مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۶، شماره۴
مهر-آبان۱۴۰۲، صفحه ۸۰۶-۸۱۹

www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 66, No.4, P: 806-819
Sep-Nov 2023

مقاله اصلی

تأثیر توام گرسنگی و تمرین هوازی بر شاخص‌های خطر زای، توده بدن و بیان ژن ATF6 شبکه آندوپلاسمی کبد سالم رت‌های نر نژاد ویستار

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۳۰- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۹

منیره خلیلی[۱]
حبیب اصغرپور[۲*]
اسرا عسکری[۳*]
جهانبخش اسدی[۴]

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران
[۲] استادیار تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران
[۳] استادیار فیزیولوژی ورزشی ،گروه تربیت بدنی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
[۴] استاد تمام مرکز تحقیقات اختلالات متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول اول: دکتر حبیب اصغرپور، استادیار تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران.
Email:Dr.Habibasgharpour@aliabadiau.ac.ir

نویسنده مسئول دوم: دکتر اسرا عسکری، استادیار فیزیولوژی ورزشی ،گروه تربیت بدنی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
Email: a.askari@gorganiau.ac.ir

خلاصه

مقدمه

شبکه اندوپلاسمی در بسیاری از مسیرهای سلولی نقش اساسی دارد. تمرین منظم ورزشی و گرسنگی می‌توانند با فعال کردن مکانیسم‌هایی مانند ریتکولوفاژی منجر به سلامت کبد شوند. بنابراین هدف از تحقیق حاضر، بررسی تاثیر توام گرسنگی و تمرین هوازی بر شاخص‌های خطر زای، توده بدن و بیان ژن ATF6 شبکه اندوپلاسمی کبد سالم رت‌های نر نژاد ویستار می‌باشد.

روش کار

در تحقیق تجربی حاضر تعداد ۳۰ سر رت سالم نر نژاد ویستار۱۸هفته‌ای با دامنه وزنی ۲۵/۳۴ ±۳۳۰/۴۰ گرم انتخاب و به شش گروه ۱)کنترل ۲)گرسنگی۳)۳روزتمرین ۴)۵روزتمرین ۵)گرسنگی+۳روزتمرین ۶)گرسنگی+۵روزتمرین تقسیم شدند. رت‌های گروه تمرینی، تمرین ورزشی را طی یک ماه،به تعداد ۳ و ۵ جلسه در هفته، به مدت یک ساعت روی تردمیل انجام دادند. گرسنگی به مدت ۱۴ساعت در زمان بیداری رت‌ها و طی یک ماه به طور پیوسته انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری آنوای یک‌طرفه و تعقیبی LSD در نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گردید. سطح معنی داری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌ها کاهش معنی‌داری در میزان وزن، BMI، LDL/HDL، CHOL/HDL، TAG/HDL و افزایش معنی‌داری در بیان ژن ATF6 نشان داد P≤۰/۰۵ .

نتیجه گیری

تمرین‌هوازی همراه با گرسنگی با کاهش شاخص‌های اتروژنیک منجر به سلامت کبد شد. همچنین افزایش بیان ژن ATF6 در کبد از طریق تمرین ورزشی دویدن و گرسنگی می‌تواند منجر به تنظیم ریتکولوم‌فاژی (خودخواری شبکه اندوپلاسمی) و سلامت کبد گردد.

کلمات کلیدی

گرسنگی،تمرین هوازی،آتروژنیک،فعال کننده فاکتوررونویسی۶ ، شبکه اندوپلاسمی

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

شبکه اندوپلاسمی یک اندامک پیچیده و پویا است که در تنظیم بسیاری از مسیرهای سلولی از جمله سنتز پروتئین، کنترل کیفیت پروتئین و غیره دخالت دارد (۱). عدم تنظیم کارکرد شبکه اندوپلاسمی‌وایجاد استرس در ان به نوبه خود، پاسخ پروتئین تانخورده (UPR)[1] را فعال می‌کند (۲) بنابراین پاسخ پروتئین تانخورده اطلاعات مربوط به وضعیت تاشدن پروتئین را به هسته و سیتوزول منتقل نموده تا ظرفیت تاشدن پروتئین سلول را تنظیم کند ویا درصورت آسیب مزمن، مرگ سلولی (آپوپتوز)را القا کند(۳). حفظ یکپارچگی شبکه اندوپلاسمی‌با توجه به نقش مهم آن در سلامت کبد بسیار مهم می‌باشد(۴). شبکه اندوپلاسمی نا صاف محل اصلی سنتز، چین‌خوردگی و ترشح پروتئین است؛ در حالی که شبکه اندوپلاسمی‌صاف شامل اکثر دستگاه‌های مورد نیاز برای سم‌زدایی و همچنین سنتز لیپید می‌باشد(۵). ER دارای توانایی خارق‌العاده‌ای برای فعالیت درمانی که محرک‌های فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک نیاز دارند می‌باشد (۶).

اتوفاژی فرآیندی است که اجزای مختلف درون سلول مانند اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و اندامک‌ها را از طریق تخریب درون واکوئل‌ها یا لیزوزوم‌ها مورد هدف قرار می‌دهد(۷). اتوفاژی مربوط به دستگاه شبکه اندوپلاسمی‌با نام رتیکولوفاژی، مسئول جداسازی و پاکسازی انتخابی قطعات ER آسیب‌دیده در طول استرس بوده و نقش مهمی‌در حفظ هموستاز ER و مهار آپوپتوز دارد. رتیکولوفاژی یک هدف درمانی جدید بوده و نتایج آن ممکن است شواهد جدیدی در جهت اهمیت رتیکولوفاژی مرتبط با استرس ER در سلول کبدی ارائه دهد (۸).

تاکنون، گرسنگی، اسید آمینه و همچنین استرس ER به عنوان محرک‌های رتیکولوفاژی توصیف شده‌اند که به نوبه خود سطوح انرژی سلولی و هموستاز ER را بازیابی می‌کنند (۹). شاخص‌های خطر زای یک مرجع پیش بینی بیماری‌های کبدی و ارتباط نزدیکی با اختلالات متابولیسم لیپید و اختلالات چربی خون دارد (۱۰). بیماران کبدی معمولاً تری گلیسیرید (TG) بالا و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) پایینی نسبت به افراد سالم دارند (۱۱). شاخص توده بدنی (BMI) معمولاً به عنوان شاخص‌هایی برای ارزیابی چاقی استفاده می‌شوند و نشان داده شده است که BMI بالا می‌تواند خطر ابتلا به بیماری کبد چرب را به میزان قابل توجهی افزایش دهد (۱۲).

مطالعات اخیر نقش حسگرهای UPR را در تنظیم استئاتوز کبدی و در پاسخ سلولی به استرس لیپوتوکسیک نشان داده‌اند. حسگرهای UPR می‌توانند به‌طور مستقیم توسط لیپیدهای سمی، مستقل از تجمع UPR، که به ترتیب استرس لیپوتوکسیک و پروتئوتوکسیک نامیده می‌شوند، فعال شوند (۱۳). توزیع لیپید، همراه با آنابولیسم و کاتابولیسم لیپید، تا حدی توسط ER تنظیم می‌شود (۱۴). در سلول‌های پستانداران، سه پروتئین گذرنده، آنزیم نیازمند اینوزیتول ۱ (IRE1)[2]، کیناز شبکه اندوپلاسمی شبیه PRKR (PERK)[3] و فعال کننده فاکتور رونویسی ۶ (ATF6)[4]، واسطه سه مسیر سیگنال‌دهی UPR هستند و نقش مهمی‌در کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی‌و حفظ عملکرد طبیعی سلول دارند (۱۵).

