

## تأثیر پنج هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژنهای RXFP1 و CTGF بافت قلبی و آنزیم کبدی SGPT در رت‌های ویستار نر مبتلا به کبد چرب

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱

### خلاصه

**مقدمه:** در سالهای اخیر مطالعاتی در مورد ارتباط کبد چرب و آترواسکلروزیس انجام شده است که نتایج این مطالعات، حاکی از ارتباط کبد چرب غیرالکلی با آترواسکلروزیس عروق کرونری می‌باشد. کبد چرب با افزایش خطر بیماریهای قلبی-عروقی همراهی دارد. افزایش در ضخامت لایه اینتیمیا مدیا شریان کاروتید و تنگی شریان کاروتید مشترک ثانویه به پلاکهای کاروتید، نشانگرهای آترواسکلروزیس هستند. هدف از این مطالعه اثر تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر بیان ژنهای قلبی ۱ RXFP1 و CTGF رت‌های نر مبتلا به کبد چرب مدل استاتوزیس بود.

**روش کار:** ۴۸ سر رت نر ویستار با وزن 230 - 300 گرم در ۶ گروه پایه سالم (BH)، گروه پایه مدل شده (استاتوزیس) (BS)، گروه HIIT سالم (HIIT)، گروه HIIT مدل شده (استاتوزیس) (SHIIT)، گروه کنترل سالم (CH)، گروه کنترل مدل شده (استاتوزیس) (CS) به صورت تصادفی تقسیم شدند. موشهای گروه کبد چرب به مدت دو هفته، روزانه، تتراسایکلین خوراکی دریافت کردند. رت‌های گروه‌های تمرینی نیز به مدت ۵ هفته/پنج روز تمرین داده شدند. دو گروه BS و BH در پایان هفته دوم قربانی شدند و گروههای تمرینی و گروه CS در پایان هفته ۵ قربانی شده و نمونه بافت قلب جهت بررسی بیان ژنهای SGPT، RXFP1 و CTGF گرفته شد.

**نتایج:** میزان SGPT در گروههای BS و CS بطور معناداری نسبت به ۴ گروه دیگر بالاتر بود. سطح این آنزیم در گروههای HIIT و SHIIT نسبت به گروههای کبد چرب کاهش معناداری داشت. میزان بیان ژن RXFP1 در گروههای BS، CS و SHIIT بطور معناداری نسبت به ۳ گروه دیگر بالاتر بود. اما سطح RXFP1 در گروه HIIT بطور معناداری کمتر از BS و CS بود. CTGF در گروه CS بطور معناداری بیشتر از ۵ گروه دیگر بود. هر دو گروه تمرین نسبت به گروههای کبد چرب میزان CTGF کمتری داشتند. سطح CTGF در گروه HIIT نیز بطور معناداری کمتر از گروه SHIIT بود.

**نتیجه گیری:** کبد چرب فاکتورهای فیروز قلب را افزایش داد ولی HIIT توانست با کاهش این عوامل روند فیروز قلبی ناشی از استاتوز کبدی را مهار کند. بنابراین استفاده از تمرین HIIT می‌تواند به عنوان روش جدیدی جهت بازتوانی قلبی بیماران مورد استفاده قرار گیرد.

**کلمات کلیدی:** تمرینات شدید تناوبی، RXFP1، CTGF، کبد چرب

**پی نوشت:** این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مسعود حمزه لوی<sup>۱</sup>

مانیا روزبایانی\*<sup>۲</sup>

حسین شیروانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران  
<sup>۲</sup> استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> دانشیار فیزیولوژی ورزش، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیة الله (عج)، تهران، ایران

Email: roozbayanimania249@gmail.com

## مقدمه

انجام فعالیت‌های بدنی و داشتن آمادگی جسمانی مناسب یکی از ضروری‌ترین نیازهای زندگی افراد مبتلا به کبد چرب است. در سال‌های اخیر مطالعاتی در مورد ارتباط کبد چرب و آترواسکلروزیس انجام شده است که نتایج این مطالعات، حاکی از ارتباط کبد چرب غیرالکلی با آترواسکلروزیس عروق کرونری می‌باشد. بیماری کبد چرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver disease) بیماری مرتبط با شیوه زندگی بدون فعالیت و عادات تغذیه ای نادرست در سراسر جهان است این بیماری از طریق سطوح افزایش یافته تری گلیسرید، آنزیم‌های کبدی، برخی بیومارکرهای التهابی و میزان استئاتوز کبدی توصیف می‌شود. (۲) بروز استئاتوز به صورت غیرخطی با BMI ارتباط مثبت و مستقیم دارد. افزایش هر پنج واحد در نمایه توده بدنی خطر ابتلا به استئاتوز کبدی را به بیش از چهار برابر افزایش می‌دهد (۱۶) بیماری کبد چرب غیرالکلی شامل طیف گسترده‌ای از اختلالات کبدی از استئاتوز ساده تا فیروز و سیروز کبدی می‌باشد که در صورت عدم درمان، می‌تواند نهایتاً به سرطان سلولهای کبدی و مرگ منجر شود. کبد چرب غیرالکلی می‌تواند خطر مرگ ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی را افزایش دهد.

کبد چرب با افزایش غلظت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) سرم همراه است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بهترین شاخصها برای ارزیابی وضعیت کبد، آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز AST، آلانین آمینو ترانسفراز ALT می‌باشد (Villegas et al., 2011). ALT یا SGPT آنزیمی است که بیشتر در یاخته‌های کبد و کلیه یافت می‌شود؛ مقادیر بسیار

کمتر آن نیز در قلب و عضلات پیدا می‌شود. در افراد سالم، سطح ALT در خون پایین است. زمانی که کبد آسیب دیده است، معمولاً قبل از آن که علائم بارزتر آسیب کبدی مانند زردی رخ دهد، ALT داخل جریان خون آزاد می‌شود. (۶) ALT غالباً در کبد یافت می‌شود و بنابراین برای آسیب کبدی اختصاصی تر است (۴). و نیمه عمر SGPT از SGOT بیشتر است (۶). در مطالعات Sookoian در آرژانتین و Karakurt و همکاران در ترکیه، در افراد مبتلا به کبد چرب غیرالکلی نسبت به افراد سالم، ضخامت آنتیما-مدیا افزایش یافته و پلاکهای آترواسکلروتیک در عروق کاروتید داشتند (۴) در مطالعه ای نشان داده شد که بیماری کبد چرب می‌تواند در ایجاد تغییرات آترواسکلروتیک عروق و افزایش ضخامت انتیمامدیای شریان کاروتید به عنوان یک شاخص آترواسکلروز تأثیر داشته باشد که این مسأله حتی در درجات خفیف کبد چرب نیز قابل مشاهده می‌باشد. (۵) CTGF یکی از اعضای پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی (ECM) است که به اختصار Ccn2 هم نامیده می‌شود. Ccn ها کنترل اعمال مهم بیولوژیکی را به عهده دارند از جمله: تکثیر سلولی، تمایز، چسبندگی و آنژیوژنز و همچنین چندین فرآیند پاتولوژیک مانند رشد تومور و فیروز بافت (۱). CTGF یک پروتئین ترشحی است که به عنوان یک محرک قدرتمند سنتز ماتریکس خارج سلولی (ECM) (۱۶) و همچنین به عنوان یک واسطه مهم فیروز قلب (۱۷) شناخته شده است. فیروز قلب یک مشکل بزرگ جهانی است که با گزینه‌های درمان محدود CTGF در فیروبلست‌های قلبی و کاردیومیوسیتها بیان می‌شود (۷). CTGF در کبد عمدتاً توسط سلولهای کبدی سنتز می‌شود

نشان داده اند که رلاکسین می تواند نقش مهمی در گردش خون از طریق کبد در سطح سینوسی داشته باشد که از اهمیت ویژه ای در کبد فیرووتیک برخوردار است. (۱۴)

تصور می شود که اثرات ضد فیرووتیک رلاکسین ناشی از مهار عملکرد TGF- $\beta$  است. (۳۴۹، ۴۴۳، ۵۳۹، ۵۴۲).

