مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۸، شماره ۵، آذر و دی ۱۴۰۲(شماره پی در پی ۱۶۰)

اثر تمرین تناوبی و امگا-۳ بر بیوژنز میتوکندری بافت کبدی موش‌های کبد چرب غیرالکلی

مصطفی کاظمی[۱]، احمد عبدی[۱*]، جواد مهربانی[۲]، علیرضا براری[۱]

[۱]گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران، [۲]گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۱/۱۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: بیماری کبد چرب غیرالکلی(NAFLD) یکی از علل اصلی بیماری مزمن کبدی در سراسر جهان است. نشان داده شده که اختلال در عملکرد میتوکندری ارتباط نزدیکی با NAFLD دارد. لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی اثر تمرین تناوبی و امگا ۳ بر بیوژنز میتوکندری بافت کبدی موش‌های کبد چرب غیرالکلی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۱ در دانشگاه آزاد آمل انجام شد، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۷/۸۲ ± ۱۵۶/۹۸ گرم در پنج گروه کنترل ـ سالم(CN)، بیمار(NAFLD)، بیمار- تمرین(TRNAF)، بیمار- مکمل(SUPNAF) و بیمار- تمرین- مکمل(TRSUPNAF) قرار گرفتند. گروه‌های مکمل، طی دوره مداخله روزانه ۱ گرم امگا-۳(به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را به صورت خوراکی دریافت کردند. برنامه تمرین تناوبی شامل دویدن روی تردمیل با سرعت ۲۸-۱۴ متر در دقیقه، پنج روز هفته به مدت هشت هفته اجرا شد. میزان بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای -۱، فاکتور رونویسی A میتوکندری و سیرتوئین-۳ به روش ریل تایم پی‌سی‌آر اندازه‌گیری شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: القای کبد چرب غیر الکلی باعث کاهش بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای -۱، فاکتور رونویسی A میتوکندری و سیرتوئین -۳ شد (p=۰/۰۰۰۱). بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱، فاکتور رونویسی A میتوکندری و سیرتوئین -۳ در گروه‌های بیمار- تمرین (به ترتیب؛ p=۰/۰۴۱، p=۰/۰۴۸، p=۰/۰۴۳ و p=۰/۰۳۵)، بیمار- مکمل (به ترتیب؛ p=۰/۰۴۴، p=۰/۰۴۲، p=۰/۰۳۷ و p=۰/۰۳۳) و بیمار- تمرین- مکمل (به ترتیب؛ p=۰/۰۰۰۱، p=۰/۰۰۰۱ و p=۰/۰۰۰۱) نسبت به بیمار و هم‌چنین بیمار- تمرین- مکمل نسبت به گروه بیمار- تمرین (به ترتیب؛ p=۰/۰۴۱، p=۰/۰۴۰، p=۰/۰۳۹ و p=۰/۰۴۳) و بیمار- مکمل (به ترتیب؛ p=۰/۰۳۸، p=۰/۰۴۶، p=۰/۰۴۶ و p=۰/۰۴۵) افزایش معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: داده‌های حاضر نشان داد که تمرین ورزشی و هم‌چنین امگا-۳ در شرایط NAFLD قادر به تعدیل بیوژنز میتوکندری از طریق افزایش در ژن‌های مؤثر در این مسیر است. هم‌چنین ترکیب فعالیت ورزشی تناوبی و مکمل‌سازی امگا-۳ دارای اثرات هم‌افزایی بوده است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ورزشی، امگا-۳، بیوژنز میتوکندری و کبد چرب غیر الکلی

[*] **نویسنده مسئول: احمد عبدی،** آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: a.abdi58@gmail.com

