های کلیدی در گلوکونئوز از جمله G6PC2 و PEPCK در کبد موش های تمرین کرده در مقایسه با موش های تمرین نکرده به طور معناداری کاهش پیدا کرد. همچنین تمرین هوازی موجب کاهش استئاتوز و آنزیم های کبدی در موش های

1. Email: f_kazemi85@yahoo.com

2. Email: smmarandi2001@yahoo.com

3. Email: samane7249@yahoo.com

4. Email: arezoosheikhanian@gmail.com

5. Email: kamranghaedi@yahoo.com

پیش‌دیابتی شد. به‌دنبال تمرین بدنی، بیان ژن **LXRa** و **ABCA1** در کبد موش‌ها افزایش پیدا کرد و موش‌ها را از چاقی القاشده توسط **HFD** محافظت می‌کند و خطر بیماری کبد چرب را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، رژیم غذایی پرچرب، **LXRa**، پیش‌دیابت، کبد چرب.

مقدمه

سبک زندگی ناسالم از جمله رژیم‌های غذایی پرکالری است و بی‌تحرك به بروز چاقی و بیماری‌های مختلف از جمله منجر دیابت شده است؛ به‌طوری‌که در کشورهای در حال توسعه و توسعه‌یافته چاقی از مشکلات عمده سلامتی به‌شمار می‌رود. چاقی یکی از فاکتورهای اصلی خطر ابتلا به مقاومت انسولین، شرایط پیش‌دیابت، دیابت نوع دو (T2DM)^۱ و سایر عوارض متابولیک مانند کبد چرب و چربی خون است (۱، ۲). دیابت نوع دو معمولاً برای چند سال تشخیص داده نمی‌شود؛ زیرا میزان گلوکز خون به‌تدریج افزایش می‌یابد و در مراحل اولیه بیماری اغلب میزان افزایش گلوکز خون برای بروز علائم بیماری کافی نیست. در برخی موارد افزایش قندخون با تغییر رژیم غذایی، کاهش وزن و فعالیت بدنی از جمله ورزش‌های هوازی کنترل می‌شود. بر مبنای مطالعات پیشین، داشتن رژیم غذایی پرچرب، بی‌تحركی و نداشتن فعالیت بدنی در تنظیم میزان قندخون اختلال ایجاد می‌کند و سبب ابتلای افراد به شرایط پیش‌دیابت و بیماری دیابت می‌شود (۳).

پیش‌دیابت^۲ وضعیتی است که در آن اگرچه میزان قندخون تاحدودی بالاست، بیمار همه ملاک‌های دیابت را ندارد (۴، ۵). از طرف دیگر در سال‌های اخیر بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)^۳ به‌عنوان عامل پاتوژنیک مقاومت به انسولین و T2DM توجه پژوهشگران را به خود معطوف کرده است (۶، ۷). این نظر با چندین مطالعه مقطعی که ارتباط بین کبد چرب و شیوع دیابت نوع دو و همچنین تظاهرات سندرم متابولیک شامل دیس لیپیدمی^۴ و چاقی شکمی را نشان داده‌اند، حمایت شده است و در مجموع مقاومت به انسولین را به‌عنوان یک تظاهر مهم NAFLD شاخص می‌کند. حضور دیابت نوع دو در بزرگسالان مبتلا به کبد چرب یک فاکتور خطر ساز بالینی برای پیشرفت کبد چرب محسوب می‌شود (۸-۱۰). از طرفی NAFLD نه‌تنها باعث آسیب شدید به کبد می‌شود، بلکه با عوارض ثانویه مانند اضافه‌وزن، دیس لیپیدمی و دیابت نوع دو همراه است (۱۱)؛ بنابراین مسیرهای دخیل در ایجاد مقاومت انسولین در مرحله پیش‌دیابت و کبد چرب می‌تواند به‌عنوان اهداف درمانی برای مطالعه

1. Type 2 Diabetes Mellitus
2. Prediabetes
3. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
4. Dyslipidemia

مکانیسم‌های پیش‌دیابت و کبد چرب مطرح شوند (۱۲). لازم است ذکر شود که از نشانه‌های مهم این بیماری، افزایش آنزیم‌های کبدی از جمله آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) است.

در سال‌های اخیر، تلاش پژوهشگران در جهت پیشگیری از بیماری‌های متابولیک، شناسایی فاکتورهای تشدیدکننده و درمان آن‌ها توسط روش‌های درمانی مانند تمرین‌های ورزشی بوده است. از طرفی مطالعات زیادی نشان می‌دهند که انجام دادن تمرین‌های ورزشی سبب بهبود متابولیسم گلوکز و چربی می‌شود و همچنین انتقال بهتر گلوکز به عضلات را به همراه دارد (۱۳). یکی از ژن‌های کلیدی در بافت کبد که در هومئوستاز گلوکز و کلسترول نقش دارد، گیرنده کبدی ایکس «LXR»^۱ است. این گیرنده متابولیسم گلوکز را در هیپاتوسیت‌ها تنظیم می‌کند (۱۴). LXR یک گیرنده هسته‌ای است که مسئولیت تنظیم مسیرهای اصلی متابولیک از جمله هومئوستاز گلوکز، هومئوستاز کلسترول، متابولیسم اسیدهای صفراوی و لیپوژنز را برعهده دارد. فعال‌سازی LXR باعث افزایش بیان ژن‌های درگیر در هومئوستاز کلسترول از جمله ABCA1^۲ می‌شود که نقش مهمی در افزایش بازسازی لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL)^۳ دارد؛ به طوری که ABCA1، کلسترول و فسفولیپیدها را از غشای پلاسما به آپولیپوپروتئین‌های فاقد چربی (apoA1)^۴ انتقال می‌دهد. این انتقال‌دهنده‌ها نقش مهمی در تشکیل ذرات HDL نابالغ کبدی ایفا می‌کنند (۱۵).

تعدادی از مطالعات گزارش کرده‌اند که بیان ژن LXR در کبد بیماران NAFLD کاهش پیدا می‌کند؛ بنابراین استفاده از داروها یا ترکیبات طبیعی برای القای LXR ممکن است فرصت‌های جدیدی را برای بهبود پاتوژنز NAFLD فراهم کند (۱۱). از سوی دیگر، برخی مطالعات نشان داده‌اند که فعال‌شدن LXR از طریق آگونیست‌های مصنوعی خود از جمله T0901317 به افزایش رونویسی ژن‌های درگیر در لیپوژنز منجر می‌شود که با عوارض جانبی از جمله هایپرلیپیدمی، افزایش تری‌گلیسیرید خون و استئاتوز کبدی همراه است (۱۶، ۱۷).