(ریلکسینها)

فعالیت ورزشی می تواند به واسطه فعالسازی مسیر AMPK اکسیداسیون لیپیدها را تحریک و سنتز لیپیدها را در درون کبد مهار کند (۲۶) هنگام فعالیت ورزشی، AMPK فعال میشود و فعالیت آن بعد از اتمام فعالیت ورزشی در عضله، کبد و بافت چربی باقی می ماند. (۲۶). در تحقیقی، روی بیماران دارای کبد چرب بعد از یک دوره تمرین استقامتی، مقادیر ALT, AST در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در بیماران دارای کبد چرب کاهش نشان داد (۴) رویز و همکاران (۲۰۱۴) به این نتیجه رسیدند که فعالیت ملایم تا شدید با مدت ۲۴ دقیقه در روز افزایش معنی داری در AST و نسبت ALT/AST نشان می دهد (۱۳). شلی و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند ورزش، چه هوازی و چه مقاومتی، تأثیر مثبتی بر چربی کبد دارد، ولی ورزش کردن به تنهایی، بر میزان ALT تأثیری ندارد (۱۴). اوی و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی درباره موشها دریافتند ورزش کردن منظم از طریق بهبود متابولیسم لیپیدهای کبدی، از بیماری کبد چرب جلوگیری می کند (۱۵). در مطالعه ای تأثیر پنج هفته تمرینات شدید تناوبی بر بیان ژن های miR-29a و CTGF بافت قلبی رت های دیابتی انجام شده بود نتایج نشان داد که تمرینات تناوبی شدید کاهش معنی داری را در میزان CTGF در هر دو گروه تجربی نسبت به گروه کنترل داشت (۱۵). پروپوزال در موشهای صحرائی ویستار و SHR، ورزش منجر به واکنشهای سازگاری قلبی شد که در نهایت

و به شدت در فیروز کبد القا می شود (۱۱) CTGF توسط سلولهای TGF- $\beta$  فیروبلستی القاء شده و میانجی رشد و ترشح ماتریکس خارج سلولی می باشد. این نتایج نشان می دهد که CTGF میانجی بسیاری از فعالیت های پروفیرووتیک TGF- $\beta$  می باشد. (۱۸ و ۲۰)

خانواده پپتیدهای RXFP نشان دادند که شباهت پیچیده ای بین آن ها و انسولین فراخور نقش Relaxin در تولید مثل در قلب نیز نقش هایی را ایفا می کند. Relaxin در سیستم قلب و عروق سیستم های عروقی را هدف قرار می دهد، هم چنین دارای اثرات قدرتمند سیگنالینگ در بند ناف انسان و سلول ورید عضلانی صاف را دارد. اثرات ویژه Relaxin در همه نواحی بدن می تواند بیان های مختلفی از گیرنده RXFP1 را در شریان های مختلف داشته باشد، از این رو در موش های صحرائی این گیرنده به شدت در سلول های آندوتلیال آئورت بیان می شود و از سویی RXFP1 دلیل فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ cAMP، cGMP و ERK1/2، در سلول های آندوتلیال می باشد (۶). و طیف وسیعی از مسیرهایی سیگنالینگ برای تولید پیام رسان های ثانویه شامل cAMP و نیتریک اکساید را فعال می کند. (چکیده مقاله ریلکسینها) از آنجا که RXFP1 از اجزای ماتریکس خارج سلولی است می تواند در مهار فیروز نیز نقش داشته باشد. فیروز شامل فرایندهای بیولوژیکی پیچیده و تا حدودی برگشت ناپذیر است (۲) ویژگی آن رسوب اجزای ماتریکس خارج سلولی به ویژه کلاژن به صورت غیرنرمال و افزایشی است. یکی از اثرات RXFP1 این است که مانع از تکثیر و تمایز فیروبلاست ها است که باعث می شوند کلاژن در ECM رسوب و فیروز در قلب و دیگر اندام ها به وجود آید و به نظر می رسد Relaxin نقش محافظتی برای حفاظت از سیستم قلبی عروقی دارد (۱۱). در کل محققان

و مهار فیروز قلبی و اینکه تا کنون مطالعات بسیار محدودی در ارتباط با تأثیر کبد چرب بر بیان CTGF و RXFP1 بافت قلب انجام شده است، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر پنج هفته تمرین شدید تناوبی HIIT روی فاکتورهای قلبی RXFP1 و CTGF که به ترتیب باعث مهار فیروز و ایجاد فیروز قلبی می‌شوند و میزان آنزیم کبدی SGPT در رت‌های نرانجام شده است.

### روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود که روی مدل حیوانی اجرا شد. جامعه آماری شامل رت‌های نر ویستار بودند و نمونه تحقیق شامل ۴۸ سر رت با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم بود که به صورت تصادفی به ۶ گروه به شرح زیر دسته بندی شدند. ۱- گروه پایه سالم (BH) ۲- گروه پایه مدل شده (استئاتوزیس) (BS) ۳- گروه HIIT سالم (HIIT) ۴- گروه HIIT مدل شده (استئاتوزیس) (SHIIT) ۵- گروه کنترل سالم (CH) ۶- گروه کنترل مدل شده (استئاتوزیس) (CS)

کد اخلاق: IR.SSRC.REC.1400.036

### پروتکل تمرینی

رت‌های گروه‌های تمرینی قبل از شروع پروتکل اصلی به منظور آشنایی با تردمیل، به مدت پنج روز و هر روز پنج دقیقه، تمرین داده شدند. از تردمیل تمام خود کار برای کنترل زمان تمرین و استراحت استفاده شد. برنامه تمرین از قبل به دستگاه داده شد.

### جدول ۱. پروتکل تمرین HIIT

تنابوب	تنابوب سریع	گرم کردن	هفته های تمرین
آهسته	( ۵ تنابوب ۲ )	( ۵ دقیقه )	۵
سرد کردن)	۱ ( ۵ تنابوب )	۵ دقیقه (ای)	۵
m/min	m/min	m/min	
m/min	m/min		

بیان ژنهای ناسازگار CTGF، TGF- $\beta$ 1 و FGF2 را کاهش داد (۲۵). در مطالعات محدودی که روی RXFP1 انجام شده است. 2004 kruger و Heringlake ۲۰۰۹، با انجام تمرین روی بیماران قلبی تغییری در میزان RXFP1 مشاهده نکردند.