مقدمه

بیماری کبد چرب غیر الکلی(NAFLD)[۱] واژه‌ای است که برای طیفی از بیماری‌های پیشرونده کبدی از جمله استئاتوز ساده، استئاتوهپاتیت غیر الکلی(NASH)[۲] همراه با فیبروز، سیروز کبدی و کارسینوم سلول‌های کبدی[۳] به کار می‌رود(۱). گزارش شده که تعداد بیماران NAFLD در ایالات متحده از ۸۳/۱ میلیون نفر در سال ۲۰۱۵ به ۱۰۹ میلیون در سال ۲۰۳۰ افزایش یابد و بار اقتصادی سنگینی را به همراه داشته باشد. هم‌چنین تقاضا برای پیوند کبد را بیشتر کرده و خطر سرطان کبد را افزایش می‌دهد(۲). پیشرفت از استئاتوز ساده به NASH به دنبال تولید گونه‌های اکسیژن فعال(ROS)[۴] و نیتروژن فعال(RNS)[۵] و هم‌چنین افزایش سمیت چربی[۶] و سایتوکاین‌های التهابی رخ می‌دهد(۳). منابع اصلی این اکسیدان‌ها میتوکندری است که مسئول متابولیسم چربی نیز می‌باشد. بنابراین، میتوکندری نقش مهمی در آسیب‌شناسی و پیشرفت استئاتوز دارد. از آن جایی‌که میتوکندری‌ها اندامک‌های حیاتی تولید انرژی هستند، کاهش محتوای میتوکندری تا حدی مسئول اختلال در عملکرد اکسیداسیون اسیدهای چرب در افراد کم تحرک است(۴). هم‌چنین چاقی با کاهش محتوای میتوکندری همراه است. بنابراین، به منظور بهبود عملکرد بافت‌ها، استفاده از فعالیت ورزشی برای تحریک بیوژنز میتوکندری جهت حفظ استخر میتوکندری بسیار مهم است. گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا(PGC-1α)[۷] عامل کلیدی در بیوژنز میتوکندری بوده که با اهداف پایین دست از قبیل فاکتورهای تنفسی هسته‌ای(Nrfs)[۸] و فاکتور رونویسی A میتوکندری(TFAM)[۹] همکاری می‌کند تا تکثیر و رونویسی ژنوم‌های میتوکندری را فعال کند(۵) سیرتوئین-۳ (SIRT3)[۱۰] عضوی از خانواده سیرتوئین‌ها است که بیشتر در ماتریکس میتوکندری قرار دارد و مسیرهای اکسیداتیو میتوکندری را با استیل‌زدایی برگشت‌پذیر پروتئین‌های میتوکندری تعدیل می‌کند. پژوهش‌های قبلی نشان داد که SIRT3 در تنظیم بیوژنز میتوکندری و تنفس میتوکندری با افزایش بیان PGC-1α و TFAM و افزایش سطح کمپلکس‌های OXPHOS[۱۱] نقش دارد(۶). علاوه بر این، غیر فعال کردن SIRT3 منجر به اختلال در سیگنال‌دهی انسولین و افزایش فشار اکسایشی در عضلات اسکلتی می‌شود(۷).[۱] بر این اساس، فعالیت ورزشی اغلب به عنوان یک استراتژی غیردارویی برای کاهش عوامل خطر سندرم متابولیک توصیه می‌شود(۸). فعالیت ورزشی نه تنها می‌تواند سایتوکاین‌های التهابی را کاهش دهد، بلکه باعث تقویت بیوژنز میتوکندری و

1-Nonalcoholic Fatty Liver Disease(NAFLD)
2-Nonalcoholic Steatohepatitis(NASH)
3-Hepatocellular Carcinoma
4-Reactive Oxygen Species(ROS)
5-Reactive Nitrogen Species
6-Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma
7-Coactivator 1-Alpha(PGC-1α)
8-Nuclear respiratory factors(Nrfs)
9-Transcription Factor A, Mitochondrial(TFAM)
10-Sirtuin 3
11-Oxidative Phosphorylation

افزایش پویایی ساختاری از طریق بیوژنز و میتوفاژی می‌شود(۹). تاسکین و همکاران افزایش نشان‌گرهای بیوژنز میتوکندری از قبیل PGC-1α، Nrf1، Tfam را به دنبال فعالیت ورزشی با شدت کم نشان دادند(۱۰). هم‌چنین خواجوند عبدینی و همکاران نشان دادند که تمرین با شدت متوسط روش مناسبی برای بهبود عملکرد میتوکندری در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب می‌باشد(۱۱). با این وجود در پژوهشی که روی موش‌های صحرایی نشان داده شد که تمرین مقاومتی تأثیر معنی‌داری بر بیان Nrf2 ندارد(۱۲)، که تا حدی با نتایج مشاهده شده پژوهش‌های قبلی در تعارض می‌باشد. علاوه بر این نشان داده شده که امگا۳ می‌تواند از اختلال در عملکرد میتوکندری جلوگیری کند. افزایش بیان فاکتورهای رونویسی بیوژنز میتوکندری از جمله PGC-1α و Nrf1 در عضله اسکلتی موش‌هایی که به مدت ۱۰ هفته دارای رژیم غذایی پر چربی(HFD)(۶۰ درصد چربی) با روغن ماهی(۳/۴ درصد کیلوکالری از n-3 PUFAs[1]) بودند، مشاهده شد(۱۳). هم‌چنین در موش‌های HFD، امگا۳ قادر به افزایش شاخص‌های بیوژنز میتوکندری از قبیل PGC-1α، SIRT1 و Mfn2[2] بوده و القای آنزیم آنتی‌اکسیدانی HO-1[3] را افزایش داد (۱۴). افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب به دنبال NAFLD ممکن است میزان نشت الکترون از زنجیره تنفسی میتوکندری را افزایش داده و میزان تولید ROS را افزایش دهد و باعث بر هم خوردن رودوکس سلولی شود(۱۵). برهم خوردن رودوکس سلولی در کبد می‌تواند بر بیوژنز میتوکندری تأثیر بسزای داشته باشد. بنابراین حفظ این مسیر برای عملکرد متابولیکی کبد بسیار مهم می‌باشد. Nrf2 نقش مهمی در حفظ هموستاز ردوکس سلولی از طریق تعدیل متابولیسم میتوکندری دارد. امگا۳ و برخی از متابولیت‌های آن اثر محافظتی خود را از طریق فعال کردن مسیر Nrf2 اعمال کرده(۱۵) و با تأثیر بر PGC-1α(۱۴) باعث بهبود عملکرد میتوکندری می‌شود. در تحقیق کریستوفانو و همکاران نشان داده شد که مصرف روغن ماهی به عنوان یک ماده غنی از امگا۳ قادر به افزایش Nrf2 و PGC-1α کبدی موش‌های NAFLD(۱۵). هم‌چنین روسیگنول و همکاران نیز بیان کردند که EPA/DHA سطح PGC-1α را افزایش داده و باعث بهبود بیوژنز میتوکندری در کبد می‌شود(۱۶). هم‌چنین به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی هوازی نیز بر این عوامل تأثیر دارد، هر چند تناقضاتی در نتایج نیز مشاهده شده است(۱۲).[1]با توجه به اهمیت بیوژنز میتوکندری در NAFLD و نقش مهم فعالیت ورزشی و مکمل امگا۳ در بهبود اختلالات کبدی از طریق تأثیری که بر عملکرد میتوکندری از طرق مختلف دارد، فرض این است که ترکیب تمرین تناوبی و مکمل امگا۳ تأثیر بیشتری نسبت به هر کدام بر شاخص‌های بیوژنز میتوکندری در موش‌های صحرایی NAFLD داشته