ATF6 یک پروتئین موضعی ER و عضوی از خانواده فاکتورهای رونویسی زیپ لوسین است. در انتقال سیگنال‌های مرتبط با استرس به ER و به عنوان یک تنظیم کننده اصلی هموستاز بافتی است (۱۶). در پاسخ به رویدادهای پاتولوژیک یا فیزیولوژیکی که هموستاز ER را مختل می‌کنند، ATF6 از ER به دستگاه گلژی مهاجرت نموده، جایی که پروتئازها ATF6 را می‌شکافند تا قطعه فعال‌کننده رونویسی N-ترمینال ATF6 سیتوزولی را آزاد کنند (۱۷). فاکتور رونویسی آزادشده ATF6، برای القای چاپرون‌های ER و آنزیم‌های تاشونده پروتئینی که ظرفیت بیوسنتزی ER را افزایش می‌دهند، وارد هسته می‌شود و به سلول اجازه می‌دهد تا با دوره‌های استرس ER سازگار شوند (۱۸). فعالیت‌های ورزشی به طور فزاینده‌ای در ارتقای

[1] Unfolded Protein Response
[2] Inositol Requiring Enzyme 1
[3] PRKR-like Endoplasmic Reticulum Kinase
[4] Activating Transcription Factor 6

سلامت و پیشگیری از بیماری‌ها نقش داشته ، سازگاری اولیه با پاسخ فعالیت ورزشی می‌تواند اثرات متفاوتی بر سلول‌ها داشته باشد، از جمله افزایش تشکیل اکسیدان‌ها و واسطه‌های التهابی که در نهایت منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود، اما این سناریو به نوع تمرین و شدت و وضعیت تمرین فرد بستگی دارد (۱۹). استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و التهاب احتمالا مکانیسم مهمی‌است که می‌تواند منجر به مرگ سلول‌های کبدی و آسیب بافتی شود. ناهنجاری‌های میتوکندری، تنظیم کاهشی چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های، تجمع لکوسیت‌ها و التهاب کبدی، منابع اصلی تولید بیش از حد ROS در کبد هستند. تولید بیش از حد ROS ظرفیت سایر سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در کبد را سرکوب می‌کند و باعث آسیب اکسیداتیو بیشتر می‌شود (۲۰). ورزش منظم هوازی می‌تواند به عنوان یک استراتژی موثر برای کنترل بیش از حد استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شود. تمرین‌های هوازی همچنین تولید بیش از حد ROS و استرس اکسیداتیو در کبدرا از طریق افزایش تنظیم چندین آنزیم آنتی‌اکسیدانی و واسطه‌های ضد التهابی سرکوب می‌کنند(۲۱) .در تحقیقی Ruan و همکاران (۲۰۲۱) تاثیر تمرین ورزشی با شدت‌های مختلف را بر متابولیسم لیپید، استرس اکسیداتیو، آسیب سلول‌های کبدی، آپوپتوز و بیان پروتئین مرتبط استرس ER رت‌ها را بررسی کردند. به دنبال تمرین ورزشی شاخص‌های اتروژنیک و بیان پروتئین مرتبط با آپوپتوز کبدی کاهش یافتند. در همین حال، عملکرد آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. این محققان بیان کردند تمرین ورزشی در شدت‌های مختلف باعث بهبود چربی خون و آسیب کبدی در رت‌ها می‌شود. تمرین ورزشی با شدت متوسط تأثیر بیشتری بر بهبود توانایی آنتی‌اکسیدانی و مهار آپوپتوز سلول‌های کبدی نشان داد (۲۲).

در سال‌های اخیر، آزمایش‌های بالینی متعددی نشان داده‌اند که گرسنگی هم می‌تواند به عنوان یک راهی برای کاهش چربی و تنظیم نیم‌رخ لیپیدی باشد (۲۳). گرسنگی متناوب تاثیر مثبتی بر درمان بیماری‌های مزمن از جمله دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان و غیره دارد (۲۴).

گرسنگی یا رژیم‌های غذایی با محدودیت انرژی اثرات مطلوبی بر وزن بدن، توده کل چربی و کاهش چربی کبد دارند (۲۵). علاوه بر این، گرسنگی متناوب می‌تواند نشانگرهای زیستی التهاب سیستمیک (۲۶) و هورمون‌های تنظیم‌کننده اشتها را بهبود بخشد (۲۷). مقایسه تاثیر تمرین‌های ورزشی و گرسنگی توسط بسیاری از محققان مورد مطالعه قرار گرفته است. یک یافته اخیر نشان می‌دهد که ورزش بهتر از یک برنامه محدودکننده کالری در بیوسنتز کلسترول است (۲۸). تمرین ورزشی کوتاه مدت همراه با مداخلات رژیمی‌تأثیر زیادی بر کاهش خطرات متابولیک و سطوح انسولین ناشتا دارد (۲۹). همانطور که در بالا گزارش شد تنظیم متابولیسم لیپیدی کبد، حسگرهای UPR همراه با تنظیم و کنترل استرس در ER می‌تواند مکانیسم‌های صحیح رتیکولوفاژی را در سلول‌های کبدی و سلامت این سلول‌ها تنظیم کند. در این میان نقش تمرین‌های ورزشی به ویژه تمرین هوازی و همچنین محدودیت کالری بواسطه گرسنگی می‌توانند عوامل مهمی‌در تنظیم UPR و ER باشد. کاهش شاخص‌های اتروژنیک به دنبال افزایش عوامل مرتبط با مسیرهای سیگنال‌دهی UPR مانند ATF6 می‌توانند نقش مهمی‌در کاهش استرس ER و حفظ عملکرد طبیعی سلول داشته باشند. درک تأثیر متقابل دقیق بین اتوفاژی و خطر آسیب‌شناسی‌های مرتبط با سن در ارگانیسم‌ها ممکن است توسعه برنامه‌های کاربردی بالینی که سلامت بلندمدت را ارتقا می‌دهند را تسهیل نماید. القا کننده‌های اتوفاژی با افزایش طول عمر مرتبط و بهبود یافته است ، مطالعات متعدد شواهدی را ارائه کرده اند که اتوفاژی در طول فرآیند پیری به خطر می‌افتد ناکارآمدی اتوفاژی ،طول عمر را در حیوانات آزمایشی مختلف کوتاه می‌کند . افزایش یا ترمیم اتوفاژی نیز به افزایش طول عمر در موجودات مختلف کمک می‌کند این نشان می‌دهد که اتوفاژی یک تنظیم کننده مرکزی پیری است. با این حال، یک سوال مهم و اساسی این است که آیا

ایجاد اتوفاژی به واسطه ورزش و گرسنگی،سلامت طولانی مدت سلول و بافت را تسهیل می‌کند؟ بنابراین هدف از تحقیق حاضر، تاثیر توام گرسنگی و تمرین هوازی دویدن بر شاخص‌های اتروژنیک، توده بدن و بیان ژن ATF6 شبکه اندوپلاسمی کبد سالم رت‌های نرنژاد ویستار می‌باشد.