HIIT ابزاری کارآمد و کلینیکی برای بهبود تناسب هوازی در افراد سالم است (۴۵) و نحوه انجام آن شامل دوره های کوتاه مدت تمرین با شدت بالا و دوره های با شدت کمتر و استراحت می‌شود که به طور متناوب تکرار می‌شود (۴۶) یکی از مزایای HIIT آن است که وقت گیر نیست. در حالی که نتایج و مقایسه های سودمند و مفید ارائه می‌کند. لذا تمرینات با مدت زمان کوتاه یک ابزاری است که میتواند با پروتکل های تمرینی همراه باشد تا روند زمان سازگاری به تمرین را در افراد تمرین ندیده بهبود دهد (۱۳). طبق گزارشات ارائه شده اگر چه در ورزش با شدت بالا نسبت به ورزش با شدت متوسط جریان خون تندتر است ولی سرعت جذب اکسیژن کندتر نمی‌شود (۱۴). همچنین HIIT محرکی قوی برای افزایش آنزیم مسیرهای متابولیکی میتوکندری بوده و ظرفیت بافری عضله، میزان اکسیداتیو چربی کل بدن و ظرفیت هوازی را افزایش می‌دهد (۱۳). با وجود آنکه می‌یر و همکاران (۲۰۱۳) در بیماران دارای نارسایی قلبی که ظرفیت انقباضی عضله قلبی آنها به ویژه در بطن چپ به میزان زیادی کاهش می‌یابد استفاده از تمرینات تناوبی با شدت بالا را پیشنهاد می‌کند و آن را در ارتقاء ظرفیت هوازی بسیار موثرتر می‌دانند. (۱۷) (پروپوزال) ولی هنوز در زمینه کاربرد و تاثیرات تمرینات با شدت بالا برای بیماران قلبی تناقض هایی وجود دارد. لذا با توجه به اهمیت و ضرورت مهار فیروز قلبی که می‌تواند تحت تأثیر مدل کبد چرب ایجاد شده باشد و لزوم شناخت عوامل موثر بر ایجاد

۱. RNA کل از سلول های جمع آوری شده در هر گروه استخراج می شد.

۲. با استفاده از آنزیم کپی برداری معکوس به cDNA تبدیل می شد.

۳. cDNA حاصل جهت حذف DNA ژنومی با آنزیم DNase I تیمار می شد.

۴. به روش Real time PCR تکثیر می گردید.

اولین و مهم ترین مسئله در هنگام کار با RNA، دقت در جلوگیری از آلودگی با RNase است. آنزیم RNase، نوکلنازی است که در هنگام پاره شدن سلول ها در بافت خارج می شود و روی سطح پوست و درون مایعاتی همچون عرق و بزاق، به فراوانی موجود است. از طرفی، RNase به دلیل دارا بودن باند های دی سولفیدی درون زنجیره ای، در مقابل جوشاندن طولانی و دناوراسیون ملایم به شدت مقاوم است.

بنابراین بهترین راه جهت جلوگیری از بروز مشکل، اجتناب از آلودگی ظروف شیشه ای، لوله ها و سطوح، با این آنزیم است. دقت در ساخت و استفاده از بافرها و پیپتورها نیز یکی از راه های جلوگیری از بروز مشکل می باشد. در صورت آلودگی بافرها با میکروارگانیزم، تنها راه، تعویض بافر است، زیرا RNase با اتوکلاو کردن از بین نمی رود.

۱. تمامی ظروف و پیپت های مورد استفاده به ترتیب زیر عاری از آنزیم RNase شدند: ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محلول ۰/۱ درصد DEPC قرار داده شدند تا DEPC از بین برود. وجود DEPC می تواند مانعی در روند بررسی و تجزیه و تحلیل RNA ایجاد کند. از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کپازول، RNA کل سلول ها طبق پروتکل سیناژن استخراج شد و جهت اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در

هفته اول	۴	۱۰	۱۶-۲۴	۴
هفته دوم	۶	۱۲	۲۶-۳۴	۶
هفته سوم	۸	۱۴	۳۶-۴۴	۸
هفته چهارم	۱۰	۱۶	۴۶-۵۴	۱۰
هفته پنجم	۱۲	۱۸	۵۶-۶۴	۱۲

تعداد جلسات تمرین ۵ جلسه در هفته بود.

شیب دستگاه در تمرین صفر درجه و سرعت برحسب متر بر دقیقه (معیار شدت تمرین) تنظیم شد. زمان کل تمرین در هر جلسه ۲۵ دقیقه بود. پروتکل تمرین تناوبی شدید اصلاح شده برنامه تمرینی ملکی جویباری و همکاران (۲۰۱۸) می باشد.

### ایجاد مدل کبد چرب (استانوزیس):

تراسایکلین با دوز 100 mg/kg در حجم 1.5 cc به ازای هر موش روزانه به مدت دو هفته گاوژ شد. وزن موش ها به صورت میانگین 300 gr بود که 100 mg به ازای 1 kg برای ۳ موش استفاده شد، که 100 mg در مقدار 4.5 cc حل و به هر موش 1.5 cc گاوژ شد. در ابتدای مطالعه گروه کنترل قربانی شدند و بافت برداری از آنها صورت گرفت. در ادامه و در پایان هفته دوم دو گروه دیگر رت ها قربانی شدند و گروه های نیز پس از ۵ هفته قربانی شدند. سپس نمونه بافت قلب جهت بررسی بیان ژن های SGPT، RXFP1 و نمونه سرم خون جهت بررسی آنزیم CTGF گرفته شد.

در هر گروه بررسی بافت ها با تکنیک Real Time PCR انجام شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. این تکنیک دارای ۴ مرحله اساسی بود.

میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta\text{CT}_{\text{target}}}}{(E_{\text{reference}})^{\Delta\text{CT}_{\text{reference}}}}$$

$$\begin{aligned} (\Delta\text{CT}_{\text{reference}} = \text{Ct}_{\text{control}} - \text{Ct}_{\text{treatment}}) \Delta\text{CT}_{\text{target}} \\ = \text{Ct}_{\text{control}} - \text{Ct}_{\text{treatment}} \end{aligned}$$

در فرمول فوق E معرف Efficiency است و با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای ژن به دست می‌آید.

### روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد و جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و جهت بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. هم‌چنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هریک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک‌راهه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی Tukey جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معناداری برای تمام محاسبات  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

با بررسی گروه‌ها از طریق آزمون Anova (جدول شماره ۲)، نتایج ستون Sig نشان می‌دهد که بین میانگین گروه‌های تحقیق در هر سه متغیر SGPT، RXFP1 و CTGF تفاوت معنادار است.

معرض DNase I (Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNA‌های استخراج شده با دستگاه اسپکتروفتومتری (-DPI, Kiagen 1) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تهیه cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligo dt (MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از Applied Biosystems (PCR master mix) و SYBER Green (Applied Biosystems, Sequences Detection Systems, Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ۵۸-۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت.

نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول

$$\begin{aligned} R &= 2^{-(\Delta\Delta\text{CT})} \\ \Delta\Delta\text{CT} &= (\text{CT}_{\text{target}} - \text{CT}_{\text{reference}})_{\text{Time X}} \\ &\quad - (\text{CT}_{\text{target}} - \text{CT}_{\text{reference}})_{\text{Time 0}} \end{aligned}$$

منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن با استفاده از حداقل ۵ غلظت لگاریتمی به ترتیب رقیق شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم گردید.