1-N-3 Polyunsaturated Fatty Acids
2-Mitofusin-2
3-Heme Oxygenase-1

باشد، لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی اثر تمرین تناوبی و امگا ۳ بر بیوژنز میتوکندری بافت کبدی موش‌های کبد چرب غیر الکلی در موش‌های صحرایی نزاد ویستار بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۱ در دانشگاه آزاد آمل انجام شد، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۷/۸۲ ± ۱۵۶/۹۸ گرم به عنوان نمونه انتخاب و به مرکز پژوهش منتقل شدند. حجم نمونه بر اساس نتایج پژوهش‌های پیشین، در سطح معنی‌داری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵ درصد(خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم‌افزار G-Power به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند(۱۷). معیار ورود به مطالعه حاضر شامل نر بودن موش‌ها، سلامت کامل موش‌ها و عدم استفاده از هرگونه دارو بود. معیار خروج از مطالعه عدم اجرای پروتکل تمرینی و مصرف نکردن مکمل و آسیب حین اجرا تمرین بود.

حیوانات در شرایط استاندارد نگهداری شدند. در تمام مدت آب و غذا(به صورت پلت) به اندازه کافی و آزادانه دریافت کردند. پس از انتقال موش‌های صحرایی به آزمایشگاه و آشنایی با فعالیت ورزشی روی تردمیل مخصوص جوندگان، به طور تصادفی به دو گروه بیمار NAFLD و کنترل ـ سالم(CN) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در گروه کنترل به مدت ۶ هفته تحت رژیم غذایی استاندارد(شامل ۱۲ درصد چربی، ۵۷ درصد کربوهیدرات، ۲۸ درصد پروتئین و ۳ درصد سایر موارد) قرار گرفتند، در حالی که جهت القاء NAFLD در موش‌ها، حیوانات به مدت ۶ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب(شامل ۲۲ درصد چربی، ۵۰ درصد کربوهیدرات، ۲۴ درصد پروتئین و ۴ سایر موارد) قرار گرفتند(۱۸)(جدول ۱). هم‌چنین پس از ۶ هفته رژیم غذایی پرچرب، با بررسی‌های بیوشیمیایی و هیستولوژیک علایم القاء کبد چرب مورد تأیید قرار گرفت. موش‌های صحرایی گروه بیمار مجددا به ۴ زیر گروه تجربی شامل؛ بیمار(NAFLD)، بیمار ـ تمرین(TRNAF)، بیمار ـ مکمل(SUPNAF) و بیمار ـ تمرین ـ مکمل(TRSUPNAF) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی گروه تمرین، یک برنامه هشت هفته‌ای(۵ روز هفته) تمرین تناوبی را اجرا کردند، در حالی که دیگر موش‌های صحرایی در هیچ برنامه تمرینی شرکت داده نشدند(جدول ۱).

جدول ۲ پروتکل تمرین تناوبی را برای موش‌های صحرایی مبتلا به NAFLD نشان داده است. قبل از شروع تمرین اصلی و به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت به وسیله تردمیل، موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین و گروه مکمل ـ تمرین در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰ـ۸ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه تمرین اصلی با اقتباس از پژوهش دانیل و همکاران(۱۹) بدین صورت انجام شد که در هفته اول ۱۰ ست فعالیت ۱ دقیقه‌ای و ۲ دقیقه استراحت بین ست‌ها بود، که در

هفته آخر به ۱۵ ست رسید. سرعت فعالیت با ۱۴ متر در دقیقه در هفته اول شروع شده و هر هفته ۲ متر در دقیقه بر سرعت افزوده شد تا در هفته هشتم به ۲۸ متر در دقیقه رسید.

امگا ـ۳ از شرکت سیگما آلمان خریداری (شماره محصول: F8020) شد. امگا۳ شامل ۱۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر DHA و ۱۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر EPA بود. در پژوهش حاضر حیوانات روزانه ۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن امگا۳ دریافت می‌کردند(۲۰).

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه(۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی، به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین و مکمل) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین(۶۰ میلی‌گرم‌بر کیلوگرم) و زایلازین(۵ میلی‌گرم‌بر کیلوگرم) بیهوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی، وزن‌کشی و شست و شو با سالین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰ـ درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد.