همچنین LXR در هومئوستاز گلوکز نقش مهمی را ایفا می‌کند؛ به طوری که فعال‌شدن LXR توسط T0901317 موجب مهار ژن‌های درگیر در تولید گلوکز (گلوکونئوژنز) از جمله فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز «PEPCK»^۵ و گلوکز شش فسفاتاز دو «G6PC2»^۶ می‌شود (۱۸). در هیپاتوسیت‌ها،

-
1. Liver x Receptor
 2. ATP Binding Cassette Subfamily a Member 1
 3. High-Density Lipoprotein
 4. Lipid-Free Apolipoprotein
 1. Phosphoenolpyruvate Carboxykinase
 2. Glucose-6-Phosphatase 2

آگونیست‌های این گیرنده حساسیت انسولین را افزایش می‌کنند و ترشح انسولین را تحریک می‌کنند. این ژن نقش مهمی در پیشگیری از دیابت و کبد چرب ایفا می‌کند (۱۹). تلاش برای شناخت فعال‌کننده‌های غیردارویی ژن LXR که یکی از آن‌ها می‌تواند فعالیت بدنی باشد، احتمالاً می‌تواند برای پیشگیری از دیابت و کبد چرب سودمند و بی‌ضرر باشد و هر دو هدف درمانی به‌منظور تنظیم متابولیسم چربی و گلوکز بدون عوارض جانبی باشند. اگرچه در سال‌های گذشته در پژوهش‌های بسیاری به بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر بیماری دیابت و کبد چرب پرداخته شده است، نتایج حاکی از آن است که تمرین‌های هوازی در پیشگیری و درمان دیابت و کبد چرب نقش مهمی داشته‌اند، اما در پژوهش‌های اندکی به بررسی مکانیسم‌های سلولی و مولکولی تأثیرات تمرین‌های بدنی پرداخته شده است. با توجه به اهمیت ژن LXR در هومئوستاز گلوکز و کلسترول، این پژوهش طراحی شد تا نشان دهد آیا تمرین‌های هوازی منظم می‌توانند ژن LXR را در موش‌های چاق پیش‌دیابتی فعال کنند و به‌دنبال آن تولید گلوکز کبدی کاهش و کبد چرب بهبود پیدا کند؟

روش پژوهش

مداخله اول (رژیم غذایی پرچرب برای القای پیش‌دیابت): تعداد ۱۸ موش نر C57BL/6 با وزن تقریبی (۱۲-۱۶ گرم) در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما (1 ± 23) درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (5 ± 50 درصد) در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند و وزن بدن آن‌ها به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. پس از دو هفته آشنایی با فضای آزمایشگاه و دستکاری توسط انسان، موش‌ها به دو گروه تقسیم شدند: ۱- موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (HFD).^۱ گروه تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب به مدت ۱۲ هفته برای القای چاقی و شرایط پیش‌دیابت از رژیم غذایی پرچرب (۶۰ درصد کیلوکالری از چربی، ۳۵ درصد کیلوکالری از کربوهیدرات و ۲۰ درصد کیلوکالری از پروتئین) تغذیه شدند و ۲- موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی استاندارد (SD)^۲ (۱۰ درصد کیلوکالری از چربی، ۷۰ درصد کیلوکالری از کربوهیدرات، ۲۰ درصد کیلوکالری از پروتئین) بود. در هر گرم خوراک استاندارد، ۳/۶ کیلوکالری انرژی و در هر گرم خوراک پرچرب، ۵/۸ کیلوکالری انرژی وجود داشت. لازم است ذکر شود که پژوهشگر این پژوهش (نویسنده اول) خوراک پرچرب (HFD) را با همکاری دانشگاه اصفهان و پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان به شماره ۹۷۰۳۵ ثبت اختراع کرده است. عنوان این اختراع «خوراک پرچرب به‌صورت پلت برای القای چاقی و اختلالات متابولیک در مدل‌های حیوانی» است.

3. High-Fat Diet

4. Standard Diet

مدل چاقی القا شده توسط رژیم غذایی پرچرب عمدتاً برای القای تجمع بافت چربی بدن، چاقی و بیماری‌های متابولیک از جمله شرایط پیش‌دیابت در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود (۲۱، ۲۰). شایان ذکر است که برای تأیید القای شرایط پیش‌دیابت و مقاومت انسولین در مدل حیوانی، در انتهای اعمال مداخله اول (رژیم غذایی پرچرب) تست تحمل گلوکز (GTT)، تست تحمل انسولین (ITT) در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد و ارزیابی مدل هومئوستاز-مقاومت انسولین (HOMA-IR) انجام شد.

مداخله دوم (تمرین هوازی): بعد از ۱۲ هفته (در شروع هفته سیزدهم)، حیوانات تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (اطلاق شده به موش‌های پیش‌دیابت)^۱ به دو گروه تقسیم شدند: ۱- موش‌های تمرین کرده-تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (HFD-Exe, n=6) و ۲- موش‌های بی‌تحرك-تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (HFD-Sed, n=6). موش‌های گروه تمرینی با شدت ۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در روز روی تردمیل مخصوص موش‌ها تمرین بدنی خود را آغاز کردند و به مدت یک هفته به تدریج زمان فعالیت به ۴۵ دقیقه در روز و شدت فعالیت به ۱۷ متر در دقیقه افزایش یافت. این هفته تمرین برای این منظور طراحی شد تا موش‌های گروه تمرینی در شروع پروتکل فزاینده^۲ و براساس اصل اضافه‌بار تمرین بتوانند هر هفته پنج روز متوالی هر روز یک جلسه و هر جلسه ۴۵ دقیقه با شدت ۱۷ متر در دقیقه روی نوار گردان بدونند؛ به طوری که در هفته‌های اول و دوم با شدت ۱۷ متر در دقیقه، هفته‌های سوم و چهارم با شدت ۱۹ متر در دقیقه، هفته‌های پنجم و ششم با شدت ۲۱ متر در دقیقه، هفته‌های هفتم و هشتم با شدت ۲۳ متر در دقیقه و شیب صفر درجه تمرین کردند. پروتکل تمرینی استفاده شده در این طرح پژوهشی با شدت ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بوده است (۲۲-۲۴). موش‌های تمرین‌نکرده در حین انجام دادن طرح پژوهشی هیچ تمرین بدنی روی تردمیل نکردند.

جداسازی بافت کبد: بیست و چهار ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها در حالتی که یک شب کامل ناشتا بودند، (۱۴ ساعت ناشتایی) از طریق تزریق داخل صفاقی ماده بی‌هوشی کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی از طریق عقب‌نکشیدن پا، خون از بطن راست هر موش توسط سرنگ گرفته شد و بلافاصله درون لوله‌های آزمایش ریخته شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه (RPM) سانتریفیوژ شدند و سپس سرم خون هر نمونه جدا شد و برای اندازه‌گیری نیمرخ لیپیدی و آنزیم‌های کبدی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از خون‌گیری،

-
1. Obese Mice
 2. Progressive

بافت کبد به سرعت جدا شد و به داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری منتقل شد و در نیتروژن مایع قرار گرفت. سپس بافت منجمد برای استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. **ملاحظات اخلاقی:** کد اخلاق این پژوهش IR.ACECR.ROYAN.REC.1398.45 است.

آنالیز نیمرخ لیپیدی و آنزیم‌های کبدی: برای تعیین غلظت کلسترول تام (TC)، تری گلیسیرید (TG)، لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL) و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) موجود در سرم از کیت آنزیمی محصول شرکت Biolabo فرانسه استفاده شد. مقادیر آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) با استفاده از کیت بیوشیمیایی آزمایش شدند.

ارزیابی مدل هومئوستاز-مقاومت انسولین (HOMA-IR): پس از اعمال مداخله اول، درحالی که موش-ها به مدت ۱۲ ساعت در حالت ناشتا بودند، قندخون ناشتا از طریق کیت‌های مخصوص گلوکز اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی میزان انسولین پلاسما، خون به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد و پلاسما جداسازی شد. سطح انسولین پلاسما توسط کیت الیزا سنجش شد. مقیاس HOMA-IR به عنوان مقیاس مقاومت انسولین با استفاده از گلوکز و انسولین ناشتا تعیین شد. معادله زیر برای محاسبه مقدار HOMA-IR استفاده شد (حاصل ضرب میزان انسولین ناشتا (μU/mL) در میزان گلوکز ناشتا (mg/dL) پلاسما، تقسیم بر ۴۰۵) (۲۵).