جدول ۲- جدول تفاوت معنی‌داری آماری آزمون تعقیبی توکی

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
RXFP1	Between Groups	682.420	5	136.484	197.035	.000
	Within Groups	29.093	42	.693		

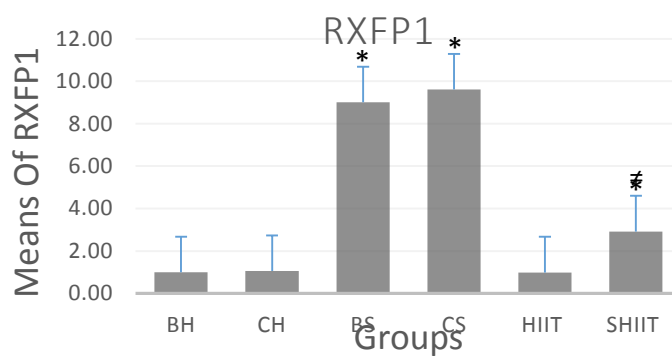
	Total	711.513	47			
CTGF	Between Groups	657.208	5	131.442	75.902	.000
	Within Groups	72.732	42	1.732		
	Total	729.940	47			
SGPT	Between Groups	52759.234	5	10551.847	27.521	.000
	Within Groups	16103.344	42	383.413		
	Total	68862.578	47			

BH,CH و HIIT بود. سطح RXFP1 در گروه های تمرین نیز متفاوت بود و در گروه HIIT بطور معناداری کمتر بود. همچنین موشهای گروه SHIIT نسبت به دو گروه دیگر کبد چرب تمرین نکرده بطور معناداری RXFP1 کمتری داشتند. CTGF در گروه CS بطور معناداری بیشتر از ۵ گروه دیگر بود. بین گروههای BH,CH و HIIT اختلافی وجود نداشت ولی هر دو گروه تمرین نسبت به گروههای کبد چرب (CS و BS) میزان CTGF کمتری داشتند. سطح CTGF در گروه HIIT نیز بطور معناداری کمتر از گروه SHIIT بود.

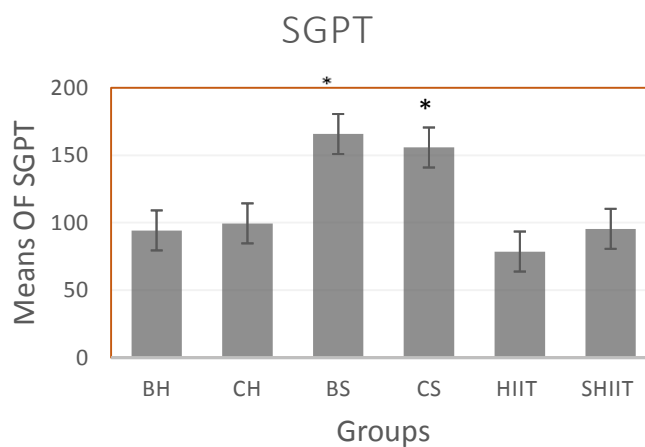
در ادامه نتایج آزمون توکی برای مقایسه میانگین های گروهها نشان داد که میزان آنزیم کبدی SGPT در گروههای BH و CH تفاوتی نداشت ولی این میزان در گروههای BS و CS بطور معناداری نسبت به ۴ گروه دیگر بالاتر بود. سطح این آنزیم در گروههای HIIT و SHIIT نسبت به گروههای کبد چرب کاهش معناداری داشت یعنی تمرین باعث کاهش سطح آنزیم کبدی SGPT گردید. میزان بیان ژن RXFP1 در گروههای BS,CS و SHIIT بطور معناداری نسبت به ۳ گروه دیگر بالاتر بود این میزان در گروههای BS و CS حدود ۹ برابر بیشتر از گروههای

متغیر	تعداد	گروه	میانگین
RXFP1	۸	BH	۱/۰۰ ± ۰/۴۶
	۸	CH	۱/۰۶ ± ۰/۴۱
	۸	BS	۹/۰۱ ± ۱
	۸	CS	۹/61 ± 1/2۱
	۸	HIIT	0/99 ± 0/42
CTGF	۸	SHIIT	2/92 ± ۱/07
	۸	BH	۱/۰۰ ± ۰/۳۸
	۸	CH	۱/۰۸ ± ۰/۴۲
	۸	BS	۷/۸۸ ± ۱/۴۰
	۸	CS	10/07 ± 2/31
SGPT	۸	HIIT	0/45 ± 0/26
	۸	SHIIT	3/86 ± ۱/62
	۸	BH	۵/۷۷ ± 94/25

۹۹/۵ ± ۹/۷۹	CH	۸
۱۶۵/۷۸ ± ۲۵	BS	۸
۱۵۵/۷۸ ± ۳۱/۰۸	CS	۸
۷۸/۶۲ ± ۱۵/۸۵	HIIT	۸
۹۵/۴۳ ± ۱۸/۰۳	SHIIT	۸

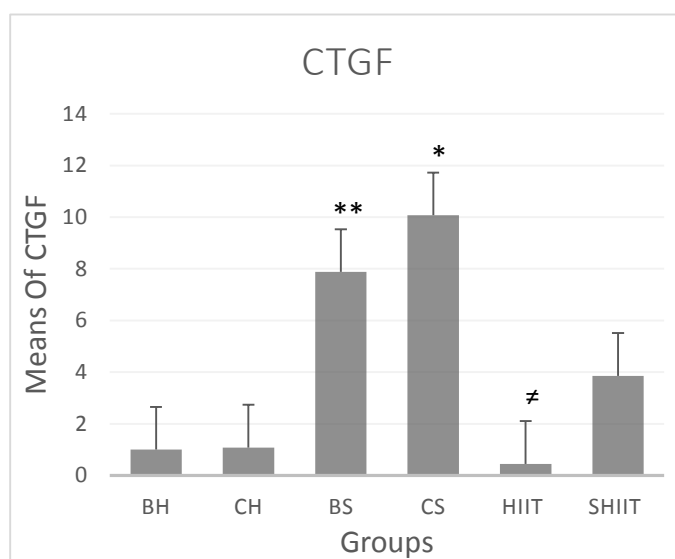


شکل ۱- نتایج بررسی و مقایسه میزان تغییرات ژن RXFP1 در گروه های مختلف با آزمون توکی



شکل ۲- نتایج بررسی و مقایسه میزان تغییرات ژن CTGF در گروه های مختلف با آزمون توکی





شکل ۳- نتایج بررسی و مقایسه میزان آنزیم کبدی SGPT در گروه های مختلف با آزمون توکی

## بحث

تحریک و سنتز لیپیدها را در درون کبد مهار کند، که این اعمال به واسطه فعالسازی مسیر AMPK انجام میشود. این آنزیم با افزایش نسبت AMP به ATP در بافتها تحریک و فعال میشود، که این افزایش نسبت، نتیجه محرک فیزیولوژیکی فعالیت ورزشی است (۲۶) هنگام فعالیت ورزشی، AMPK فعال میشود و فعالیت آن بعد از اتمام فعالیت ورزشی در عضله، کبد و بافت چربی باقی میماند (۲۶).

از طرفی یافته های ما نشان داد که با القای استئاتوزیس کبدی، فاکتور رشد بافت همبند (CTGF) در بافت قلب به شدت افزایش یافت به طوریکه میزان آن در دو هفته اول نسبت به گروه کنترل تا ۷ برابر افزایش یافت و این افزایش ادامه داشت تا در پایان هفته پنجم به ۱۰ برابر رسید. از طرفی میزان CTGF در گروه HIIT پس از ۵ هفته تمرین از همه گروهها کمتر بود ولی فقط نسبت به گروههای BS,CS و SHIIT معنادار بود. همچنین ۵ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در موشهای کبد چرب استئاتوزیس به طور معناداری موجب کاهش CTGF، که عامل فیبروز می باشد، نسبت به نمونه های کبد چرب تمرین نکرده شد ولی این مقدار هنوز

یافته های ما نشان داد که با ایجاد کبد چرب استئاتوزیس میزان آنزیم کبدی SGPT در موشها افزایش می یابد. در حالیکه میزان این آنزیم ها در گروههای دیگر در حد نرمال بود. همچنین یافته ها نشان داد که در گروه SHIIT یعنی گروهی که کبد چرب داشته و تمرین HIIT انجام دادند میزان این آنزیم در حد نرمال بود. افزایش آنزیمهای کبدی SGPT, SGOT نشانه تخریب سلول کبدی است. ولی SGPT غالباً برای آسیب کبدی اختصاصی تر است (۴). بنابراین افزایش آنزیم SGPT در این تحقیق نشان از آسیب کبدی می باشد که انجام ۵ هفته تمرینات HIIT توانست این آسیب را کنترل نماید. این نتایج با نتایج تحقیقات (۱۵- پروپوزال) Wang 2019 و yang 2020 همسو بود و با نتایج هوانلو و همکاران (۱۳۹۰) و حدادی (۱۳۹۱) و شلی و همکاران (۲۰۱۲) و Guo-qiang ۲۰۱۹ تفاوت داشت.