روش کار

پژوهش تجربی حاضر روی ۳۰ سر رت نر سالم نژاد ویستار با دامنه سنی ۱۸ تا ۲۰ هفته‌ای با میانگین وزن بدن ۲۵/۳۴ ±۳۳۰/۴۰ گرم انجام گرفت. موش‌ها به صورت تصادفی ساده در ۶ گروه ۵ تایی شامل: گروه ۱) کنترل، ۲) گرسنگی، ۳) تمرین ۳ روزه، ۴) تمرین ۵ روزه، ۵) گرسنگی+تمرین ۳ روزه، ۶) گرسنگی+تمرین ۵ روزه تقسیم شدند. رت‌ها در محیطی با میانگین دمای ۱/۴±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴± ۵۵درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات در مرکز علوم حیوانات دانشگاه علوم پزشکی گرگان نگهداری شدند. تمامی رت‌ها به آب وغذای (پلت استاندارد شرکت بهپرورجوندگان (۱۰گرم غذا به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن رت) دسترسی آزاد داشتند. تمام مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها براساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.GOUMS.REC.1401.005 انجام شد.

برنامه تمرینی

کل دوره تمرین شامل دو مرحله آشنایی و تمرین اصلی بود. هدف از مرحله آشنایی، سازگاری با محیط پژوهش و نوار گردان ساخت ایران-تهران برج صنعت ازما مدل (T.S9000)بود. بدین منظور به مدت یک هفته، حیوانات تحت شرایط تمرین آزمایشی به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و تمرین ورزشی اصلی طی ۴هفته به تعداد ۳ و ۵ روز درهفته به مدت ۴۵-۶۰ دقیقه روی تردمیل انجام شد. برنامه تمرین اصلی دراین مطالعه در جدول ۱ آمده است. تمرین رتها روی تردمیل با شیب صفر درجه با سرعت ۱۴ متر در دقیقه می‌با شد. بعد ازطی جلسات تمرین سرعت تردمیل به ۱۶ و ۱۸ متر در دقیقه با شیب صفر درجه رسید (جدول ۱) (۳۰).

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی

	مرحله۱	مرحله ۲	مرحله۳	مرحله ۴	مرحله ۵	مرحله ۶
هفته	سرعت -مدت	سرعت -مدت	سرعت -مدت	سرعت -مدت	سرعت -مدت	سرعت -مدت
هفته اول سازگاری با محیط						
هفته دوم اشنایی با تمرین	۸-۴	۱۰-۸	۵-۳			
هفته اول تمرین	۷-۵	۱۰-۵	۱۴-۲۰	۷-۱۰	۴-۵	-
هفته دوم	۸-۷	۱۴-۷	۱۶-۲۵	۱۲-۱۰	۶-۶	-
هفته سوم	۸-۵	۱۴-۱۰	۱۸-۲۰	۱۴-۱۰	۱۰-۱۰	۵-۵
هفته چهارم	۸-۵	۱۴-۱۰	۱۸-۲۰	۱۴-۱۰	۱۰-۱۰	۵-۵

پروتکل القای گرسنگی

پروتکل گرسنگی به مدت ۴ هفته، هر روز به مدت ۱۴ ساعت در زمان چرخه بیداری (۵/۵ عصر تا ۷/۵ صبح) رت ها اعمال گرد ید. جهت القای گرسنگی، رت های گروه‌های گرسنگی، همان مقدار معمول غذای نرمال (۱۰ گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن رت) مواد غذایی که مابقی گروه ها درطی ۲۴ ساعت در یا فت می‌کرد ند را درطی ۱۰ساعت مصرف می‌کردند (۳۱).

روش بافت برداری

پس از ۴ هفته تمرین و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی بافت برداری انجام شد. حیوانات با گاز CO_2 قربانی شدند و خونگیری بلافاصله از قلب انجام شد. نمونه بافت کبد هر حیوان بلافاصله با سالین شستشو داده ودر تیوب استریل کرایو قرار گرفته و در محلول نیتروژن مایع منجمد شد. نمونه ها تا زمان انجام آزمایشات ارزیابی مقدار تغییرات بیان ژن در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شدند.

روش‌های اندازه‌گیری متغیرها و بیان ژن ATF6

فاکتورهای بیوشیمیایی شامل شاخص های اتروژنیک (CHOL/HDL,TAG/HDL, LDL/HDL) می‌باشد که با استفاده از روش کالریمتری اندازه‌گیری شد.

برای ارزیابی سطوح بیان ژن، ابتدا RNA از بافت‌ها در تمام گروه‌های مورد مطالعه بر اساس پروتکل‌های شرکت یکتا تجهیز آزما (تهران، ایران؛ سریال نامبر: FABRK001) استخراج شد. سپس کیفیت و کمیت RNA با دستگاه نانو دراپ دانشگاه علوم پزشکی گلستان اندازه‌گیری و cDNA توسط کیت پارس توس (مشهد، ایران) سنتز شد. سپس از cDNA برای ارزیابی میزان بیان ژن ATF6 به روش کمی Real-Time PCR با استفاده از روش سایبرگرین SYBR توسط یکتا تجهیز مستر میکس (تهران، ایران با سریال نامبر: YT2552) استفاده شد. ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان یک ژن کنترل داخلی استفاده شد و بیان ژن‌های مورد نظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد (۳۲). پرایمرها ساخت کشور المان به سفارش شرکت پیشگام بیوتک ساخته شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده

Genes	Primer sequence	Nucleotide count
ATF6	For: 5′- CGAGGGAGAGGTGTCTGTTTC -3′	21
	Rev: 5′- GTCTTCACCTGGTCCATGAGG -3′	22
GAPDH	For: 5′- CACTGAGCATCTCCCTC ACAA-3′	22
	Rev: 5′- TGGTATTCGAGAGA AGGGAGG -3′	22

روش‌های آماری

ابتدا از آزمون شاپیرو-ویلک برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک آنوای-یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

نتایج

داده‌های توصیفی متغیرهای پژوهش حاضر در(جدول ۳) گزارش شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بین گروه‌های پژوهش حاضر تفاوت معنی‌داری در میزان وزن ، BMI، LDL/HDL، CHOL/HDL، TAG/HDL و ATF6 نشان داد (P=۰/۰۵) (جدول ۴). طبق جدول۵ آزمون تعقیبی LSD کاهش معناداری در نسبت شاخص‌های اتروژنیک CHOL/HDL وLDL/HDL گروه کنترل باگروه‌های گرسنگی ، ۵روز تمرین ، گرسنگی+ ۳روزتمرین و گرسنگی+ ۵ روزتمرین نشان داد.امادر نسبت شاخص TAG/HDL در گروههای ۵روز تمرین و گرسنگی+۳ و ۵ روز تمرین کاهش معنی داری نشان داد$p\leq ۰/۰۵$.

همچنین در بیان ژن ATF6 نیز بین گروه کنترل با گروههای گرسنگی ،گروه ۳و ۵ روز تمرین وگروههای ۳و ۵ روز تمرین به همراه گرسنگی افزایش معنی داری نشان داد $p\leq ۰/۰۵$.