آنالیز هیستوپاتولوژی کبد: برای ارزیابی بافت‌شناسی، بخشی از بافت کبد در پارافرمالدئید-PBS^۱ چهار درصد تثبیت شد و با استفاده از تکنیک هماتوکسیلین و انوزین^۲ (H&E) رنگ‌آمیزی شد. ارزیابی نیمه کمی استئاتوزیس^۳ در بافت کبد موش‌ها توسط یک هیستوپاتولوژیست باتجربه مطابق با نمره فعالیت کبد چرب^۴ (NAS) تعریف شده توسط کلاینر^۵ و همکاران (۲۶) انجام شد. تصاویر با استفاده از میکروسکوپ Olympus BX45 (آلمان) با یک دوربین Micro Optimal (آلمان) تهیه شده است. نتایج هیستوپاتولوژی کبد مطابق با پژوهش برانت^۶ و همکاران (۲۷) کمی‌سازی شد؛ به طوری که صفر (۰) بدون استئاتوزیس-کبد سالم و I کمتر از ۲۵ درصد از سلول‌های کبدی مبتلا هستند؛ II دامنه ۲۶ تا ۵۰ درصد از سلول‌های کبدی آسیب‌دیده، III دامنه ۵۱ تا ۷۵ درصد از سلول‌های کبدی آسیب‌دیده و IV بیشتر از ۷۶ درصد از سلول‌های کبدی مبتلا شده‌اند (۲۷).

-
1. Phosphate-Buffered Saline
 2. Hematoxylin and Eosin (H&E)
 3. Steatosis
 4. NAFLD Activity Score
 5. Kleiner
 6. Brunt

استخراج RNA و بررسی بیان ژن توسط Real time PCR: به‌منظور جداسازی RNA از بافت عضله اسکلتی از ترایزول^۱ (شرکت Thermo Scientific) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد و سپس RNA استخراج‌شده با استفاده از کیت DNaseI (شرکت Thermo Scientific) از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاک‌سازی شد. از هرکدام از نمونه‌ها دو میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA به‌کار گرفته شد. در این پژوهش برای سنتز cDNA از کیت cDNA synthesis (شرکت TaKaRa) استفاده شد؛ به این صورت که برای ساخت cDNA از آغازگر (پرایمر)^۲ رندوم هگزامر^۳ استفاده شد. سطح نسبی بیان LXRa mRNA و ABCA1 کبدهی با استفاده از روش Real time PCR اندازه‌گیری شد. توالی پرایمر اختصاصی LXRa، ABCA1، PEPCK و G6PC2 در جدول شماره یک ارائه شده است. برای کنترل تکثیر ژن‌ها از پرایمر اختصاصی GAPDH^۴ استفاده شد. «ژن خانه‌گردان»^۵ نامیده می‌شود. این ژن در همه بافت‌ها بیان می‌شود و می‌تواند شاهد خوبی برای بررسی بیان ژن باشد (جدول شماره یک).

جدول ۱- توالی پرایمرها

Table 1- Sequence of Primers

طول محصول Product Length	پرایمر پیشرو Forward Primer (5'-3')	پرایمر معکوس Reverse Primer (5'-3')	ژن Gene
121	TGCCGCCTGGAGAAAC C	TGAAGTCGCAGGAG ACAACC	GAPDH
328	TCCATCAACCACCCCC ACGAC	CAGCCAGAAAACAC CCAACCT	LXRa
162	CTTGCTTCCGTTATCCA ACTCCAG	GCTGTAATGTTCTCA GGACCTTGTG	ABCA1
122	AAGCATTCAACGCCAG GTTC	GGGCGAGTCTGTCAG TTCAAT	PEPCK
142	CCTGATGGTGGTGGCT CTA	TCTCTGTGCTGTGGC TCTATT	G6PC2

برای انجام‌دادن تکنیک Real time PCR باید بهترین غلظت cDNA برآورد شود. بدین‌منظور غلظت-های مختلف cDNA بررسی شدند و درنهایت غلظت مناسب دو میکرولیتر (2µl) برای Real time

1. TRIzol Reagent
2. Primer
3. Random Hexamer
4. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase
5. Housekeeping

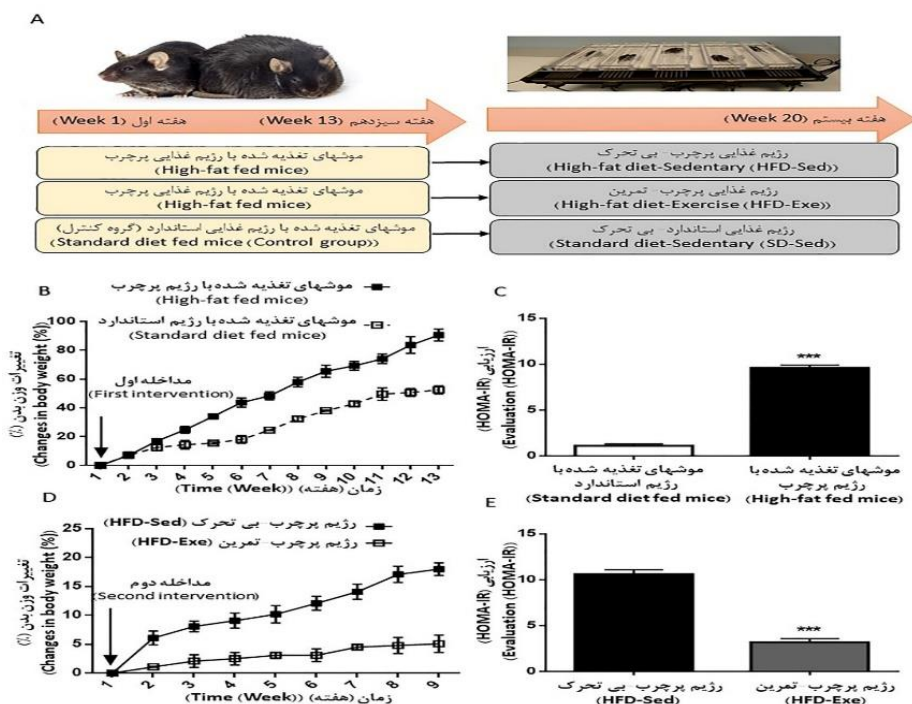
PCR در نظر گرفته شد. واکنش Real time PCR برای همه نمونه‌ها با استفاده از کیت SYBR Green PCR Master Mix (شرکت TaKaRa) و دستگاه ABI Applied Biosystems ساخت کشور آمریکا سه بار تکرار شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه به دست آمد و با استفاده از روش $(2^{-\Delta\Delta CT})$ سطح بیان *ABCA1*، *LXRa*، *PEPCK* و *G6PC2* نسبت به بیان *GAPDH* محاسبه شد.

داده‌ها براساس میانگین \pm خطای استاندارد میانگین^۱ گزارش شد. برای تعیین میزان تفاوت بین سه گروه از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه^۲ در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس. نسخه ۳، نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند و برای رسم نمودار از نرم‌افزار GraphPad Prism 6 نسخه ۲۰۱۵ استفاده شد.