جدول ۳ الگوی پرایمر را نمایش می‌دهد، ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

۲۰ میلی‌گرم از بافت با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوپ شده، سپس با استفاده از محلول تیازول، RNA کل سلول‌ها استخراج و خالص‌سازی شد. به cDNA سنتز شده و جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. cDNA سنتز شده با استفاده از SYBR Green master mix (Thermo Scientific, USA) و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۲ تکثیر شد. واکنش Real-time PCR با استفاده از دستگاه SYBR Green qPCR Master Mix انجام شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل؛ ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل ۲۰ ثانیه‌ای در حرارت ۹۵ درجه، ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه و ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه بود. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه(Thereshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای نرمال سازی بیان ژن از فرمول (کنترل) ct ـ (هدف) ct= ct Δ استفاده گردید. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن‌ها با Δct، برای کمی‌کردن نتیجه حاصل از تغییرات ct نمونه‌ها، این عدد در فرمول $2^{-\Delta ct}$ وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو ویلک، لون، آنالیز واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

جدول ۱: ترکیبات سازنده رژیم غذایی پرچرب و رژیم استاندارد

عناصر تشکیل دهنده	رژیم استاندارد (درصد)	رژیم پرچرب (درصد)
چربی	۱۲	۲۲
کربوهیدرات	۵۷	۵۰
پروتئین	۲۸	۲۴
سایر مواد	۳	۴

جدول ۲: پروتکل تمرینی تناوبی برای موش‌های صحرایی NAFLD

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
ست (تکرار)	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۳	۱۴	۱۴	۱۵
سرعت(متر بر دقیقه)	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴	۲۶	۲۸
مدت‌استراحت(دقیقه)	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲

جدول ۳: الگوی پرایمرها

نام ژن	آغازگر جلو	آغازگر معکوس
بتا-اکتین	5′- GTCACCCACACTGT GCCCATCT-3′	5′-ACAGAGTACTTGCGCTCAGGAG-3′
گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا	5’-CAGAAGCAGAAAGCAATTGAAGA-3’	5’-GTTTCATTCGACCTGCGTAAAG-3’
فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱	5’-TTGTAGATGACCATGAGTCGC-3’	5’-TGTCCTGCTGTATGCTGCTT-3’
فاکتور رونویسی A میتوکندری	5’-GGCACAGGAAACCAGTTAGG-3’	5’-CAGAACACCGTGGCTTCTAC-3’
سیرتوئین-۳	5’-TGGCGGCAGGGACGATTATT-3’	5’-CAGGCTCTGGCCCGAATCA-3’

یافته‌ها

میانگین وزن گروه‌ها قبل و بعد از القای کبد چرب غیر الکلی و هم‌چنین انتهای پروتکل در جدول ۴ ارایه شده است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا بافت کبدی بین گروه‌های مختلف وجود دارد (p=۰/۰۰۰۱، F=۱۱/۳۲۴)(نمودار ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات، گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا در گروه بیمار (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به کنترل ـ سالم وجود دارد. هم‌چنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های بیمار- تمرین (p=۰/۰۴۱)، بیمار- مکمل (p=۰/۰۴۴) بیمار- تمرین ـ مکمل (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به بیمار و بیمار- تمرین ـ مکمل نسبت به گروه بیمار- تمرین (p=۰/۰۴۱) و بیمار- مکمل (p=۰/۰۳۸) مشاهده شد(نمودار ۱).

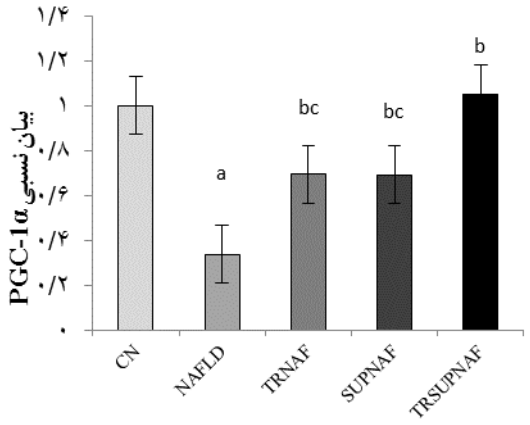
هم‌چنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱ بافت کبد بین گروه‌های مختلف وجود دارد (p=۰/۰۰۰۱ ، F=۱۱/۳۷۳)(نمودار ۲). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ـ۱ در گروه بیمار (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به کنترل ـ سالم وجود دارد. هم‌چنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های بیمار- تمرین (p=۰/۰۴۸)، بیمار- مکمل (p=۰/۰۴۲) و بیمار- تمرین ـ مکمل (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به بیمار و بیمار- تمرین ـ مکمل نسبت به گروه بیمار- تمرین (p=۰/۰۴۰) و بیمار- مکمل (p=۰/۰۴۶) مشاهده شد (نمودار ۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان فاکتور رونویسی A میتوکندری بافت کبدی بین گروه‌های مختلف وجود دارد (F=۱۱/۳۲۴ ، p=۰/۰۰۰۱) (نمودار ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات فاکتور رونویسی A میتوکندری در گروه بیمار (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به کنترل ـ سالم وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های بیمار ـ تمرین (p=۰/۰۴۳)، بیمار ـ مکمل (p=۰/۰۳۷) و بیمار ـ تمرین ـ مکمل (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به بیمار و بیمار ـ تمرین ـ مکمل نسبت به گروه بیمار ـ تمرین (p=۰/۰۳۹) و بیمار ـ مکمل (p=۰/۰۴۶) مشاهده شد(نمودار۳).