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای پژوهش

میانگین و انحراف استاندارد	کنترل	گرسنگی	۳ روزتمرین	۵ روزتمرین	گرسنگی+۳ روزتمرین	گرسنگی+ ۵ روزتمرین
weighet	۳۶۱,۴۰±۳۵,۶	۳۰۹,۲۰±۸,۴	۲۹۴,۲۰±۵۱,۱	۲۸۷,۸۰±۳۸,۰	۲۷۸,۸۰±۸,۶۱	۲۶۰,۰۰±۳۴,۶
BMI	۰,۶۹±۰,۰۵۳	۰,۵۶۸±۰,۰۳۷	۰,۵۶±۰,۱۲	۰,۵۳±۰,۰۵۹	۰,۵۱±۰,۰۲۵	۰,۴۷±۰,۰۶۹
LDL/HDL	۳,۰۱±۱,۱۸	۱,۶۹±۰,۷۵	۲,۱۳±۰,۳۴	۱,۵۰±۰,۱۸۱	۰,۸۷±۰,۲۸	۱,۱۴±۱,۰۶
CHOL/HDL	۵,۲۵±۱,۰۳	۳,۹۸±۰,۴۳۹	۴,۳۸±۰,۴۹۹	۳,۵۰±۰,۳۱	۲,۱۲±۰,۷۶	۲,۸۰±۱,۲۵
TAG/HDL	۷,۱۹±۱,۹۷	۷,۱۸±۲,۱۰	۶,۲۴±۱,۵۷	۴,۹۸±۱,۳۸	۲,۳۳±۰,۸۱۱	۳,۳۳±۱,۰۰۶
ATF6	۱,۰۰±۰,۰۰۰	۲۰,۳۱±۸,۳۹	۲۰,۸۰±۱۰,۷۳	۱۰,۴۰±۱,۸۱	۱۸,۲۶±۷,۹۴	۹,۹۶±۳,۸۰

جدول ٤. نتایج تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه معنی‌داری متغیرها

متغیرها		مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	F	P
Weighet final (gr)	بین گروهی	۳۰۳۷۰,۹۶	۶۰۷۴,۱۹	۵	۵,۴۵۹	*۰,۰۰۲
	درون گروهی	۲۶۷۰۶,۳۹	۱۱۱۲,۷۶	۲۴		
BMI gr/(cm)2	بین گروهی	۰,۱۴۱	۰,۰۲۸	۵	۵,۶۱	*۰.۰۰۱
	درون گروهی	۰,۱۲۱	۰,۰۰۵	۲۴		
LDL/HDL mg/dl	بین گروهی	۱۴,۷۴	۲,۹۵	۵	۵,۲۷	*۰.۰۰۱
	درون گروهی	۱۳,۴۱	۰,۵۵	۲۴		
CHOL/HDL mg/dl	بین گروهی	۳۱,۴۲	۶,۲۸	۵	۱۰,۰۲	*۰.۰۰۲
	درون گروهی	۱۵,۰۴	۰,۶۲	۲۴		
TAG/HDL mg/dl	بین گروهی	۱۰۳,۷۱	۲۰,۷۴	۵	۸,۶۳	*۰.۰۰۰۱
	درون گروهی	۵۷,۶۶	۲,۴۰	۲۴		
ATF6 Ng/mol	بین گروهی	۱۵۰۳,۸۴	۳۰۰,۷۶	۵	۶,۷۷	*۰.۰۰۰۱
	درون گروهی	۱۰۶۵,۸۹	۴۴,۴۱	۲۴		

* وجودتفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵

جدول۵. نتایج آزمون تعقیبی LSD جهت مقایسه معنی‌داری گروه کنترل نسبت به دیگر گروهها

	گروه‌ها	Weighet (gr)	BMI gr/(cm)2	LDL/HDL mg/dl	CHOL/HDL mg/dl	TAG/HDL mg/dl	ATF6 mg/dl
کنترل	گرسنگی	*۰,۰۲۱	*۰.۰۰۹	*۰.۰۱	*۰.۰۱	۰.۹۹	*۰.۰۰۰۱
	تمرین ۳ روزه	*۰,۰۰۴	*۰.۰۰۷	۰.۰۷	۰.۰۹	۰.۳۴	*۰.۰۰۰۱
	تمرین ۵ روزه	*۰,۰۰۱	*۰.۰۰۱	*۰.۰۰۴	*۰.۰۰۲	*۰.۰۳	*۰.۰۳
	گرسنگی+تمرین ۳ روزه	*۰,۰۰۰	*۰.۰۰۰۱	*۰.۰۰۰۱	*۰.۰۰۰۱	*۰.۰۰۰۱	*۰.۰۰۰۱
	گرسنگی+تمرین ۵ روزه	*۰,۰۰۰	*۰.۰۰۰۱	*۰.۰۰۱	*۰.۰۰۰۱	*۰.۰۰۱	*۰.۰۴

* وجود تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵

بحث و نتیجه گیری

نتایج میانگین‌های این مطالعه افزایش در بیان ژن atf6 بافت کبد رت‌های نرسالم و کاهش درمقدار وزن و شاخص توده بدن و همچنین نسبت عوامل‌های خطر زای **LDL/HDL**،**TAG/HDL** و**CHOL/HDL** در بین گروه کنترل با سایر گروها نشان داد. نتایج حاکی از تاثیر مداخله **۳**و **۵**روز تمرین وگرسنگی می‌باشد. هموستاز متابولیک برای بقای سلولی و عملکرد مناسب بافت ضروری است. بنابراین تنظیم متابولیک چند سیستمی‌برای سلامتی حیاتی است. سلول‌ها پاسخ‌های استرس انطباقی را فعال می‌کنند تا بتوانند با انواع مختلف استرس کنار بیایند.استرس سلولی ناشی از تجمع غیرطبیعی پروتئین‌های بازشده یا ناقص در ER به عنوان محرک احتمالی بیماری‌های انسانی از جمله سرطان، دیابت، چاقی، تخریب سلول‌های عصبی و بیماری‌های مرتبط با کبد است. تنظیم و نظارت بر پروتئوستاز ER توسط UPR می‌باشد (۳۴،۳۳). بیان شده است که استرس شبکه اندوپلاسمی‌باعث تجمع چربی، التهاب و آپوپتوز کبدی می‌شود. نشان داده شده است که فعالیت‌های ورزشی با کاهش چربی کبد و افزایش حساسیت به انسولین منجر به سلامت کبدی می‌شود (۳۵،۳۶). همچنین فعالیت‌های ورزشی ممکن است سطوح ER را در چندین اندام تعدیل کند و منجر به بهبود هموستاز لیپید در کبد و حتی کل بدن شود (۳۷،۳۸). در این راستا در تحقیقی Li و همکاران (۲۰۲۲) به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر میزان TG، TC و LDL و همچنین بیان ATF6 در کبد رت‌های مدل چرب پرداختند. تمرین ورزشی به مدت ۸ هفته با سرعت ۱۲ متر در دقیقه، شیب صفر درجه، ۶۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته انجام شد. سرعت حدود ۷۰ درصد حداکثر سرعت رت‌ها در هر جلسه بود. نتایج نشان داد تمرین ورزشی هوازی با کاهش TG، TC و LDL در خون، پروفایل لیپیدی را بهبود بخشید. (۳۹).

علاوه بر این، تمرین ورزشی ممکن است ER را در بافت چربی برای درمان بیماری‌های کبدی تنظیم کند. ER لیپولیز را در بافت چربی افزایش می‌دهد. و اسید چرب آزاد در گردش (FFA) را افزایش می‌دهد و FFA احتمالاً برای سنتز لیپید به کبد منتقل می‌شود (۵۳). بنابراین، کاهش خروجی ER و FFA از بافت چربی ممکن است از بیماری‌های کبدی جلوگیری کند.

نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Li و همکاران در یک راستا می‌باشد. ما در نتایج خود شاهد کاهش میزان شاخص‌های اتروژنیک یعنی LDL/HDL، CHOL/HDL و TAG/HDL شد یم و این در حالی است که در تحقیق Li و همکاران نیز میزان این عوامل البته به صورت نیم‌رخ لیپیدی کاهش یافته بود. چندین عامل مانند تکرار و مدت زمان، شدت و انواع تمرین ورزشی برای مزایای محافظتی برسطوح پایین‌تر TC، LDL و سطوح بالاتر HDL فرض شده است. یکی از این عوامل مدت زمان تمرین ورزشی است. مدت زمان تمرین ورزشی تحقیق حاضر ۴ هفته و با دو گروه ۳ روزه و ۵ روزه تمرین در هفته نسبت به تحقیق Li و همکاران

۸ هفته بود، تفاوت داشت؛ با این وجود ما شاهد نتایج حدوداً یکسان بودیم. عاملی دیگر مانند شدت نیز تاثیرگذار می‌باشد. با توجه به نقش شدت تمرین ورزشی برای کاهش عوارض اختلالات کبدی، یک مطالعه نشان داد که هر دو تمرین با شدت بالا با ٪ ۸۰-۶۰ درصد ضربان قلب و با شدت متوسط ٪ ۵۵-۴۵ درصد ضربان قلب باعث کاهش محتوای TG کبدی می‌شود (۴۰). مطالعه دیگری نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) به طور موثری محتوای TG کبدی کاهش می‌دهد و ثابت می‌کند که مزایای تمرین‌های ورزشی محدود به شدت ورزش نیست (۴۱). یک تحقیق دیگر نشان داد که ۴ هفته تمرین هوازی منظم روزانه می‌تواند سطوح TC، TG و LDL را کاهش دهد، اما مداخله کوتاه مدت برای افزایش سطح HDL کافی نبود (۴۲). انواع و تنوع تمرین‌ها یا فعالیت‌های ورزشی می‌تواند عامل مهم دیگر در نتایج باشد؛ اما به صورت کلی فعالیت‌های ورزشی از هر نوع با هر اصول تمرینی می‌توانند منجر به کاهش شاخص‌های اتروژنیک شوند. در این راستا Houghton وهمکاران نشان دادند انجام تمرین هوازی همراه با تمرین مقاومتی منجر به کاهش شاخص‌های اتروژنیک در کبد می‌شود (۴۳). به همین ترتیب ،Bacchi ۲و همکاران پیشنهاد کردند که هر دو تمرین ورزشی روی تردمیل و مقاومتی تأثیر مشابهی بر شاخص‌های اتروژنیک کبدی دارند (۴۴). مطالعه حاضر نشان داد ورزش و محدودیت کالری می‌تواند با افزایش مصرف انرژی، کاهش اضافه بار چربی و همچنین بهبود هموستاز متابولیک کبد را بهبود بخشد.

علاوه بر این، ورزش اثر بهبودی بر متابولیسم لیپید دارد که با بهبود اکسیداسیون، سنتز و محتوای LDs لیپید نشان داده شده است. نتایج ما ممکن است اثرات ورزش بر رتیکولو فاژی و پویایی چربی را به دلایل زیر توضیح دهد: اول، فرآیندی که در آن ورزش لیپوفاژی با واسطه AMPK را فعال می‌کند، LDs را در لیزوزوم‌ها کاهش می‌دهد و منجر به کاهش قابل‌توجه محتوای لیپید می‌شود. دوم، اسیدهای چرب آزاد مشتق شده از لیزوزوم در میتوکندری اکسید می‌شوند تا ATP تولید کنند [۳۹]. به طور همزمان AMPK با ورزش فعال می‌شود و ACC را در بدن مهار می‌کند و۱ -CPT را فعال می‌کند که به ترتیب باعث اکسیداسیون استر زنجیره بلند acyl-CoA از سیتوپلاسم به میتوکندری می‌شود [۴۰]. همچنین بیان ژن ATF6 در نتایج تحقیق حاضر و Li و همکاران به دنبال انجام تمرین ورزشی هوازی افزایش یافته بود. انواع تمرین‌های ورزشی، نوع آزمودنی‌ها (سالم یا بیمار) و روش‌های آزمایشگاهی سنجش پروتئین می‌توانند در نتایج به دست آمده تاثیرگذار باشد. با این وجود ما در دو تحقیق (حاضر و Li و همکاران) با وجود تفاوت در آزمودنی‌ها شاهد افزایش محتوا و بیان ژن پروتئین ATF6 بودیم. گزارش کردیم که سه پروتئین گذرنده، IRE1، PERK و ATF6، واسطه سه مسیر سیگنال‌دهی UPR هستند و نقش مهمی‌در کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی‌و حفظ عملکرد طبیعی سلول دارند (۱۵).

در مطالعات قبلی، حسگر ATF6 پاسخ‌های متناقضی به ورزش داشته است، که نشان می‌دهد فعال‌سازی UPR و ER به شرایط ورزشی و رژیم غذایی خاص (آستانه‌ها) بستگی دارد. این مبدل سیگنال در طول ER فعال می‌شود و بیان آنها تحت تنظیم فعالیت‌ها و تمرین‌های ورزشی بسیار متفاوت است. به عنوان مثال، در تحقیقی نشان داده شد که تمرین ورزشی تداومی‌تا رسیدن به حد خستگی بیان ATF6 را در کبد کاهش داد (۴۵). در مقابل، مطالعه دیگری نشان داد که تمرین هوازی طولانی مدت بیان IRE-1α و PERK را به جای ATF6 مهار می‌کند (۴۶). علاوه بر این، تنظیم رژیم غذایی و ورزش بر روی ER در کبد تأثیر می‌گذارد(۴۷)؛ همچنین نشان داده شده است که فعال‌شدن همزمان ATF6 و PGC-1α منجر به سازگاری تمرین ورزشی در عضله اسکلتی می‌شود (۳۸). نتایج تحقیق‌های گزارش شده بالا رفتارهای متفاوتی از تغییرات پروتئین ATF6 نشان می‌دهد که بسته به شرایط تمرین و دیگر عوامل می‌باشد. با این وجود نتایج تحقیق حاضر افزایش پروتئین ATF6 را به دنبال انجام تمرین هوازی دربافت کبد نشان داد. این افزایش در تمرین ۳ روز

در هفته نسبت به ۵ روز در هفته بیشتر بوده است. همچنین ترکیب تمرین هوازی با گرسنگی در ۳ روز تمرین نسبت به ۵ روز بیان ژن پروتئین ATF6 را بیشتر کرده بود. با توجه به نقش پروتئین ATF6 در واسطه سیگنال‌دهی UPR و نقش مهم آن در کاهش استرس ER، انجام تمرین هوازی و همچنین تمرین هوازی به صورت ترکیب با گرسنگی می‌تواند در حفظ عملکرد طبیعی سلول‌های کبدی تاثیرگذار باشد.

نشان داده شده است که پروتئین ATF6 نقش بسزایی در تنظیم رتیکولوفاژی و سلامت کبد دارد. آبشارهای سیگنالینگ که باعث ایجاد رتیکولوفاژی بر استرس ER می‌شوند، متفاوت هستند. پروتئین ATF6 به همراه دیگر پروتئیه‌ها مانند PERK و آنزیم نیازمند به اینوزیتول ۱ (IRE1)۱ می‌توانند تجمع پروتئین‌های بازشده و/یا دانه‌ها را حس کنند و یک پاسخ رونویسی کلی ایجاد کنند که بر سطوح پروتئین‌های درگیر در اتوفاژی تأثیر بگذارد. بنابراین منجر به راه‌اندازی آبشار سیگنالینگ مرتبط با خانواده ATGها می‌شوند که می‌توانند اتوفاژی و ریتکولوفاژی را شروع و تسهیل کنند (۴۸،۴۹).