نتایج

اثرات تمرین هوازی بر وزن بدن و HOMA-IR: وزن بدن موش‌ها در شکل شماره یک نمایش داده شده است. تغییرات وزن بدن موش‌های چاق پیش‌دیابتی در مداخله دوم در گروه HFD-Sed از گروه HFD-Exe بیشتر بود ($P < 0.05$). همچنین شاخص مقاومت انسولین (HOMA-IR) در موش‌های HFD-Exe در مقایسه با گروه HFD-Sed کاهش پیدا کرد ($P < 0.05$).

-
1. Standard Error of the Mean
 2. One-Way ANOVA
 3. SPSS



شکل ۱- پروتکل پژوهش و تغییرات وزن بدن و ارزیابی مدل هومئوستاز-مقاومت انسولین (HOMA-IR): A: نمایش کلی از پروتکل پژوهش با اعمال دو نوع مداخله (رژیم غذایی و تمرین بدنی)، B: تغییرات وزن بدن پس از اعمال مداخله اول (القای پیش‌دیابت)، C: ارزیابی HOMA-IR پس از اعمال مداخله اول و تأیید القای مدل پیش‌دیابت در مدل حیوانی، D: تغییرات وزن بدن پس از اعمال مداخله دوم (تمرین هوازی)، E: ارزیابی HOMA-IR در موش‌های تمرین‌کرده (HFD-Exe) و تمرین‌نکرده (HFD-Sed).

Figure 1- The study protocol and changes in body weight and evaluation of homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR). A: Overview of the study protocol by two types of intervention (Diet and Exercise), B: Changes in body weight after the first intervention (induction of prediabetes), C: Evaluation of HOMA-IR after the first intervention and confirming the induction of prediabetes model in the animal model. D: Changes in body weight after the second intervention (aerobic exercise) mice, E: Evaluation of HOMA-IR in trained (HFD-Exe) and untrained (HFD-Sed).

داده‌ها براساس میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شده‌اند. در هر گروه تعداد موش‌ها برابر با شش سر است.

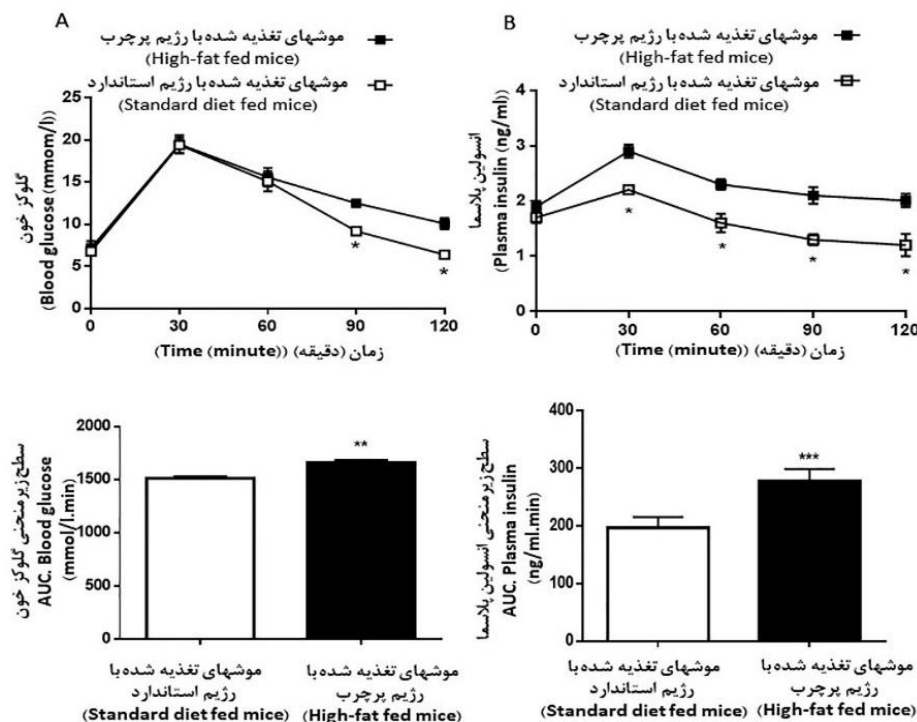
***: سطح معناداری کمتر از ۰/۰۰۱.

Data was reported based on mean \pm standard error of mean (SEM). The number of mice in each group is equal to six mice.

***: P Value < 0.001.

اثرات رژیم غذایی پرچرب و القای پیش‌دیابت بر میزان گلوکز، انسولین پلاسما و HOMA-IR: در شکل شماره یک داده‌ها نشان می‌دهند که مقاومت انسولین در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب به‌طور معناداری از موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی استاندارد بیشتر است (مدل هومئوستاز-مقاومت انسولین (HOMA-IR)، $P < 0.001$). همچنین در تست تحمل گلوکز (GTT) پس از تزریق گلوکز، سطوح قندخون افزایش پیدا کرد. پس از آن، سطح قندخون به‌تدریج کاهش یافت و در نهایت در زمان ۱۲۰ دقیقه به سطح اولیه بازگشت. تفاوت معناداری در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در زمان‌های ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه در مقایسه با گروه کنترل (موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی استاندارد) مشاهده شد (شکل شماره دو، $P < 0.05$). این نتایج با افزایش مقادیر سطح زیر منحنی (AUC) گلوکز در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب (موش‌های پیش‌دیابت) در مقایسه با گروه کنترل تأیید شد (شکل شماره دو، $P < 0.05$).

در تست تحمل انسولین پلاسما (ITT) پس از تزریق انسولین سطوح انسولین پلاسما افزایش پیدا کرد. پس از آن، سطح انسولین پلاسما به‌تدریج کاهش یافت و در انتها در زمان ۱۲۰ دقیقه به پایین‌ترین سطح رسید. تفاوت معناداری در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه در مقایسه با گروه کنترل (موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی استاندارد) مشاهده شد (شکل شماره دو، $P < 0.05$). این نتایج با افزایش چشمگیر مقادیر سطح زیر منحنی (AUC) انسولین در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با گروه کنترل تأیید شد (شکل شماره دو، $P < 0.05$). با توجه به نتایج تست‌های GTT، ITT، اختلال تحمل گلوکز و ارزیابی مدل هومئوستاز-مقاومت انسولین (HOMA-IR) در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با گروه کنترل، القای شرایط پیش‌دیابت و مقاومت انسولین در مدل حیوانی تأیید شد.



شکل ۲- تست تحمل گلوکز (GTT) و تست تحمل انسولین پلاسما (ITT) بعد از اعمال مداخله اول؛ A: میزان گلوکز خون پس از تزریق گلوکز در موش‌های تیمار شده با رژیم غذایی پرچرب و استاندارد؛ سطح زیر منحنی گلوکز (AUC)؛ B: میزان انسولین پلاسما پس از تزریق انسولین در موش‌های تیمار شده با رژیم غذایی پرچرب و استاندارد؛ سطح زیر منحنی انسولین (AUC).

Figure 2- Glucose tolerance test (GTT) and plasma insulin tolerance test (ITT) after the first intervention; A: The levels of blood glucose after glucose injection in mice treated with high-fat and standard diet; area under the curve (AUC). B: The levels of plasma insulin after insulin injection in mice treated with high-fat and standard diet; area under the curve (AUC).

داده‌ها براساس میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شده است. در هر گروه تعداد موش‌ها برابر با شش سر است.