در افراد سالم، سطح SGPT در خون پایین است. زمانی که کبد آسیب دیده است، معمولاً قبل از آن که علائم بارزتر آسیب کبدی مانند زردی رخ دهد، SGPT داخل جریان خون آزاد می شود (۶). فعالیت ورزشی میتواند اکسیداسیون لیپیدها را

در مورد تاثیر تمرین روی CTGF، در مطالعه‌ای روی موش‌های صحرایی و یستار مبتلا به فشار خون خود بخودی (SHR)، ۶ ماه تمرین هوازی منجر به واکنش‌های سازگاری قلبی شد که در افزایش تنفس میتوکندریایی، کاهش ضربان قلب و بهبود عملکرد سیستمیک منعکس شد. ورزش همچنین اثرات آنتی اکسیدانی داشت و بیان ژنهای ناسازگار TGF- $\beta$ 1، CTGF و FGF2 را کاهش داد (۲۵) در حالیکه در مطالعه ای مشابه، Guo-qiang و همکاران، ۲۰۱۹، روی موش‌های (SHR) پس از ۶ ماه تمرین هوازی طولانی مدت هیچ تغییر قابل توجهی در بیان پروتئین TGF- $\beta$ 1، CTGF و TIMP-2 مشاهده نکردند. ولی ورزش هوازی در بهبود فیروز میوکارد موثر است و می‌تواند تمایز فیروبلاست به میوفیروبلاست را مهار کند. این نشان می‌دهد که مکانیسم‌های دیگری نیز در تأثیر مهارتی ورزش هوازی بر تمایز میوفیروبلاست نقش دارند. همچنین ۵ هفته تمرین متوسط هوازی روی تردمیل سطح بیان فاکتورهای مختلف فیروز، مانند CTGF و TGF- $\beta$ 1 که با تزریق دوکسورویسین افزایش یافته بود را کاهش داد (۳۵). در تحقیق وانگ و همکاران، ۲۰۱۹، موش‌های دیابتی به مدت ۸ هفته تمرین تردمیل با شدت متوسط دریافت کردند. نتایج نشان داد که ورزش تا حد زیادی دیابت را معکوس می‌کند و عوامل فیروز میوکارد، از جمله بیان MMP-2، CTGF، TGF- $\beta$ 1 را سرکوب می‌کند. بنابراین، ورزش ممکن است یک روش درمانی جایگزین برای کاردیومیوپاتی دیابتی باشد (۴۸). ولی اثرات تمرین HIIT کمتر بررسی شده است. روزبانی و همکاران، ۲۰۱۷، اثر دو نوع تمرین ورزشی هوازی و HIIT را روی CTGF موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت بررسی کردند. پروتکل ورزش ۵ روز در هفته و به مدت ۵ هفته اجرا شد. نتایج نشان داد که تمرین HIIT

بالاتر از سطح اولیه بود. این نتایج با تحقیقات (۲۴) همسو بود. CTGF یک پروتئین ترشحی است که به عنوان یک محرک قدرتمند سنتز ماتریس خارج سلولی (ECM) (۱۶) و همچنین به عنوان یک واسطه مهم فیروز قلب شناخته شده است. (۱۷) CTGF در بسیاری از فیروزها از قبیل: فیروز کبدی، فیروزریوی، فیروز قلب و فیروز پوست دیده می‌شود (۱۸ و ۲۰) ولی محققان نشان داده اند که افزایش CTGF پس از آسیب بافت قلب یک فعالیت جبرانی برای بازسازی قلب بوده (۳۰- مقاله اول) و می‌تواند نقش محافظتی داشته باشد و برخی نیز معتقدند که CTGF می‌تواند به عنوان یک روش جدید برای مطالعات بالینی بیشتر به خدمت گرفته شود. CTGF می‌تواند فعال سازی مسیرهای نجات بخش Akt / GSK3 $\beta$  و کیناز p70S6 را تحریک کند که به نوبه خود منجر به محافظت از قلب در برابر آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد می‌گردد. ۴۷ ولی این روش باید با احتیاط بیشتری بررسی شود زیرا بیان زیاد CTGF باعث بالا رفتن سطح پروتئین‌های فیرونکتین، کلاژن I و III در ماتریکس خارج سلولی می‌شود و بدنبال آن انفارکتوس میوکارد ایجاد می‌شود از طرفی جلوگیری از عملکرد CTGF قلب را از آسیب محافظت می‌کند (۱۶). میزان بیان CTGF در مدل‌های موشی بیمار، متناسب با میزان فیروز است و این افزایش بیان سبب مهاجرت، تکثیر و تولید ماتریکس خارج سلولی می‌گردد (۲۵). CTGF اثر خود را از طریق گیرنده سطح سلولی تیروزین کیناز A (TrkA) روی مسیر سیگنالینگ TGF- $\beta$  اعمال می‌کند (۲۶). اخیراً کشف شده است که CTGF در هنگام آسیب بافت قلب هم توسط کاردیومیوسیتها و هم فیروبلاستها ترشح می‌شود اما تنها ترشح این فاکتور توسط خود فیروبلاست، بر فعالیت فیروبلاست و القای فیروز تأثیر می‌گذارد (۲۸).

فعال سازی نوتروفیل ها تو سط عوامل پیش التهابی از طریق افزایش القایی بیان NO سنتتاز، افزایش جریان خون کرونر در قلب موش صحرایی و خو کچه هندی (۳۲)، و افزایش هیپرفیلتراسیون و گشاد شدن عروق کلیوی در موش ها از طریق گیرنده ETB (۳۳). رلاکسین همچنین فعالیت و بیان سه نوع NOS را افزایش می دهد: NOS اندوتلیال (eNOS; NOS III) القایی (iNOS; NOS II) (۳۴, ۳۵) NOS عصبی (nNOS; NOS I) (۳۶). RXFP1 با فعال سازی eNOS داخل کبدی در موشهای مبتلا به کبد چرب، استاتوز کبدی را کاهش می دهد و باعث کاهش بیشتر فیروز کبدی می شود. بنابراین، RXFP1 انسانی یک روش درمانی بالقوه برای NAFLD است (۳۷). ریلکسین مسیر Pi3 کیناز را فعال می کند (۳۸) و به طور بالقوه واسطه فعالیت های مهاري TGF- $\beta$  در اندامها و سلولهای مختلف است (۳۹).