در تحقیقی توسط ژانگ چن۲ و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد افزایش اکسیداسیون چربیها در مدل چرب و کاهش التهاب به واسطه افزایش ATF6 پس از انجام تمرین ورزشی در کبد رت‌ها انجام یافت. این محققان بیان کردند ظرفیت و فعالیت شاخه‌های خاص UPR کبدی به‌طور متفاوتی تنظیم می‌شود و این که تمرین ورزشی منظم بر تغییرات مرتبط با UPR کبد رت‌ها تأثیر گذاراست (۵۰). علاوه بر تعامل دو پروتئین (IRE1 و PERK) مسیرها و پروتئین‌های دیگری نیز بر عملکرد ATF6 تاثیرگذار هستند. یک تحقیق نشان داد که ATF6 با عامل تکثیرکننده پراکسی زوم (PPARα)[1] تعامل می‌کند و فعالیت رونویسی PPARα را افزایش می‌دهد و باعث فعال‌شدن اهداف پایین دستی PPARα در رت‌های مقاوم به انسولین ناشی از رژیم غذایی می‌شود. ATF6 استئاتوز کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را با تنظیم اتوفاژی با واسطه mTOR تشدید می‌کند (۵۱،۵۲)؛ بنابراین فعالیت‌ها و تمرین‌های ورزشی به عنوان استرس ،عملکردهای UPR شامل ۱) بازگرداندن عملکرد طبیعی سلول با توقف ترجمه پروتئین، ۲) تخریب پروتئین‌هایی که به اشتباه باز شده‌اند و ۳) افزایش تولید چاپرون‌های مولکولی را می‌تواند تغییر دهد. این تغییرهای ایجاد شده توسط تمرین‌های ورزشی با توجه به مدت، شدت، نوع تمرین‌های ورزشی و همچنین شرایط آزمودنی‌ها می‌تواند متفاوت باشد (۵۳).

محدودیت غذایی از طریق گرسنگی و همچنین ترکیب گرسنگی با تمرین‌های ورزشی می‌تواند راه‌کاری دیگر در سلامت کبد باشد (۵۵). Browning و همکاران (۲۰۱۲) تحقیقی در این راستا با عنوان تأثیر گرسنگی کوتاه‌مدت بر متابولیسم چربی، گلوکز و انرژی کبد و عضلات اسکلتی در زنان و مردان سالم بررسی نمودند. میزان کلسترول پلاسما رو به افزایش داشت. در مقابل میزان تری‌گلیسرید تمایل به کاهش داشت (۵۶). در نتایج تحقیق حاضر ما شاهد کاهش میزان CHOL/HDL و TAG/HDL بودیم. این در حالی است که در تحقیق Browning و همکاران میزان CHOL پلاسما افزایش، در حالی که میزان TG کاهش داشت. عواملی مانند نوع آزمودنی و شرایط گرسنگی در نتایج و تناقضات بدست آمده بسیار مهم هستند. همچنین در تحقیقی Cai و همکاران (۲۰۱۹) اثرات گرسنگی متناوب بر CHOL، TG و وزن بدن در کبد را بررسی نمودند. گرسنگی متناوب منجر به کاهش قابل‌توجهی در CHOL تام و TG در مقایسه با هر دو گروه کنترل و گروه تغذیه با محدودیت زمانی شد. همچنین کاهش قابل توجهی در وزن بدن و توده چربی در گروه‌های گرسنگی متناوب و گروه تغذیه با محدودیت زمانی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (۵۷).

۲ chen x, zhang f

گرسنگی یک حالت تطبیقی از متابولیسم است که به مصرف مواد مغذی خارجی محدود می‌شود. این می‌تواند یک تغییر شدید در متابولیسم تحت در دسترس بودن کم مواد مغذی باشد. تغییرات متابولیکی در بافت‌های مختلف از جمله کبد توسط عوامل وابسته به گرسنگی مانند فاکتورهای رونویسی (TFs)[1] گیرنده گلوکوکورتیکوئید (GR)، پروتئین اتصال دهنده عنصر پاسخ‌دهنده AMP حلقوی (CREB)[2]، (FOXO)[3]، TFEB و PPARs به دست می‌آید (۵۸).بنابراین دو عامل تمرین هوازی و گرسنگی می‌توانند به صورت مجزا و/یا با هم در سلامت بافت کبد تاثیر بسزایی داشته باشند. این تغییرات مثبت متابولیکی می‌تواند با کاهش سطوح سرمی‌آنزیم‌های کبدی مشخص شود (۵۹).

نتیجه گیری

حفظ هموستاز مواد مغذی و انرژی برای بقا و عملکرد سلول‌ها و ارگانیسم‌ها در پاسخ به استرس محیطی بسیار مهم است. سلول‌ها یک مسیر کاتابولیک ناشی از استرس به نام اتوفاژی ورتیکولو فاژی را برای سازگاری با شرایط استرس مانند گرسنگی و ورزش ایجاد کرده اند. در طی اتوفاژی، ساختارهای سلولی آسیب دیده یا غیر ضروری در لیزوزوم‌ها شکسته می‌شوند و متابولیت‌های حاصل برای فرآیندهای بیوسنتزی هسته‌ای یا تولید انرژی مجددا استفاده می‌شوند. مطالعات ما نشان داده است که اتوفاژی می‌تواند انواع مختلفی از ذخایر مواد مغذی را هدف قرار داده و تجزیه کند و متابولیت‌ها و سوخت‌های مختلفی از جمله اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها را تولید کند. محرومیت از انرژی باعث کاتابولیسم اتوفاژیک می‌شود، این تحقیق نشان داد چگونه اتوفاژی با هضم قسمتهای اسیب دیده سلول به چرخه حیات سلول کمک می‌کند و چگونه متابولیت‌های مشتق شده از ماکرو اتو فاژی و انتخابی بازیافت می‌شوند و در طول شرایط استرس وارد انواع مسیرهای بیوانرژیک و آنابولیک می‌شوند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل رساله دکتری می‌باشد که در مرکز علوم حیوانات دانشگاه علوم پزشکی گرگان انجام شده است . از تمامی‌شرکت کنندگان در این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1. Marciniak SJ, Chambers JE, Ron D. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress in disease. Nature Reviews Drug Discovery. 2022 Feb;21(2):115-40.
2. Celik C, Lee SY, Yap WS, Thibault G. Endoplasmic reticulum stress and lipids in health and diseases. Progress in Lipid Research. 2022 Nov 13:101198.
3. Hetz C, Zhang K, Kaufman RJ. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. Nature reviews Molecular cell biology. 2020 Aug;21(8):421-38.
4. Schulze RJ, Schott MB, Casey CA, Tuma PL, McNiven MA. The cell biology of the hepatocyte: A membrane trafficking machine. Journal of Cell Biology. 2019 Jul 1;218(7):2096-112.
5. Schwarz DS, Blower MD. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. Cellular and molecular life sciences. 2016 Jan;73(1):79-94.
6. Duwaerts CC, Maiers JL. ER Disposal Pathways in Chronic Liver Disease: Protective, Pathogenic, and Potential Therapeutic Targets. Frontiers in Molecular Biosciences. 2022:1214.
7. Sun Z, Brodsky JL. Protein quality control in the secretory pathway. Journal of Cell Biology. 2019 Oct 7;218(10):3171-87.
8. Guo YX, Han B, Yang T, Chen YS, Yang Y, Li JY, Yang Q, Xie RJ. Family with sequence similarity 134 member B-mediated reticulophagy ameliorates hepatocyte apoptosis induced by dithiothreitol. World Journal of Gastroenterology. 2022 Jun 6;28(23):2569.
9. Zielke S, Kardo S, Zein L, Mari M, Covarrubias-Pinto A, Kinzler MN, Meyer N, Stolz A, Fulda S, Reggiori F, Kögel D. ATF4 links ER stress with reticulophagy in glioblastoma cells. Autophagy. 2021 Sep 2;17(9):2432-48.