در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان سیرتوئین-۳ بافت کبدی بین گروه‌های مختلف وجود دارد (F=۱۰/۸۵۱ ، p=۰/۰۰۰۱) (نمودار ۴). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات سیرتوئین -۳ در گروه بیمار (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به کنترل ـ سالم وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌داری در گروه‌های بیمار ـ تمرین (p=۰/۰۳۵)، بیمار ـ مکمل (p=۰/۰۳۳) بیمار ـ تمرین ـ مکمل (p=۰/۰۰۰۱) نسبت به بیمار و بیمار ـ تمرین ـ مکمل نسبت به گروه بیمار ـ تمرین (p=۰/۰۴۳) و بیمار ـ مکمل (p=۰/۰۴۵) مشاهده شد(نمودار ۴).

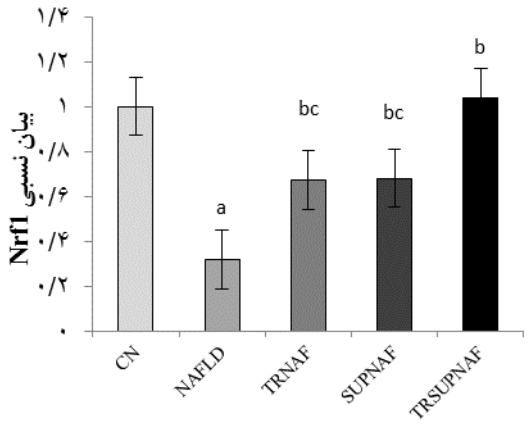
جدول ۴: میانگین وزن موش‌های صحرایی (گرم) در گروه‌های مختلف قبل و بعد از القای چاقی و انتهای پروتکل

گروه‌ها	قبل از القای کبد چرب غیر الکلی	بعد از کبد چرب غیر الکلی	انتهای پروتکل
کنترل ـ سالم (تعداد۸)	۱۵۸/۸۸ ± ۱۹/۴۹	۲۲۲/۶۳ ± ۱۵/۷۱۱	۲۷۵/۵۰ ± ۱۳/۴۳
بیمار (تعداد۸)	۱۵۳/۶۳ ± ۱۵/۸۷	۱۵۴/۵۰ ± ۱۵/۰۹	۳۱۴/۸۷ ± ۱۲/۲۴
بیمار-تمرین (تعداد۸)	۱۵۷/۰۰ ± ۱۸/۱۲	۲۶۰/۳۸ ± ۱۸/۰۲	۲۸۳/۵۰ ± ۱۸/۳۷
بیمار-مکمل (تعداد۸)	۱۵۴/۷۵ ± ۱۷/۰۰	۲۶۷/۵۰ ± ۱۸/۷۱	۲۹۸/۰۰ ± ۱۶/۸۶
بیمار-تمرین-مکمل (تعداد۸)	۱۶۰/۶۳ ± ۱۷/۹۴	۲۵۱/۱۳ ± ۱۷/۳۲	۲۶۵/۳۸ ± ۱۲/۲۷



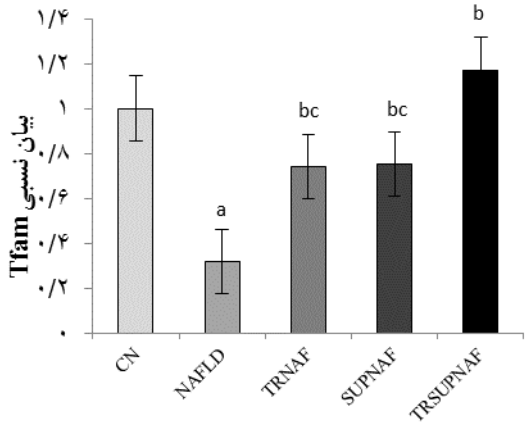
نمودار ۱: تغییرات بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه(در سطح p<۰/۰۵).

a تفاوت با گروه CN، b تفاوت با گروه NAFLD، c تفاوت با CN.TRSUPNAF: رژیم غذایی نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرا لکلی، TRNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ تمرین، SUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ مکمل و TRSUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ تمرین ـ مکمل.



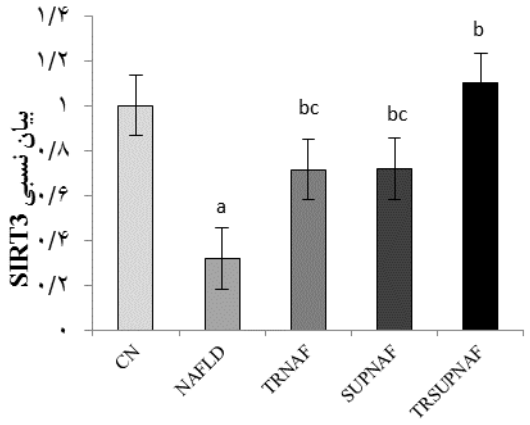
نمودار ۲: تغییرات بیان فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱ **بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح p<۰/۰۵).**

a تفاوت با گروه CN، b تفاوت با گروه NAFLD، c تفاوت با TRSUPNAF. CN: رژیم غذایی نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرا لکلی، TRNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ تمرین، SUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی- مکمل و TRSUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ تمرین ـ مکمل.