همچنین این یافته ها نشان داد که ۵ هفته تمرین HIIT سطح RXFP1 موشهای سالم را تغییر نداد ولی به شدت باعث کاهش سطح بیان این ژن در گروه SHIIT شد البته به سطح موشهای سالم نرسید. مطالعات ورزشی خیلی کمی روی ریلکسینها انجام شده است. و این اولین مطالعه ورزشی است که روی نمونه های کبد چرب انجام شده است. Kruger و همکاران روی نمونه های نارسایی قلبی مزمن (CHF) اثر یک جلسه تمرین را بررسی کردند و هیچ تغییری در سطوح Relaxin در ابتدای فعالیت ورزشی و همچنین حداکثر ورزش در بیماران نارسایی قلبی نسبت به گروه سالم مشاهده نکردند (۲۶) در تحقیقی مشابه روی بیماران CHF تفاوت معناداری بین بیماران و گروه کنترل بعد از تمرین مشاهده نشد. (۲۷) ولی در این مطالعات میزان ریلکسین در خون اندازه گیری شد که با روش ما متفاوت است. به نظر می رسد مسیر مشترک فعالیت RXFP1 و CTGF مربوط به TGF- $\beta$

موجب افزایش معنادار سطح miR-29a در مقایسه با گروه هوازی می شود که این باعث کاهش سطح CTGF و در نتیجه کاهش فیروز بافت قلب در بیماران دیابتی می شود. از این رو اجرای تمرین HIIT فیروز قلب را بدون تحمل دارو کاهش می دهد و پذیرش HIIT نسبت به تمرین هوازی برای موشهای دیابتی سازگارتر است و اثرات بهتری بر عملکرد قلب دارد. (۲۴)

یافته های دیگر ما نشان داد که با القاء کبد چرب میزان RXFP1 در بافت قلب از همان ابتدا افزایش یافت و تا پایان هفته پنجم تغییری نکرد. میزان بیان ژن RXFP1 در گروههای کبد چرب استاتوزیس (BS,CS) و SHIIT بطور معناداری نسبت به ۳ گروه دیگر بالاتر بود این میزان در گروههای BS و CS که تمرین نداشتند حدود ۹ برابر بیشتر از گروههای BH,CH و HIIT بود.

با توجه به اینکه RXFP1 بر خلاف CTGF عمل می کند، افزایش همزمان این دو در این مطالعه شاید به دلیل تخریب زیاد ماتریکس خارج سلولی باشد. چرا که تغییرات آترواسکلروتیک عروق حتی در درجات خفیف کبد چرب نیز قابل مشاهده می باشد (۲۹) و CTGF (CCN2) در پاسخ به آسیب بافت، مسیرهای سیگنالینگ باز سازی بافت همبند را شروع می کند (۳۰). بنابراین، افزایش فاکتور رشد بافت پیوندی (CTGF) در این پژوهش احتمالاً در جهت تولید ماتریکس خارج سلولی و جبران تخریب آنها بوده و افزایش RXFP1 در جهت جلوگیری از رسوب کلاژن در ECM (۱۹) و فیروز بافت قلب صورت گرفته است. RXFP1 که از اجزای ماتریکس خارج سلولی است و بیشتر در سلول های آندوتلیال آئورت بیان می شود (۱۸)، بیشتر اثر فیزیولوژیکی خود را در سیستم قلب و عروق با واسطه NO انجام می دهد: از جمله مهار چسبندگی ناشی از لیپوپلی ساکارید (LPS) در سلولهای اندوتلیال کرونر (۳۱)، مهار

جدیدی جهت بازتوانی قلبی بیماران مورد استفاده قرار گیرد.

## Reference

- Gaudio E, Nobili V, Franchitto A, Onori P, Carpino G. Nonalcoholic fatty liver disease and atherosclerosis. Internal and emergency medicine. 2012 Oct;7 Suppl 3:S297-305. PubMed PMID: 23073871. Epub 2012/10/25. eng.
- Feldstein AE. Novel insights into the pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease. Seminars in liver disease. 2010 Nov;30(4):391-401. PubMed PMID: 20960378. Epub 2010/10/21. eng.
- Faienza MF, Chiarito M, Molina-Molina E, Shanmugam H, Lammert F, Krawczyk M, et al. Childhood obesity, cardiovascular and liver health: a growing epidemic with age. World Journal of Pediatrics. 2020 2020/10/01;16(5):438-45.
- Patil R, Sood GK. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. World journal of gastrointestinal pathophysiology. 2017 May 15;8(2):51-8. PubMed PMID: 28573067. Pubmed Central PMCID: PMC5437502. Epub 2017/06/03. eng.
- Villegas R, Xiang YB, Elasy T, Cai Q, Xu W, Li H, et al. Liver enzymes, type 2 diabetes, and metabolic syndrome in middle-aged, urban Chinese men. Metabolic syndrome and related disorders. 2011 Aug;9(4):305-11. PubMed PMID: 21495862. Pubmed Central PMCID: PMC3142636. Epub 2011/04/19. eng.
- Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. Journal of hepatology. 2012 Jan;56(1):255-66. PubMed PMID: 21723839. Epub 2011/07/05. eng.
- Sookoian S, Pirola CJ. Non-alcoholic fatty liver disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: a systematic review. Journal of hepatology. 2008 Oct;49(4):600-7. PubMed PMID: 18672311. Epub 2008/08/02. eng.
- Ghosh AK. Factors involved in the regulation of type I collagen gene expression: implication in fibrosis. Experimental biology and medicine (Maywood, NJ). 2002 May;227(5):301-14. PubMed PMID: 11976400. Epub 2002/04/27. eng.
- ten Dijke P, Arthur HM. Extracellular control of TGFbeta signalling in vascular development and disease. Nature reviews Molecular cell biology. 2007 Nov;8(11):857-69. PubMed PMID: 17895899. Epub 2007/09/27. eng.
- Wu CK, Wang YC, Lee JK, Chang SN, Su MY, Yeh HM, et al. Connective tissue growth factor and cardiac diastolic dysfunction: human data from the Taiwan diastolic heart failure registry and molecular basis by cellular and animal models.

می شود که یکی از مهمترین سیتوکینها در پیشرفت فیروز است (۴۱). CTGF تولید شده توسط هپاتوسیت بوسیله TGFβ تنظیم می شود و تا حدی با افزایش فعالیت TGFβ باعث تسریع در فیروزن می شود (۴۲). تزریق TGF-β به تنهایی سبب فیروز پوستی موقت می گردد در حالیکه تزریق سریالی CTGF پس از TGF-β سبب فیروز پایدار می شود. بنابراین CTGF فیروز پوستی القاء شده توسط TGF-β را با فعال نمودن پروموتور کلاژن و افزایش تعداد فیروبلاستهای فعال حفظ می نماید (۴۳). افزایش CTGF در بسیاری از فیروزها از قبیل: فیروز کبدی، فیروز ریوی، فیروز قلب و فیروز پوست دیده شده است (۴۴). از طرفی محققان نشان داده اند که اثرات ضد فیروتیک ریلکسین ناشی از مهار عملکرد TGF-β است (۴۵). در فیروبلاست های کلیوی انسان، TGF-β میزان بیان α-SMA (نشانگر تمایز فیروبلاست)، کلاژن نوع I و فیرونکتین را افزایش می دهد و این اثرات توسط ریلکسین معکوس می شود. اثرات مهاری ریلکسین به دلیل مهار Smad2 است اما درمان ریلکسین فسفوریلاسیون Smad2 ناشی از TGF-β را کاهش می دهد و به تنهایی Smad2 را حذف می کند (۴۶). بنابراین ریلکسین TGF-β و در نتیجه تمایز فیروبلاست توسط یک مسیر وابسته به NO را مهار می کند (۴۷). در کل یافته های این مطالعه نشان داد که با شروع بیماری کبد چرب هر سه فاکتور رشد بافت همبند، آنزیم کبدی SGPT و ریلکسین در قلب افزایش یافت و این نشان از آسیب بافت قلب می باشد که در ادامه می تواند منجر به فیروز بافت قلب شود. تمرین HIIT که در مدت زمان کم و با راحتی بیشتری انجام می شود توانست با کاهش این عوامل روند فیروز قلبی ناشی از استئاتوز کبدی را مهار کند. بنابراین استفاده از تمرین HIIT می تواند به عنوان روش