[1] Transcription Factors
[2] Cyclic AMP Responsive Element Binding Protein
[3] forkhead box class O

10. Ipsen DH, Lykkesfeldt J, Tveden-Nyborg P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. Cell Mol Life Sci. 2018;75:3313–3327.
11. Katsiki N, Mikhailidis DP, Mantzoros CS. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. Metabolism. 2016;65:1109–1123.
12. Eslam M, Sarin SK, Wong VW, Fan JG, Kawaguchi T, Ahn SH, et al. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver clinical practice guidelines for the diagnosis and management of metabolic associated fatty liver disease. Hepatol Int. 2020;14:889–919.
13. Song MJ, Malhi H. The unfolded protein response and hepatic lipid metabolism in non alcoholic fatty liver disease. Pharmacology & therapeutics. 2019 Nov 1;203:107401.
14. Zheng W, Sun Q, Li L, Cheng Y, Chen Y, Lv M, Xiang X. Role of endoplasmic reticulum stress in hepatic glucose and lipid metabolism and therapeutic strategies for metabolic liver disease. International Immunopharmacology. 2022 Dec 1;113:109458.
15. Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. science. 2011 Nov 25;334(6059):1081-6.
16. Hillary RF, FitzGerald U. A lifetime of stress: ATF6 in development and homeostasis. Journal of Biomedical Science. 2018 Dec;25(1):1-0.
17. Kroeger H, Grandjean JM, Chiang WC, Bindels DD, Mastey R, Okalova J, Nguyen A, Powers ET, Kelly JW, Grimsey NJ, Michaelides M. ATF6 is essential for human cone photoreceptor development. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2021 Sep 28;118(39):e2103196118.
18. Glembotski CC, Rosarda JD, Wiseman RL. Proteostasis and beyond: ATF6 in ischemic disease. Trends in molecular medicine. 2019 Jun 1;25(6):538-50.
19. Thirupathi A, Wang M, Lin JK, Fekete G, István B, Baker JS, Gu Y. Effect of different exercise modalities on oxidative stress: a systematic review. BioMed Research International. 2021 Feb 11;2021.
20. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. European journal of sport science. 2019 Aug 9;19(7):994-1003.
21. Passos E, Pereira C, Gonçalves IO, Faria A, Ascensão A, Monteiro R, Magalhães J, Martins MJ. Physical exercise positively modulates nonalcoholic steatohepatitis-related hepatic endoplasmic reticulum stress. Journal of Cellular Biochemistry. 2022 Apr 25.
22. Ruan L, Li F, Li S, Zhang M, Wang F, Lv X, Liu Q. Effect of different exercise intensities on hepatocyte apoptosis in HFD-induced NAFLD in rats: the possible role of endoplasmic reticulum stress through the regulation of the IRE1/JNK and eIF2α/CHOP signal pathways. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2021 Mar 15;2021.
23. Longo VD, Mattson MP. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. Cell metabolism. 2014 Feb 4;19(2):181-92.
24. De Cabo R, Mattson MP. Effects of intermittent fasting on health, aging, and disease. New England Journal of Medicine. 2019 Dec 26;381(26):2541-51.
25. Marin-Alejandre BA, Abete I, Cantero I, Monreal JI, Elorz M, Herrero JI, Benito-Boillos A, Quiroga J, Martinez-Echeverria A, Uriz-Otano JI, Huarte-Muniesa MP. The metabolic and hepatic impact of two personalized dietary strategies in subjects with obesity and nonalcoholic fatty liver disease: the fatty liver in obesity (FLiO) randomized controlled trial. Nutrients. 2019 Oct 22;11(10):2543.
26. Zouhal H, Bagheri R, Ashtary-Larky D, Wong A, Triki R, Hackney AC, Laher I, Abderrahman AB. Effects of Ramadan intermittent fasting on inflammatory and biochemical biomarkers in males with obesity. Physiology & Behavior. 2020 Oct 15;225:113090.
27. Zouhal H, Bagheri R, Triki R, Saeidi A, Wong A, Hackney AC, Laher I, Suzuki K, Ben Abderrahman A. Effects of Ramadan intermittent fasting on gut hormones and body composition in males with obesity. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2020 Aug;17(15):5600.
28. Cho AR, Moon JY, Kim S, An KY, Oh M, Jeon JY, Jung DH, Choi MH, Lee JW. Effects of alternate day fasting and exercise on cholesterol metabolism in overweight or obese adults: a pilot randomized controlled trial. Metabolism. 2019 Apr 1;93:52-60.
29. Ho M, Garnett SP, Baur LA, Burrows T, Stewart L, Neve M, Collins C. Impact of dietary and exercise interventions on weight change and metabolic outcomes in obese children and adolescents: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. JAMA pediatrics. 2013 Aug 1;167(8):759-68.
30. Alex S, Boss A, Heerschap A, Kersten S. Exercise training improves liver steatosis in mice. Nutrition & metabolism. 2015 Dec;12(1):1-1.
31. Malinowski B, Zalewska K, Węsierska A, Sokołowska MM, Socha M, Liczner G, Pawlak-Osińska K, Wiciński M. Intermittent fasting in cardiovascular disorders—an overview. Nutrients. 2019 Mar 20;11(3):673.