نمودار ۳: تغییرات بیان فاکتور رونویسی A میتوکندری **بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح p<۰/۰۵).**

a تفاوت با گروه CN، b تفاوت با گروه NAFLD، c تفاوت با TRSUPNAF. CN: رژیم غذایی نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرا لکلی، TRNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ تمرین، SUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی- مکمل و TRSUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی-تمرین-مکمل.



نمودار ۴: تغییرات بیان سیرتوئین-۳ **بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (در سطح p<۰/۰۵).**

a تفاوت با گروه CN، b تفاوت با گروه NAFLD، c تفاوت با TRSUPNAF. CN: رژیم غذایی نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرا لکلی، TRNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ تمرین، SUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ مکمل و TRSUPNAF: کبد چرب غیرا لکلی ـ تمرین ـ مکمل.

بحث

بیماری کبد چرب غیر الکلی(NAFLD) با اختلال در عملکرد میتوکندری بافت کبدی همراه است. SIRT3، PGC-1α و TFAM نقش مهمی در عملکرد میتوکندری دارند(۶). فعالیت ورزشی(۹) و مگا-۳ (۱۳) نقش مهمی در بهبود عملکرد میتوکندری و جلوگیری از اختلال عملکرد میتوکندری دارند، لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی اثر تمرین تناوبی و امگا ۳ بر بیوژنز میتوکندری بافت کبدی موش‌های کبد چرب غیر الکلی در موش‌های صحرایی نژاد ویستار بود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای کبد چرب غیرالکلی باعث کاهش در شاخص‌های بیوژنز میتوکندری گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱، فاکتور رونویسی A میتوکندری و سیرتوئین -۳ می‌شود. همراستا با پژوهش حاضر ژانگ و همکاران نشان دادند که القای کبد چرب غیر الکلی بیان، گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱ و فاکتور رونویسی A میتوکندری سلول‌های کبدی را کاهش می‌شود(۲۱). سهین و همکاران نیز در پژوهشی نشان دادند که رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش التهاب و کاهش سطح فاکتورهای تنفسی هسته‌ای -۱ و HO-1 در بافت کبد موش‌های صحرایی می‌شود(۲۲). اختلال عملکرد میتوکندری به عنوان یک عامل مهم در بروز و توسعه کبد چرب غیرالکلی، ناشی از HFD شناخته شده است. اختلال عملکرد میتوکندری کبد، که با کاهش تولید انرژی و اختلال در تعادل ردوکس نشان داده می‌شود، نقش اصلی را در توسعه کبد چرب غیر الکلی دارد(۲۳). پژوهش‌های قبلی نشان داده که NAFLD باعث برهم خوردن تعادل فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا و فاکتور رونویسی A میتوکندری (۲۴) به عنوان تنظیم‌کننده کلیدی بیوسنتز میتوکندری و عملکرد فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌شود. به عنوان مولکول کلیدی در تنظیم بیوژنز میتوکندری، فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا نقش مهمی در ترموژنز، تشکیل میتوکندری و تنظیم متابولیسم گلوکز و لیپید ایفا می‌کند. فاکتور رونویسی A میتوکندری نیز یکی از تنظیم‌کننده‌های کلیدی رونویسی DNA میتوکندری[1] است که با تغییر فرآیندهای شکاف و همجوشی میتوکندری و تکثیر DNA میتوکندری مرتبط است(۲۴).[1] علاوه بر این سیرتوئین-۳ استیلاسیون کلی پروتئین‌های میتوکندری را کنترل کرده، سطح ATP سلول را افزایش داده و بیوژنز میتوکندری را القا می‌کند(۲۵). کمبود سیرتوئین-۳ باعث کاهش سطح ATP و افزایش سطح ROS در سلول‌ها می‌شود(۲۶). در مدل HFD نشان داده شده که بیان سیرتوئین-۳ در بافت کبد کاهش می‌یابد و حذف این ژن منجر به کاهش قابل توجهی در میزان متابولیسم اسیدهای چرب و افزایش تجمع تری‌گلیسیرید در کبد می‌شود، در حالی که بیان بیش از حد سیرتوئین-۳ از عملکرد کبد محافظت کرده و فیبروز، التهاب و آپوپتوز