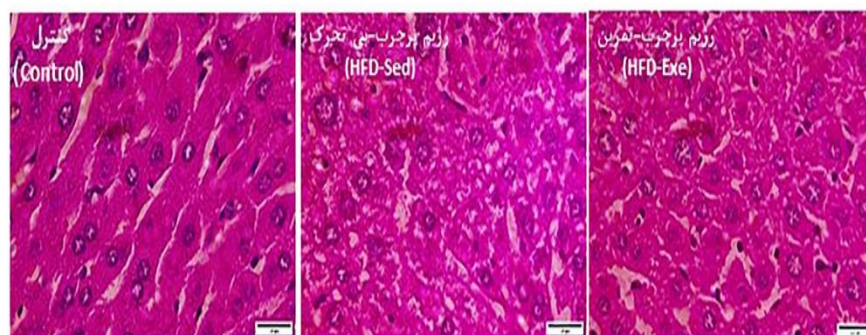
*, **, ***: P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001, respectively.

Data was reported based on mean \pm standard error of mean (SEM). The number of mice in each group is equal to six mice.

*, **, ***: P < 0.05, P < 0.01, and P < 0.001, respectively.

اثرات تمرین هوازی بر هیستولوژی بافت کبد: ارزیابی بافت‌شناسی بخش‌های کبد رنگ‌آمیزی شده با روش H&E نشان داد که استئاتوز کبدی در موش‌های HFD-Sed ($32/8 \pm 1/4$ درصد چربی) وجود دارد؛ درحالی‌که درجه استئاتوز کبدی در گروه HFD-Exe ($0/22 \pm 16/4$ درصد چربی) به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد (شکل شماره ۵ه، $P < 0.05$)؛ درحالی‌که نمره NAS در گروه HFD-Exe ($2/1 \pm 0/2$) در مقایسه با گروه HFD-Sed ($3/2 \pm 0/09$) به‌طور درخور توجهی کاهش یافت. این داده‌ها نشان می‌دهند که هشت هفته تمرین استقامتی مداخله‌ای مؤثر برای بهبود ویژگی‌های بافت‌شناسی و استئاتوز کبدی در بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) هستند (شکل شماره ۵ه، $P < 0.05$).

اثرات تمرین هوازی بر نیمرخ لیپیدی و آنزیم‌های کبدی: به‌دنبال رژیم غذایی پرچرب و القای پیش‌دیابت، میزان تری‌گلیسیرید (TG)، کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL)، آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) در گروه HFD-Sed در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافت و میزان لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL) به‌طور معناداری کاهش یافت (جدول شماره ۵د، $p < 0.05$). همچنین به‌دنبال تمرین استقامتی، میزان میزان تری‌گلیسیرید (TG)، کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)، آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) در گروه HFD-Exe در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش یافت و میزان لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL) به‌طور معناداری افزایش یافت (جدول شماره ۵د، $P < 0.05$).



گروه رژیم پرچرب-تمرین HFD-Exe	گروه رژیم پرچرب- بی‌تحرک HFD-Sed	گروه کنترل Control	فاکتورها Factors
16.4 ± 0.22 (b)	(a,b) 32.8 ± 1.4	5.16 ± 0.06 (a)	درصد چربی (Fat Percent)
1.06 ± 0.08 (b)	(a,b) 1.91 ± 0.07	0 ± 0 (a)	استئاتوز (Steatosis (0-3))
2.1 ± 0.2 (b)	(a,b) 3.2 ± 0.09	0.1 ± 0.04 (a)	نمره فعالیت بیماری کبد چرب (NAFLD Activity Score)

جدول ۳- اثرات رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی بر هیستولوژی کبد در موش‌های پیش‌دیابتی؛ A: اثر رژیم غذایی و تمرین بدنی بر هیستولوژی کبد به روش H&E staining (scale bar: 20 μm). B: درصد چربی، استئاتوز کبدی و نمره فعالیت کبد چرب (NAS) در هر سه گروه. داده‌ها براساس میانگین ± خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شده است. در هر گروه تعداد موش‌ها برابر با شش سر است.

a: تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و HFD-Sed.

.P < 0.05

b: تفاوت معنادار بین گروه‌های HFD-Exe و HFD-Sed.

Figure 3- Effects of high-fat diet and aerobic exercise on liver histology in prediabetic mice; A: The effect of diet and exercise on liver histology by H&E staining (scale bar: 20 μm). B: Fat percentage, liver steatosis and NAFLD activity score (NAS)

In all three groups. Data was reported based on mean ± standard error of mean (SEM). The number of mice in each group is equal to six mice.

a: Significant difference between control and HFD-Sed groups.

b: Significant difference between HFD-Sed and HFD-Exe groups. P < 0.05.

جدول ۲- اثر تمرین استقامتی بر نیمرخ لیپیدی و آنزیم‌های کبدی در موش‌های پیش‌دیابتی

Table 2- The Effect of Endurance Training on Lipid Profile and Liver Enzymes in Prediabetic Mice

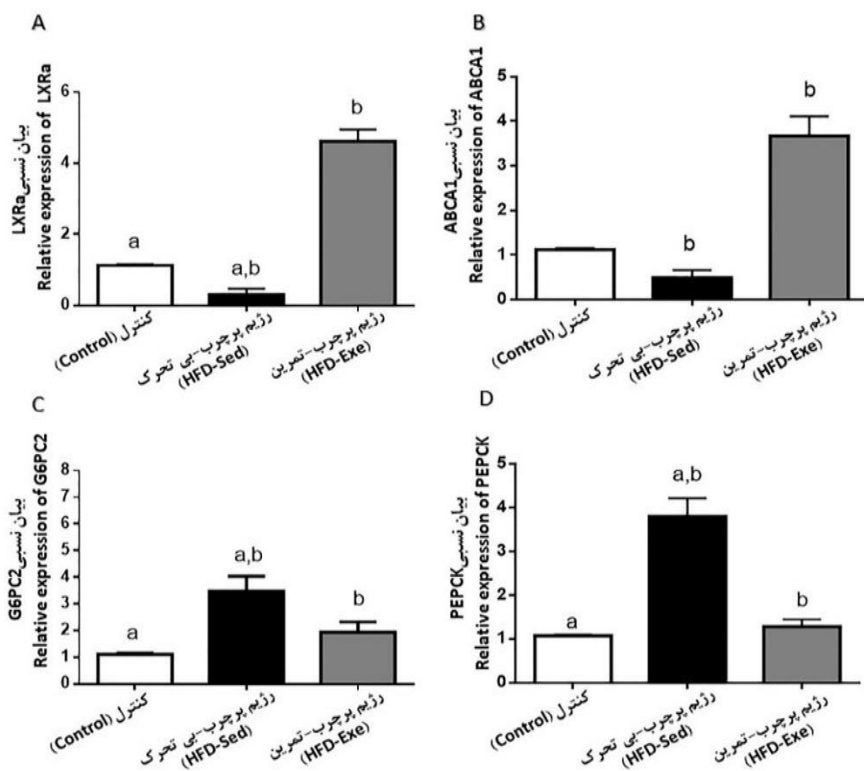
متغیرها (Variables)	گروه کنترل (Control)	گروه رژیم پرچرب- بی تحرک (HFD-Sed)	گروه رژیم پرچرب- تمرین (HFD-Exe)
تری گلیسرید Triglyceride (mmol/L)	1.45 ± 0.15 (a)	2.85 ± 0.24 (a,b)	1.76 ± 0.14 (b)
کلسترول تام (mmol/L) Total Cholesterol	3.21 ± 0.48 (a)	5.59 ± 0.09 (a,b)	3.62 ± 0.29 (b)
لیپوپروتئین با چگالی بالا HDL (mmol/L)	3.2 ± 0.38 (a)	2.5 ± 0.12 (a,b)	2.91 ± 0.34 (b)
لیپوپروتئین با چگالی پایین LDL (mmol/L)	0.25 ± 0.04 (a)	1.14 ± 0.06 (a,b)	0.75 ± 0.05 (b)
آلانین آمینوترانسفراز ALT (U/L)	21.15 ± 0.18 (a)	52.18 ± 2.16 (a,b)	28.99 ± 1.47 (b)
آسپاراتات آمینوترانسفراز AST (U/L)	31.2 ± 0.35 (a)	83.04 ± 3.29 (a,b)	42.66 ± 2.82 (b)

داده‌ها براساس میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شده است.