20. Richter EA, Ruderman NB. AMPK and the biochemistry of exercise: implications for human health and disease. *The Biochemical journal*. 2009 Mar 1;418(2):261-75. PubMed PMID: 19196246. Pubmed Central PMCID: PMC2779044. Epub 2009/02/07. eng.
21. Ruiz JR, Labayen I, Ortega FB, Moreno LA, Rodriguez G, Breidenassel C, et al. Physical activity, sedentary time, and liver enzymes in adolescents: the HELENA study. *Pediatric research*. 2014 Jun;75(6):798-802. PubMed PMID: 24603293. Epub 2014/03/08. eng.
22. Keating SE, Hackett DA, George J, Johnson NA. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology*. 2012 Jul;57(1):157-66. PubMed PMID: 22414768. Epub 2012/03/15. eng.
23. Aoi W, Naito Y, Hang LP, Uchiyama K, Akagiri S, Mizushima K, et al. Regular exercise prevents high-sucrose diet-induced fatty liver via improvement of hepatic lipid metabolism. *Biochemical and biophysical research communications*. 2011 Sep 23;413(2):330-5. PubMed PMID: 21893033. Epub 2011/09/07. eng.
24. Roozbayani M, Peeri M, Agha-Alinejad H, Azarbayjani MA. Effect of Continues Training and High Intensity Interval Training on miR-29a and CTGF Gene Expression in Male Wistar Diabetic Rats' Heart Tissue. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity*. 2016;8(3):142-50. eng.
25. Schreckenber R, Horn AM, da Costa Rebelo RM, Simsekylmaz S, Niemann B, Li L, et al. Effects of 6-months' Exercise on Cardiac Function, Structure and Metabolism in Female Hypertensive Rats-The Decisive Role of Lysyl Oxidase and Collagen III. *Frontiers in physiology*. 2017;8:556. PubMed PMID: 28824452. Pubmed Central PMCID: PMC5541302. Epub 2017/08/22. eng.
26. Krüger S, Graf J, Merx MW, Stickel T, Kunz D, Hanrath P, et al. Relaxin kinetics during dynamic exercise in patients with chronic heart failure. *European journal of internal medicine*. 2004 Feb;15(1):54-6. PubMed PMID: 15066650. Epub 2004/04/07. eng.
27. Heringlake M, Kox T, Poeling J, Klaus S, Hanke T, Franz N, et al. The effects of physical exercise on plasma levels of relaxin, NTproANP, and NTproBNP in patients with ischemic heart disease. *European journal of medical research*. 2009 Mar 17;14(3):106-12. PubMed PMID: 19380280. Pubmed Central PMCID: PMC3352058. Epub 2009/04/22. eng.
28. Gillen JB, Gibala MJ. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness? *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, European journal of heart failure*. 2014 Feb;16(2):163-72. PubMed PMID: 24464932. Epub 2014/01/28. eng.
11. Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2008 Sep;28(8):1065-79. PubMed PMID: 18783549. Epub 2008/09/12. eng.
12. Tong Z, Chen R, Alt DS, Kemper S, Perbal B, Brigstock DR. Susceptibility to liver fibrosis in mice expressing a connective tissue growth factor transgene in hepatocytes. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009 Sep;50(3):939-47. PubMed PMID: 19670427. Pubmed Central PMCID: PMC2737071. Epub 2009/08/12. eng.
13. Varga J, Pasche B. Transforming growth factor beta as a therapeutic target in systemic sclerosis. *Nature reviews Rheumatology*. 2009 Apr;5(4):200-6. PubMed PMID: 19337284. Pubmed Central PMCID: PMC3959159. Epub 2009/04/02. eng.
14. Sarwar M, Du XJ, Dschietzig TB, Summers RJ. The actions of relaxin on the human cardiovascular system. *British journal of pharmacology*. 2017 May;174(10):933-49. PubMed PMID: 27239943. Pubmed Central PMCID: PMC5406304. Epub 2016/05/31. eng.
15. Bathgate RA, Halls ML, van der Westhuizen ET, Callander GE, Kocan M, Summers RJ. Relaxin family peptides and their receptors. *Physiological reviews*. 2013 Jan;93(1):405-80. PubMed PMID: 23303914. Epub 2013/01/11. eng.
16. Adham IM, Burkhardt E, Benahmed M, Engel W. Cloning of a cDNA for a novel insulin-like peptide of the testicular Leydig cells. *The Journal of biological chemistry*. 1993 Dec 15;268(35):26668-72. PubMed PMID: 8253799. Epub 1993/12/15. eng.
17. Hayden AL. The role of relaxin in the regulation of human liver and kidney fibrosis: University of Southampton; 2009.
18. Masterson R, Hewitson TD, Kelynack K, Martic M, Parry L, Bathgate R, et al. Relaxin down-regulates renal fibroblast function and promotes matrix remodelling in vitro. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2004 Mar;19(3):544-52. PubMed PMID: 14767007. Epub 2004/02/10. eng.
19. Samuel CS, Unemori EN, Mookerjee I, Bathgate RA, Layfield SL, Mak J, et al. Relaxin modulates cardiac fibroblast proliferation, differentiation, and collagen production and reverses cardiac fibrosis in vivo. *Endocrinology*. 2004 Sep;145(9):4125-33. PubMed PMID: 15155573. Epub 2004/05/25. eng.