1-Mitochondrial DNA

هپاتوسیت[1] را کاهش می‌دهد(۲۷). علاوه بر این سیرتوئین ـ۳ می تواند فعالیت منگنز سوپراکسید دیسموتاز[2] را افزایش داده، تولید ROS میتوکندری را کاهش و باعث بهبود وضعیت فشار اکسایشی شود(۲۸).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت ورزشی قادر است روند کاهشی شاخص‌های بیوژنز میتوکندری را در موش‌های صحرایی کبد چرب غیر الکلی معکوس کند. در همین راستا، تاسکین و همکاران در پژوهشی نشان دادند که تمرین با شدت کم باعث افزایش نشانگرهای بیوژنز میتوکندری(گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ـ۱ و فاکتور رونویسی A میتوکندری) و هم‌چنین هم اکسیژناز-۱ در سرم و عضلات موش‌های نر می‌شود(۱۰). هم‌چنین صفدر و همکاران بیان کردند که فعالیت ورزشی هوازی با افزایش بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱ و DNA میتوکندری باعث بهبود بیوژنز میتوکندری می‌شود(۲۹). هاس و همکاران نیز نشان دادند که فعالیت ورزشی متابولیسم میتوکندری و بیوژنز کبدی را از طریق فعال‌کردن گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا کبدی بهبود می‌بخشد(۳۰). همان‌طور که قبلا گزارش شده، گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا یک فعال‌کننده اصلی بیوژنز میتوکندری است و با توجه به نقش آن در بهبود عملکرد میتوکندری ممکن است اثرات مفید فعالیت ورزشی بر عملکرد کبد را وساطت کند(۳۱ و ۳۰). افزایش گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، پس از فعالیت ورزشی باعث فعال‌شدن فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ـ۱ و فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ـ۲ شده، که به دنبال آن فاکتور رونویسی میتوکندری A[3] فعال می‌شود تا عملکردهای میتوکندری هماهنگ شود(۳۲).[1] هم‌چنین گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا تحت تأثیر نسبت آدنوزین تری فسفات/آدنوزین منو فسفات با مسیر پروتئین کیناز فعال شده با AMP[4] مرتبط است. پروتئین پروتئین کیناز فعال شده با AMP طی انقباضات عضلانی از طریق مسیرهای هوازی فعال شده و فسفوریلاسیون و رونویسی گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا را انجام داده و با فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ـ۱ و فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ـ۲ برای تحریک بیوژنز میتوکندری در تعامل است(۳۳). از سوی دیگر، افزایش محتوای سیرتوئین-۳ میتوکندریایی باعث افزایش بیان ژن‌های کدکننده میتوکندری از طریق مسیر سیگنال پروتئین کیناز فعال شده با AMP ـ گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفاـ پاسخ گیرنده وابسته استروژنی آلفا شده و به دنبال آن تولید ATP افزایش و تولید ROS میتوکندری را کاهش

1-Hepatocyte Apoptosis
2-Manganese Superoxide Dismutase
3-Mitochondrial Transcription Factor A
4-AMP-Activated Protein Kinase

می‌دهد (۳۴). سیرتوئین-۳ عمدتاً در میتوکندری بیان می‌شود و اثرات محافظتی متعددی بر میتوکندری در شرایط فشار اکسایشی، هیپرگلیسمی و ترکیب اسیدهای چرب دارد. با این وجود غیارون و همکاران نشان دادند که سه هفته تمرین یک و دوبار در روز تأثیر معنی‌داری بر نشانگرهای بیوژنز میتوکندری از قبیل گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا و فعال کننده تکثیر پروکسی زوم آلفا[1] ندارد(۳۵). هم‌چنین در موش‌های که دارای اختلال در جریان خون اندام‌های تحتانی بودند نشان داده شد که تمرین ورزشی تأثیری بر ژن‌های بیوژنز میتوکندری ندارد(۳۶). شاید تفاوت در یافته‌ها مربوط به نوع آزمودنی‌ها می‌باشد که در پژوهش‌های ذکر شده از آزمودنی‌های انسان سالم و موش‌های دارای اختلال جریان خون اندام تحتانی استفاده شده در حالی که در پژوهش حاضر از نمونه‌های حیوانی مبتلا به کبد چرب غیر الکلی استفاده شده است.

از دیگر نتایج پژوهش حاضر افزایش بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱، فاکتور رونویسی A میتوکندری و سیرتوئین -۳ کبدی بعد از مصرف امگا-۳ در موش‌های کبد چرب غیرالکلی بود. کریستوفانو و همکاران نشان دادند که تجویز چهار هفته‌ای روغن ماهی باعث افزایش فاکتورهای تنفسی هسته‌ای -۲ و گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا در بافت کبد موش‌ها می‌شود(۱۵). هم‌چنین روسیگنول و همکاران نشان دادند که مکمل ایکوزاپنتانوییک اسید (EPA)دوکوزاهگزانوئیک اسید(DHA) با افزایش سطح گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا باعث بهبود بیوژنز میتوکندری در کبد، عضلات کف پایی و هیپوکامپ موش‌ها می‌شود. شن و همکاران نیز نشان دادند که امگا-۳ بهبود بیوژنز میتوکندری را از طریق فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با AMP انجام می‌دهد. هم‌چنین قادر است فسفوریلاسیون گیرنده‌های انسولین و مسیر پایین دست سیگنالینگ پروتئین کیناز B [2] را در بافت چربی و کبد افزایش دهد و از این طریق باعث بازسازی عملکرد میتوکندریایی، بهبود چاقی و مقاومت به انسولین در موش‌های رژیم غذایی پر چرب شود(۱۴). [1] اسید چرب EPA با افزایش گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا/ هم اکسیژناز-۱، کاهش تجمع اسیدهای چرب و فیبروز و افزایش فسفوریلاسیون گیرنده انسولین باعث بهبود بیماری کبد چرب غیر الکلی موش‌ها می‌شود(۳۷). هم‌چنین امگا-۳ تولید هم اکسیژناز-۱ را از طریق فعال سازی فاکتورهای تنفسی هسته‌ای-۱افزایش داده و از افزایش فشار اکسایشی ناشی از هیدروژن پراکسیداز جلوگیری می‌کند(۳۸). در پژوهش‌های قبلی نشان داده شد که امگا-۳ بیان هم اکسیژناز-۱ را در بافت چربی موش رژیم غذایی پر چرب افزایش داده که نشان می‌دهد