32. Bayani H, Asgharpour H, Askari A, Rezaeeshirazi R. The Effect of four Weeks of Continuous Aerobic Training and Starvation on the Expression of Gene Pink1 and Bnibp3 in liver Tissue, liver Enzymes and lipid profile in Wistar Fatty Model Rats. Jorjani Biomedicine Journal. 2022 Oct 10;10(3):15-25.
33. Hetz C, Axten JM, Patterson JB. Pharmacological targeting of the unfolded protein response for disease intervention. Nature chemical biology. 2019 Aug;15(8):764-75.
34. Karagöz GE, Acosta-Alvear D, Walter P. The unfolded protein response: detecting and responding to fluctuations in the protein-folding capacity of the endoplasmic reticulum. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2019 Sep 1;11(9):a033886.
35. Younossi ZM, Loomba R, Rinella ME, Bugianesi E, Marchesini G, Neuschwander-Tetri BA, Serfaty L, Negro F, Caldwell SH, Ratziu V, Corey KE. Current and future therapeutic regimens for nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2018 Jul;68(1):361-71.
36. Keating SE, Adams LA. Exercise in NAFLD: Just do it. Journal of hepatology. 2016 Oct 1;65(4):671-3.
37. Ogborn DI, McKay BR, Crane JD, Parise G, Tarnopolsky MA. The unfolded protein response is triggered following a single, unaccustomed resistance-exercise bout. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2014 Sep 15;307(6):R664-9.
38. Wu J, Ruas JL, Estall JL, Rasbach KA, Choi JH, Ye L, Boström P, Tyra HM, Crawford RW, Campbell KP, Rutkowski DT. The unfolded protein response mediates adaptation to exercise in skeletal muscle through a PGC-1α/ATF6α complex. Cell metabolism. 2011 Feb 2;13(2):160-9.
39. Li J, Huang L, Xiong W, Gu C, Zhang S, Xue X. Effect of aerobic exercise on GRP78 and ATF6 expressions in mice with non-alcoholic fatty liver disease. Sports Medicine and Health Science. 2022 Nov 22.
40. Zhang HJ, He J, Pan LL, Ma ZM, Han CK, Chen CS, Chen Z, Han HW, Chen S, Sun Q, Zhang JF. Effects of moderate and vigorous exercise on nonalcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial. JAMA internal medicine. 2016 Aug 1;176(8):1074-82.
41. Sargeant JA, Bawden S, Aithal GP, Simpson EJ, Macdonald IA, Turner MC, Cegielski J, Smith K, Dorling JL, Gowland PA, Nimmo MA. Effects of sprint interval training on ectopic lipids and tissue-specific insulin sensitivity in men with non-alcoholic fatty liver disease. European Journal of Applied Physiology. 2018 Apr;118(4):817-28.
42. Kannan U, Vasudevan K, Balasubramaniam K, Yerrabelli D, Shanmugavel K, John NA. Effect of exercise intensity on lipid profile in sedentary obese adults. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. 2014 Jul;8(7):BC08.
43. Houghton D, Thoma C, Hallsworth K, Cassidy S, Hardy T, Burt AD, Tiniakos D, Hollingsworth KG, Taylor R, Day CP, McPherson S. Exercise reduces liver lipids and visceral adiposity in patients with nonalcoholic steatohepatitis in a randomized controlled trial. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2017 Jan 1;15(1):96-102.
44. Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, Zanolin E, Schena F, Bonora E, Moghetti P. Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized Trial). Hepatology. 2013 Oct;58(4):1287-95.
45. Pinto AP, Da Rocha AL, Oliveira LD, Morais GP, De Vicente LG, Cintra DE, Pauli JR, Moura LP, Ropelle ER, da Silva AS. Levels of hepatic activating transcription factor 6 and caspase-3 are downregulated in mice after excessive training. Frontiers in endocrinology. 2017 Sep 26;8:247.
46. Kristensen CM, Brandt CT, Ringholm S, Pilegaard H. PGC-1α in aging and lifelong exercise training-mediated regulation of UPR in mouse liver. Experimental Gerontology. 2017 Nov 1;98:124-33.
47. Chapados NA, Lavoie JM. Exercise training increases hepatic endoplasmic reticulum (er) stress protein expression in MTP-inhibited high-fat fed rats. Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease. 2010 Apr;28(3):202-10.
48. Kohno K. Stress-sensing mechanisms in the unfolded protein response: similarities and differences between yeast and mammals. Journal of biochemistry. 2010 Jan 1;147(1):27-33.
49. Cebollero E, Reggiori F, Kraft C. Reticulophagy and ribophagy: regulated degradation of protein production factories. International journal of cell biology. 2012 Oct;2012.
50. Chen X, Zhang F, Gong Q, Cui A, Zhuo S, Hu Z, Han Y, Gao J, Sun Y, Liu Z, Yang Z. Hepatic ATF6 increases fatty acid oxidation to attenuate hepatic steatosis in mice through peroxisome proliferator–activated receptor α. Diabetes. 2016 Jul 1;65(7):1904-15.
51. Sun X, Li W, Deng Y, Dong B, Sun Y, Xue Y, Wang Y. Hepatic conditional knockout of ATF6 exacerbates liver metabolic damage by repressing autophage through MTOR pathway. Biochemical and biophysical research communications. 2018 Oct 20;505(1):45-50.
52. Bogdanovic E, Kraus N, Patsouris D, Diao L, Wang V, Abdullahi A, Jeschke MG. Endoplasmic reticulum stress in adipose tissue augments lipolysis. Journal of cellular and molecular medicine. 2015 Jan;19(1):82-91.

53. Wang L, Zhang B, Huang F, Liu B, Xie Y. Curcumin inhibits lipolysis via suppression of ER stress in adipose tissue and prevents hepatic insulin resistance [S]. Journal of lipid research. 2016 Jul 1;57(7):1243-55.
54. Khadir A, Kavalakatt S, Abubaker J, Cherian P, Madhu D, Al-Khairi I, Abu-Farha M, Warsame S, Elkum N, Dehbi M, Tiss A. Physical exercise alleviates ER stress in obese humans through reduction in the expression and release of GRP78 chaperone. Metabolism. 2016 Sep 1;65(9):1409-20.
55. Sasaki T, Kuboyama A, Mita M, Murata S, Shimizu M, Inoue J, Mori K, Sato R. The exercise-inducible bile acid receptor Tgr5 improves skeletal muscle function in mice. Journal of Biological Chemistry. 2018 Jun 29;293(26):10322-32.
56. Browning JD, Baxter J, Satapati S, Burgess SC. The effect of short-term fasting on liver and skeletal muscle lipid, glucose, and energy metabolism in healthy women and men. Journal of lipid research. 2012 Mar 1;53(3):577-86.
57. Cai H, Qin YL, Shi ZY, Chen JH, Zeng MJ, Zhou W, Chen RQ, Chen ZY. Effects of alternate-day fasting on body weight and dyslipidaemia in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised controlled trial. BMC gastroenterology. 2019 Dec;19(1):1-8.
58. Goldstein I, Hager GL. Transcriptional and chromatin regulation during fasting–the genomic era. Trends in Endocrinology & Metabolism. 2015 Dec 1;26(12):699-710.
59. Davoodi M. The effect of eight weeks selected aerobic exercise on liver parenchyma and liver enzymes (AST, ALT) of fat liver patients. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences. 2012;14.

Original Article

The Combined Effect of Fasting and Aerobic Exercise on Atherogenic Indices, Body Mass And ATF6 Gene Expression in Healthy liver Endoplasmic Reticulum of Wistar Rats

Received: 19/02/2023 –Accepted: 10/07/2023

Monireh Khalili[1]
Habib Asgharpour[2*]
Asra Askari[3*]
Jahanbakhsh Asadi[4]

[1] *Phd student of sports physiology, Department of Physical Education, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran*

[2] *Assistant Professor of Physical Education and Sports Sciences, Department of Physical Education, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran.*

[3] *Assistant Professor of Sports Physiology, Department of Physical Education, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran*

[4] *Full Professor of Metabolic Disorders Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran*

Corresponding authors:
1.Dr. Habib Asgharpour, Assistant Professor of Physical Education and Sports Science, Department of Physical Education, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran.
Email:
Dr. Habibasgharpour@aliabadiau.ac.ir

2.Dr. Asra Askari, Assistant Professor of Sports Physiology, Department of Physical Education, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran
Email: a.askari@gorganiau.ac.ir

Abstract

Introduction

Endoplasmic reticulum plays an essential role in many cellular pathways. Exercise and fasting can lead to liver health by activating mechanisms such as reticulophagy. Therefore, the aim of the current research is to investigate the effect of fasting and aerobic exercise on atherogenic indicators, body mass and ATF6 gene expression in the endoplasmic reticulum of healthy liver of Wistar rats.

Material and Method

In this experimental research, 30 Wistar rats (18 weeks old) with a weight range of 330.40 ± 25.34 grams were selected and divided into six groups: 1) control 2) starvation 3) 3 days of training 4) 5 days of training 5) 3 Day of training + starvation 6) 5 days of training + starvation were divided. The rats in the training group trained on the treadmill for one month, 3 and 5 sessions a week for one hour. Starvation was for 14 hours when the rats were awake, which was done continuously for one month. Data analysis was performed using one-way ANOVA and post hoc LSD statistical tests in SPSS version 23 software. A significance level of $P \geq 0.05$ was considered.

Results

Data analysis showed a significant decrease in BMI, LDL/HDL, CHOL/HDL, TAG/HDL and a significant increase in ATF6 gene expression ($P \geq 0.05$).

Conclusion

Aerobic training with starvation led to liver health by reducing atherogenic indicators. Also, increasing the expression of ATF6 gene in the liver through exercise and starvation can lead to the regulation of reticulophagia and liver health.

Key words

starvation, aerobic exercise, atherogenic, activator of transcription factor 6, endoplasmic reticulum

Acknowledgement: There is no conflict of interest