38. Shi-Wen X, Leask A, Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis. *Cytokine & growth factor reviews*. 2008 Apr;19(2):133-44. PubMed PMID: 18358427. Epub 2008/03/25. eng.
39. Chen MM, Lam A, Abraham JA, Schreiner GF, Joly AH. CTGF expression is induced by TGF-beta in cardiac fibroblasts and cardiac myocytes: a potential role in heart fibrosis. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2000 Oct;32(10):1805-19. PubMed PMID: 11013125. Epub 2000/10/03. eng.
40. Chaqour B. Caught between a "Rho" and a hard place: are CCN1/CYR61 and CCN2/CTGF the arbiters of microvascular stiffness? *Journal of cell communication and signaling*. 2020 Mar;14(1):21-9. PubMed PMID: 31376071. Pubmed Central PMCID: PMC7176800. Epub 2019/08/04. eng.
41. Sciarretta S, Paneni F, Palano F, Chin D, Tocci G, Rubattu S, et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and inflammatory processes in the development and progression of diastolic dysfunction. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2009 Mar;116(6):467-77. PubMed PMID: 19200056. Epub 2009/02/10. eng.
42. Ahmed MS, Gravning J, Martinov VN, von Lueder TG, Edvardsen T, Czibik G, et al. Mechanisms of novel cardioprotective functions of CCN2/CTGF in myocardial ischemia-reperfusion injury. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2011 Apr;300(4):H1291-302. PubMed PMID: 21186275. Epub 2010/12/28. eng.
43. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation*. 2001 Apr 24;103(16):2055-9. PubMed PMID: 11319194. Epub 2001/04/25. eng.
44. Szabó Z, Magga J, Alakoski T, Ulvila J, Piuhola J, Vainio L, et al. Connective tissue growth factor inhibition attenuates left ventricular remodeling and dysfunction in pressure overload-induced heart failure. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2014 Jun;63(6):1235-40. PubMed PMID: 24688123. Epub 2014/04/02. eng.
45. Lichtman MK, Otero-Vinas M, Falanga V. Transforming growth factor beta (TGF-β) isoforms in wound healing and fibrosis. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2016 Mar;24(2):215-22. PubMed PMID: 26704519. Epub 2015/12/26. eng.
46. Wahab NA, Yevdokimova N, Weston BS, Roberts T, Li XJ, Brinkman H, et al. Role of connective tissue growth factor in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *The Biochemical journal*. 2001 Oct 1;359(Pt 1):77-87. PubMed PMID: nutrition et metabolisme. 2014 Mar;39(3):409-12. PubMed PMID: 24552392. Epub 2014/02/21. eng.
29. Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for high-intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2002;32(1):53-73. PubMed PMID: 11772161. Epub 2002/01/05. eng.
30. Jones AM, Krustup P, Wilkerson DP, Berger NJ, Calbet JA, Bangsbo J. Influence of exercise intensity on skeletal muscle blood flow, O2 extraction and O2 uptake on-kinetics. *The Journal of physiology*. 2012 Sep 1;590(17):4363-76. PubMed PMID: 22711961. Pubmed Central PMCID: PMC3473291. Epub 2012/06/20. eng.
31. Fawkner S, Armstrong N. Oxygen uptake kinetic response to exercise in children. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2003;33(9):651-69. PubMed PMID: 12846589. Epub 2003/07/09. eng.
32. Meyer P, Gayda M, Juneau M, Nigam A. High-intensity aerobic interval exercise in chronic heart failure. *Current heart failure reports*. 2013 Jun;10(2):130-8. PubMed PMID: 23397179. Epub 2013/02/12. eng.
33. Jamali R, Khonsari M, Merat S, Khoshnia M, Jafari E, Bahram Kalhori A, et al. Persistent alanine aminotransferase elevation among the general Iranian population: prevalence and causes. *World journal of gastroenterology*. 2008 May 14;14(18):2867-71. PubMed PMID: 18473412. Pubmed Central PMCID: PMC2710729. Epub 2008/05/14. eng.
34. Wang X, McLennan SV, Allen TJ, Tsoutsman T, Semsarian C, Twigg SM. Adverse effects of high glucose and free fatty acid on cardiomyocytes are mediated by connective tissue growth factor. *American journal of physiology Cell physiology*. 2009 Dec;297(6):C1490-500. PubMed PMID: 19625611. Epub 2009/07/25. eng.
35. Yang HL, Hsieh PL, Hung CH, Cheng HC, Chou WC, Chu PM, et al. Early Moderate Intensity Aerobic Exercise Intervention Prevents Doxorubicin-Caused Cardiac Dysfunction Through Inhibition of Cardiac Fibrosis and Inflammation. *Cancers*. 2020 Apr 28;12(5). PubMed PMID: 32354131. Pubmed Central PMCID: PMC7281105. Epub 2020/05/02. eng.
36. Hovanloo F, Hedayati M, Ebrahimi M, Abednazari H. Effect of various time courses of endurance training on alterations of antioxidant enzymes activity in rat liver tissue. *Pejouhesh dar Pezeshki (Research in Medicine)*. 2011;35(1):14-9. eng.
37. Guo-qiang Y, Yong-sheng Q, Peng P. The effect and mechanism of aerobic training on cardiac fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *Tianjin Medicin Journal* 2020;Vol. 48 (2):100-4.

oxidative stress and TGF- $\beta$ 1/Smad pathway. The journal of physiological sciences : JPS. 2019 Nov;69(6):861-73. PubMed PMID: 31392590. Epub 2019/08/09. eng.  
6):2941-51. PubMed PMID: 9300718. Epub 1997/09/23. eng.

11563971. Pubmed Central PMCID: PMC1222123. Epub 2001/09/21. eng.

47. Dorn LE, Petrosino JM, Wright P, Accornero F. CTGF/CCN2 is an autocrine regulator of cardiac fibrosis. Journal of molecular and cellular cardiology. 2018 Aug;121:205-11. PubMed PMID: 30040954. Pubmed Central PMCID: PMC6260782. Epub 2018/07/25. eng.

48. Wang SQ, Li D, Yuan Y. Long-term moderate intensity exercise alleviates myocardial fibrosis in type 2 diabetic rats via inhibitions of

## Original Article

# The effect of five weeks of intense intermittent training on the expression of RXFP1 and CTGF genes in heart tissue and liver enzyme SGPT in male Wistar rats with fatty liver

Received: 08/08/2022 - Accepted: 22/11/2022

Masoud Hamzeh lou<sup>1</sup>  
Mania Roozbayani<sup>2\*</sup>  
Hosein Shirvani<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Phd student of exercise physiology, Department of Physical Education, Borujerd branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Borujard Branch, Islamic Azad University, Borujard, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor of Sports Physiology, Sports Physiology Research Center, Lifestyle Research School, Baqiyatullah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email:

roozbayaniamania249@gmail.com

### Abstract

**Introduction:** In recent years, studies have been conducted on the relationship between fatty liver and atherosclerosis. The results of these studies indicate the relationship between non-alcoholic fatty liver and atherosclerosis of the coronary arteries. Fatty liver is associated with an increased risk of cardiovascular disease. Increases in the thickness of the medial layer of the carotid artery and stenosis of the common carotid artery secondary to carotid plaques are markers of atherosclerosis. The aim of this study was the effect of high intensity interval training (HIIT) on the expression of cardiac 1 RXFP and CTGF genes in male rats with fatty liver steatosis model.

**Materials and Methods:** 48 male Wistar rats by the weight of 230-300 g were divided randomly into the following 9 basic healthy groups (BH), modeled basic group (steatosis) (BS), healthy HIIT group (HIIT), modeled HIIT group (steatosis) SHIIT, healthy control group (CH), modeled control group (steatosis) (CS) were randomly divided. Rats in the fatty liver group received oral tetracycline daily for two weeks. The rats of the training groups were also trained for 5 weeks/5 days. Two groups, BS and BH, were sacrificed at the end of the second week, and the training groups and the CS group were sacrificed at the end of the 5th week, and heart tissue samples were taken to examine the expression of SGPT genes. , RXFP1 and CTGF were taken [IR.SSRC.REC.1400.036](https://doi.org/10.21860/IR.SSRC.REC.1400.036).

**Results:** The amount of SGPT in BS and CS groups was significantly higher than the other 4 groups. The level of this enzyme in the HIIT and SHIIT groups was significantly reduced compared to the fatty liver groups. RXFP1 gene expression in BS, CS and SHIIT groups was significantly higher than the other 3 groups. But RXFP1 level in HIITS group was significantly lower than BS and CS. CTGF in the CS group was significantly higher than the other 5 groups. Both exercise groups had lower levels of CTGF than the fatty liver groups. CTGF level in HIIT group was also significantly lower than SHIIT group.

**Conclusion:** Fatty liver increased cardiac fibrosis factors but by reducing these factors HIIT was able to prevent the process of cardiac fibrosis from liver Steatosis. So HIIT can be Used as a new method to reduce cardiac fibrosis factors.

**Key words:** HIIT, RXFP1, CTGF, fatty liver

**Acknowledgement:** There is no conflict of interest