Data was reported based on mean \pm standard error of mean (SEM).

اثرات تمرین هوازی بر بیان نسبی LXRa و ABCA1 کبدی: نتایج نشان داد که بیان LXRa mRNA اثرات کبدی در موش‌های تمرین‌کرده به‌طور معناداری از موش‌های تمرین‌نکرده بیشتر بود (شکل شماره چهار، $P < 0.001$). همچنین نتایج نشان داد که بیان ABCA1 mRNA در کبد موش‌های تمرین‌کرده به‌طور معناداری از موش‌های تمرین‌نکرده بیشتر بود (شکل شماره چهار، $P < 0.01$).

اثرات تمرین هوازی بر بیان نسبی PEPCK و G6PC2 کبدی: نتایج نشان داد که بیان PEPCK mRNA در کبد موش‌های تمرین‌کرده (HFD-Exe) در مقایسه با موش‌های تمرین‌نکرده (HFD-Sed) به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد (شکل شماره چهار، $P < 0.001$). همچنین بیان G6PC2 کبدی در موش‌های تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های تمرین‌نکرده به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد (شکل شماره چهار، $P < 0.05$).



شکل ۴- بیان نسبی ژن‌های LXRa, ABCA1, G6PC2 و PEPCK در کبد موش‌های تمرین کرده و تمرین نکرده؛ A: بیان نسبی LXRa کبدی، B: بیان نسبی ABCA1 کبدی، C: بیان نسبی G6PC2 کبدی، D: بیان نسبی PEPCK کبدی.

Figure 4- Relative expression of LXRa, ABCA1, G6PC2, and PEPCK mRNAs in the liver of trained and untrained mice; A: Hepatic relative expression of LXRa, B: Hepatic relative expression of ABCA1, C: Hepatic relative expression of G6PC2, D: Hepatic relative expression of PEPCK.

داده‌ها براساس میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شده است. در هر گروه تعداد موش‌ها برابر با ۶ سر است.

a: تفاوت معنادار بین گروه‌های کنترل و HFD-Sed.

b: تفاوت معنادار بین گروه‌های HFD-Sed و HFD-Exe. $P < 0.05$

Data was reported based on mean \pm standard error of mean (SEM). The number of mice in each group is equal to six mice.

a: Significant difference between control and HFD-Sed groups.

b: Significant difference between HFD-Sed and HFD-Exe groups. $P < 0.05$

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر اثر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های LXRa، PEPCK و G6PC2 در کبد موش‌های پیش‌دیابتی بررسی شد. نتایج نشان داد که رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش وزن بدن، میزان تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، LDL، آنزیم ALT و AST سرمی و درصد چربی کبدی در موش‌های پیش‌دیابتی شد. همچنین تحت‌تأثیر رژیم غذایی پرچرب، بیان LXRa و ABCA1 کبدی به‌طور معناداری کاهش یافت و بیان ژن‌های کلیدی گلوکونئوزنز از جمله G6PC2 و PEPCK در کبد موش‌های پیش‌دیابتی به‌طور معناداری افزایش پیدا کرد، اما تمرین استقامتی شرایط فیزیولوژیک ایجادشده توسط رژیم غذایی پرچرب را بازگرداند؛ به‌طوری‌که به‌دنبال تمرین هوازی، میزان تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، LDL، ALT، AST سرمی و استئاتوز کبدی در موش‌های پیش‌دیابتی کاهش پیدا کرد. همچنین سطوح LXRa و ABCA1 کبدی در موش‌های تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های تمرین‌نکرده به‌طور معناداری افزایش پیدا کرد. علاوه‌براین، سطوح ژن‌های گلوکونئوزنیک G6PC2 و PEPCK در کبد موش‌های تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های تمرین‌نکرده به‌طور معناداری کاهش یافت.

در مطالعات اخیر گزارش شده است که گیرنده کبدی ایکس (LXR) در تنظیم مسیرهای اصلی متابولیک از جمله هومئوستاز کلسترول، متابولیسم لیپیدها و هومئوستاز گلوکز نقش مهمی را ایفا می‌کند. برخی از مطالعات گزارش کرده‌اند که بیان ژن LXR در کبد بیماران NAFLD کاهش پیدا کرده است. کاهش بیان این ژن یکی از دلایل اصلی در پاتوژنز بیماری NAFLD است که می‌تواند با آسیب کبدی و آپوپتوز همراه باشد. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که با استفاده از داروها و ترکیبات طبیعی می‌توان بیان این ژن را افزایش داد تا شرایطی برای بهبود پاتوژنز NAFLD فراهم شود (۱۱). یافته‌های پژوهش (۱۱) نشان داد که افزایش بیان LXR تحت‌تأثیر تمرین بدنی در کبد رت‌های مبتلا به NAFLD تمرین‌کرده به‌طور معناداری بیشتر از رت‌های مبتلا به NAFLD تمرین‌نکرده بود. آن‌ها پیشنهاد کردند که احتمالاً تمرین ورزشی می‌تواند با فعال کردن بیان LXR سبب بهبود عملکرد سلول‌های کبدی، پروفایل لیپیدی در رت‌های مبتلا به NAFLD شود، اما در مطالعه سانیا^۱ (۲۸) مشاهده شد که آگونیست‌های LXR می‌توانند NAFLD را بهبود بخشند.

در این پژوهش مشاهده کردیم که سطوح رونویسی LXR و ژن پایین‌دست آن، ABCA1، در کبد موش‌های پیش‌دیابتی کاهش پیدا کرد و به‌دنبال تمرین‌های بدنی بیان این دو ژن افزایش یافت. همچنین درصد چربی، استئاتوز و نمره فعالیت بیماری کبد چرب (NAS) که تحت‌تأثیر رژیم غذایی پرچرب افزایش پیدا کرده بودند، به‌دنبال تمرین هوازی کاهش معناداری یافت.

مطالعات نشان داده‌اند که فعال‌سازی LXR اثرات مفیدی بر کنترل اختلالات متابولیک دارد؛ به‌طوری‌که در مدل‌های حیوانی دیابت، تحمل گلوکز را بهبود می‌بخشد و موش‌ها را از چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب محافظت می‌کند (۱۸، ۱۴). در مطالعات مختلفی اثرات مثبت آگونیست‌های ژن LXR (T0901317) و گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی زوم آلفا PPAR α بر مقاومت به انسولین و T2DM گزارش شده است (۳۰، ۲۹). با توجه به این اثرات مفید، LXR به‌عنوان یک هدف دارویی برای کنترل اختلالات متابولیک از جمله دیابت نوع دو شناخته شده است، اما فعال‌شدن LXR و PPAR α از طریق آگونیست‌های مصنوعی، خود به افزایش رونویسی ژن‌های درگیر در تشکیل چربی و لیپوژنز از جمله SREBF1^۳، SCD1^۳، ACC1^۴ و FAS^۵ منجر می‌شود که با عوارض جانبی مانند هایپرلیپیدمی^۶ و استئاتوز کبدی همراه است (۳۱). با کمال تعجب این درمان دارویی استئاتوز و لیپوژنز کبدی را به‌طرز چشمگیری افزایش می‌دهد و به تجمع لیپیدها در سلول‌های چربی منجر می‌شود (۱۷، ۱۶)؛ به همین دلیل در این پژوهش قصد داشتیم اثر تمرین هوازی به‌عنوان یک مداخله غیردارویی را بر بیان LXR و هیستوپاتولوژی کبد چرب در موش‌های پیش‌دیابتی بررسی کنیم. نکته درخور توجه این است که داده‌های این پژوهش نشان دادند تمرین هوازی موجب فعال‌سازی ژن LXR α و ژن پایین‌دست آن، ABCA1، و بهبود نیمرخ لیپیدی در موش‌های پیش‌دیابتی می‌شود. احتمالاً یکی از مکانیسم‌های دخیل در بهبود نیمرخ لیپیدی (افزایش HDL، کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL) که به‌دنبال تمرین‌های استقامتی ایجاد می‌شود، افزایش بیان ژن LXR α است که در هومئوستاز کلسترول و گلوکز نقش مهمی را ایفا می‌کند (۱۵).

LXR با سرکوب بیان آنزیم‌های گلوکونئوزنیک از جمله PEPCK و G6PC2 تولید گلوکز کبدی را مهار می‌کند. همچنین در مطالعات قبلی نشان داده شده است که LXR از طریق افزایش بیان انتقال‌دهنده گلوکز چهار (GLUT4)، میزان جذب گلوکز در بافت‌های محیطی را افزایش می‌دهد و تحمل گلوکز را بهبود می‌بخشد (۳۲). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که بیان PEPCK و G6PC2 تحت تأثیر آگونیست‌های مصنوعی LXR مهار می‌شود (۳۳، ۱۸، ۱۴). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که سطوح رونویسی PEPCK و G6PC2 در کبد موش‌های پیش‌دیابتی تمرین‌کرده به‌طور معناداری از موش‌های تمرین‌نکرده کمتر است. به‌نظر می‌رسد احتمالاً تحت تأثیر تمرین بدنی بیان LXR افزایش می‌کند و به کاهش بیان ژن‌های کلیدی در گلوکونئوزن منجر می‌شود که به‌دنبال آن تولید گلوکز کبدی کاهش

1. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha
2. Sterol Regulatory Element-Binding Transcription Factor 1
3. Stearoyl-CoA Desaturase-1
4. Acetyl CoA Carboxylase
5. Fatty Acid Synthetase
6. Hyperlipidemia

پیدا می‌کند و شرایط پیش‌دیابت بهبود می‌یابد. یکی از شاخص‌های بهبود شرایط پیش‌دیابت، کاهش مقاومت انسولین (HOMA-IR) در موش‌های پیش‌دیابتی تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های تمرین‌نکرده است.

پیام مقاله: پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که فعالیت بدنی می‌تواند به بهبود تحمل گلوکز، مقاومت انسولین، نیمرخ لیپیدی و کاهش آنزیم‌های کبدی در شرایط چاقی و پیش‌دیابت منجر شود، اما تعداد مطالعاتی که تأثیر فعالیت بدنی بر بیان ژن LXRa را در موش‌های پیش‌دیابتی بررسی کرده‌اند، بسیار محدود است. با توجه به اهمیت ژن LXRa و ژن پایین‌دست آن، ABCA1، در هومئوستاز گلوکز و کلسترل، این پژوهش به مطالعه و بررسی بیان این دو ژن توسط فعالیت بدنی پرداخت. همان‌طور که از نتایج مطالعه مشخص است، بیان ژن LXRa و ABCA1 پس از تمرین استقامتی افزایش یافت و نیمرخ لیپیدی به‌طور معناداری بهبود پیدا کرد. همچنین تمرین استقامتی بیان ژن‌های کلیدی گلوکونئوزینیک PEPCK و G6PC2 و تولید گلوکز کبدی را کاهش داد. از طرفی در مطالعات اخیر نگاه درمانی ویژه‌ای به ژن LXRa به‌عنوان یک ژن هدف در درمان اختلالات متابولیک از جمله دیابت وجود دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که انجام دادن فعالیت بدنی همانند آگونیست‌های مصنوعی LXR موجب فعال‌سازی این ژن می‌شود؛ درحالی‌که عوارض جانبی آگونیست‌های مصنوعی LXR از جمله افزایش چربی کبدی و استئاتوز کبدی را به‌دنبال نخواهد داشت.

تشکر و قدردانی

از همه کسانی که پژوهشگران را در انجام این طرح حمایت کردند، به‌ویژه پژوهشگران پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان، تشکر و قدردانی می‌شود. شایان ذکر است که این طرح با حمایت مالی دانشگاه اصفهان و بنیاد ملی نخبگان انجام شده است.

منابع

1. Attie AD, Scherer PE. Adipocyte metabolism and obesity. *Journal of Lipid Research*. 2009;50(Supplement):395-9.
2. Verma S, Hussain ME. Obesity and diabetes: an update. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2017;11(1):73-9.
3. Venables MC, Jeukendrup AE. Physical inactivity and obesity: links with insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2009;25(S1):18-23.
4. Garber A, Handelsman Y, Einhorn D, Bergman D, Bloomgarden Z, Fonseca V, et al. Diagnosis and management of prediabetes in the continuum of hyperglycemia—when do the risks of diabetes begin? A consensus statement from the American College of

- Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists. *Endocrine Practice*. 2008;14(7):933-46.
5. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37(Supplement 1):81-90.
 6. Schindhelm RK, Diamant M, Dekker JM, Tushuizen ME, Teerlink T, Heine RJ. Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2006;22(6):437-43.
 7. Hoseini Kakhk SA, Khaleghzadeh H, Nematy M, Hamedinia MR. The effect of combined aerobic- resistance training on lipid profile and liver enzymes in patients with non-alcoholic fatty liver under nutrition diet. *Sport Physiology*. 2015;7(27):65-84. (In Persian).
 8. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2001;50(8):1844-50.
 9. Dixon JB, Bhathal PS, O'brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001;121(1):91-100.
 10. Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Finch J, Chang Z, Kochunov VG, et al. Prevalence of prediabetes and diabetes and metabolic profile of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetes Care*. 2012;35(4):873-8.
 11. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z, Naghizadeh M, Salehi G. Effects of resveratrol, exercises and their combination on Farnesoid X receptor, Liver X receptor and Sirtuin 1 gene expression and apoptosis in the liver of elderly rats with nonalcoholic fatty liver. *PeerJ*. 2018;6:5522.
 12. Yang G, Li C, Gong Y, Fang F, Tian H, Li J, et al. Assessment of insulin resistance in subjects with normal glucose tolerance, hyperinsulinemia with normal blood glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and newly diagnosed type 2 diabetes (prediabetes insulin resistance research). *Journal of Diabetes Research*. 2016; 2016: 1-11.
 13. Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovascular Diabetology*. 2011;10(1):12.1-15.
 14. Laffitte BA, Chao LC, Li J, Walczak R, Hummasti S, Joseph SB, et al. Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(9):5419-24.
 15. Kazeminasab F, Marandi M, Ghaedi K, Esfarjani F, Moshtaghian J. Endurance training enhances LXR α gene expression in Wistar male rats. *European Journal of Applied Physiology*. 2013;113(9):2285-90.
 16. Gao M, Liu D. The liver X receptor agonist T0901317 protects mice from high fat diet-induced obesity and insulin resistance. *The AAPS Journal*. 2013;15(1):258-66.
 17. Chisholm JW, Hong J, Mills SA, Lawn RM. The LXR ligand T0901317 induces severe lipogenesis in the db/db diabetic mouse. *Journal of Lipid Research*. 2003;44(11): 2039-48.

18. Cao G, Liang Y, Broderick CL, Oldham BA, Beyer TP, Schmidt RJ, et al. Antidiabetic action of a liver x receptor agonist mediated by inhibition of hepatic gluconeogenesis. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(2):1131-6.
19. Efanov AM, Sewing S, Bokvist K, Gromada J. Liver X receptor activation stimulates insulin secretion via modulation of glucose and lipid metabolism in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 2004;53(3):75-8.
20. Bagnol D, Al-Shamma HA, Behan D, Whelan K, Grottick AJ. Diet-induced models of obesity (DIO) in rodents. *Current Protocols in Neuroscience*. 2012;59(1):1-9.
21. Asare-Bediako B, Noothi SK, Li Calzi S, Athmanathan B, Vieira CP, Adu-Agyeiwaah Y, et al. Characterizing the Retinal Phenotype in the High-Fat Diet and Western Diet Mouse Models of Prediabetes. *Cells*. 2020;9(2):464. 1-18.
22. Kazeminasab F, Marandi SM, Ghaedi K, Safaeinejad Z, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. A comparative study on the effects of high-fat diet and endurance training on the PGC-1 α -FNDC5/irisin pathway in obese and nonobese male C57BL/6 mice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2018;43(7):651-62.
23. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu F-K, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1993;265(6):2094-8.
24. Kazeminasab F, Marandi SM, Ghaedi K, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. The Effect of Endurance Training and High-Fat Diet on PGC-1 α /FNDC5/Irisin Pathway in Male C57BL/6 Mice. *Sport Physiology*. 2019;11(41):63-80. (In Persian).
25. Kim M-K, Chae YN, Son MH, Kim SH, Kim JK, Moon HS, et al. PAR-5359, a well-balanced PPAR α / γ dual agonist, exhibits equivalent antidiabetic and hypolipidemic activities in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmacology*. 2008;595(1-3):119-25.
26. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41(6):1313-21.
27. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *The American Journal of Gastroenterology*. 1999;94(9):2467-74.
28. Sanyal AJ. Use of farnesoid X receptor agonists to treat nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive Diseases*. 2015;33(3):426-32.
29. Kratzer A, Buchebner M, Pfeifer T, Becker TM, Uray G, Miyazaki M, et al. Synthetic LXR agonist attenuates plaque formation in apoE $^{-/-}$ mice without inducing liver steatosis and hypertriglyceridemia. *Journal of Lipid Research*. 2009;50(2):312-26.
30. Fernandez-Veledo S, Nieto-Vazquez I, Rondinone C, Lorenzo M. Liver X receptor agonists ameliorate TNF α -induced insulin resistance in murine brown adipocytes by downregulating protein tyrosine phosphatase-1B gene expression. *Diabetologia*. 2006;49(12):3038-48.
31. Ebrahimi M, Fathi R, Ansari Pirsaraei Z, Talebi Garakani E. Relative Gene Expression of Key Genes Involved in Lipid Metabolism, Following High Fat Diet and Moderate and High Intensity Aerobic Training in Rat's Liver. *Sport Physiology*. 2016;9(34):201-16. (In Persian).

32. Steffensen K, Jan-Åke K. Liver X receptors: new drug targets to treat Type 2 diabetes? *Future Lipidology*. 2006;1(2):181-9.
33. Kase ET, Wensaas AJ, Aas V, Højlund K, Levin K, Thoresen GH, et al. Skeletal muscle lipid accumulation in type 2 diabetes may involve the liver X receptor pathway. *Diabetes*. 2005;54(4):1108-15.

استناد به مقاله

کازمی‌نسب فاطمه، مرندی سیدمحمد، شیرخانی سمانه، شیخانپور آرزو، قاندى کامران. تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های LXRa، PEPCK و G6PC2 در کبد موش‌های چاق پیش‌دیابتی. فیزیولوژی ورزشی. زمستان ۱۳۹۹؛ ۱۲(۴۸): ۳۸-۱۷. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2020.8717.2014

Kazeminasab F, Marandi S. M, 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*. Winter 2021; 12 (48): 17-38. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2020.8717.2014

The Effect of 8 Weeks Aerobic Exercise on LXRa, PEPCK, and G6PC2 mRNA in Obese Prediabetic Mice

F. Kazeminasab¹, S. M. Marandi², S. Shirkhani³, A. Sheikhanian Poor⁴, K. Ghaedi⁵

1. Assistant Professor of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, University of Kashan, Kashan, Iran (Corresponding Author)

2. Professor of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3,4. M.Sc. of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

5. Professor of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received: 2020/04/10

Accepted: 2020/08/09

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of 8 weeks' aerobic exercise on the expression of LXRa, PEPCK and G6PC2 mRNA in the liver tissue of obese prediabetic mice. 18 male C57BL/6 mice were divided into two groups: 1. Mice fed a high-fat diet (prediabetic obese mice) (n=12), 2. Mice fed a standard diet (non-obese mice) (n= 6). Prediabetic conditions were confirmed by glucose tolerance test (GTT). Then, prediabetic mice were randomly divided into two groups: the high-fat Diet-Exercised (HFD-Exe) and the high-fat diet-Sedentary (HFD-Sed). Exercise group were trained on a motor-driven treadmill at 21 m/min, 45 min/day, 5 days/week for 8 weeks. Mice were sacrificed 24 hours after last exercise session and blood was taken from the heart. The liver tissue was isolated and frozen to measure of LXRa and ABCA1 expression levels and was kept at -70°C. Data indicated that the levels of liver LXRa and ABCA1 in trained mice were significantly higher than in untrained mice. The relative expression of key genes in gluconeogenesis, including G6PC2 and PEPCK in the liver of trained mice, was significantly reduced compared to untrained group. Also, aerobic exercise reduced steatosis and the liver enzymes in prediabetic mice. Following physical exercise, the expression of LXRa and ABCA1 mRNA expression in the liver of mice increases and protects mice from high-fat diet induced obesity and reduces the risk of NAFLD.

Keywords: Aerobic Exercise, High-Fat Diet, LXRa mRNA, Prediabetes, NAFLD.

1. Email: f_kazemi85@yahoo.com, fkazeminasab@kashanu.ac.ir

2. Email: smmarandi2001@yahoo.com

3. Email: samane7249@yahoo.com

4. Email: arezoosheikhanian@gmail.com

5. Email: kamranghaedi@yahoo.com