1-Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α
2-Protein kinase B

القای هم اکسیژناز-۱ نقش مهمی در میانجی‌گری اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی امگا-۳ ایفا کند(۳۷). در پژوهش حاضر اثر همزمان تمرین تناوبی و مصرف امگا-۳ بر شاخص‌های بیوژنز میتوکندری بیشتر از اثر هر کدام به تنهایی بود. بررسی‌های محدودی اثر همزمان تمرین و امگا-۳ را بر شاخص‌های بیوژنز میتوکندری بررسی کرده‌اند. در یکی از این پژوهش‌های یانگ و همکاران نشان دادند که ترکیب رژیم غذایی غنی‌شده با دوکوزاهگزانوئیک اسید(DHA)[1] و ورزش هوازی باعث افزایش بیان ژن‌های کارنیتین پالمیتیل ترانسفرانوز نوع ۱[2]، فعال کننده تکثیر پروکسی زوم آلفا و فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با AMP به عنوان تنظیم کننده‌های اکسیداسیون اسیدهای چرب شده و از این طریق باعث به تأخیر انداختن پیشرفت کبد چرب غیر الکلی طی چاقی می‌شود(۳۹). هم‌چنین میتو و همکاران بیان کردند که ترکیب تمرین و آلفا لینولئیک اسید (ALA)[3] تأثیر بیشتری بر کاهش چربی کبدی نسبت به هر کدام به تنهایی دارد(۴۰). بررسی‌ها نشان می‌دهد ترکیب تمرین همراه با مکمل امگا-۳ قادر به کاهش آنزیم‌های کبدی(۴۱)، افزایش سطح آنتی‌اکسیدان و کاهش شاخص پراکسیداسیون(۴۲) است. این یافته‌ها اثر سودمند احتمالی مکمل‌سازی امگا-۳ و فعالیت ورزشی را بر مسیر بیوژنز میتوکندری در موش‌های کبد چرب غیرالکلی نشان داده که احتمالاً با فعال‌سازی گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم‌فعال‌ساز-۱ آلفا، فاکتورهای تنفسی هسته‌ای -۱، فاکتور رونویسی A میتوکندری و سیرتوئین-۳ واسطه می‌شود. بنابراین افزایش این شاخص‌ها به دنبال فعالیت ورزشی و مصرف مکمل امگا-۳ را می‌توان به عنوان یک رویکرد درمانی برای بهبود کبد چرب غیرالکلی در نظر گرفت. از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری میزان فعالیت پروتئین کیناز فعال شده با AMP اشاره کرد که نقش مهمی در تنظیم و فعالیت مسیر بیوژنز میتوکندری دارد. هم‌چنین بررسی تغییرات سطوح اکسیدان و آنتی‌اکسیدان می‌توانست در درک بهتر اثرات تمرین و مکمل مؤثر باشد. بنابراین توصیه می‌شود در پژوهش‌های آتی مسیرهای سیگنالینگ مهم(از قبیل پروتئین کیناز فعال شده با AMP) و میزان فشار اکسایشی نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. با توجه پژوهش حاضر و پژوهش‌های قبلی که در این زمینه انجام شد، پیشنهاد می‌گردد برای بهبود وضعیت متابولیکی و عملکرد بهتر در بیماری کبد چرب غیر الکلی از ترکیب تمرین هوازی و امگا-۳ استفاده شود. [1]

نتیجه‌گیری

داده‌های حاضر نشان داد که تمرین ورزشی و هم‌چنین امگا-۳ در شرایط کبد چرب غیر الکلی قادر به تعدیل بیوژنز میتوکندری از طریق افزایش در ژن‌های مؤثر در این مسیر است. هم‌چنین مطالعه حاضر نشان

1-Docosahexaenoic acid(DHA)
2-Carnitine palmitoyltransferase
3-Alpha-linolenic acid

داد کـه ترکیـب از ایـن دو(فعالیـت ورزشـی تنـاوبی و مکمل‌سازی امگا-۳) دارای اثرات هم‌افزایـی بـوده و در جلوگیری از توسعه کبد چرب غیر الکلی ناشی از رژیم غذایی پر چرب و درمان آن نقش مهمی دارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامـه مقطـع دکتـری رشـــته فیزیولـــوژی ورزش بـــا کـــد اخـــلاق IR.IAU.AMOL.REC.1401.116 از دانشگاه آزاد اسـلامی واحد آیت الله آملی می‌باشـد کـه بـا حمایـت مـالی ایـن دانشگاه انجام شد. بدین وسـیله، نویسـندگان تشـکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی اعلام می‌دارند.

REFERENCE

1.Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. Nature Medicine 2018; 24(7): 908-22.
2.Estes C, Razavi H, Loomba R, Younossi Z, Sanyal AJ. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. Hepatology 2018; 67(1): 123-33.
3.Lim S, Kim JW, Targher G. Links between metabolic syndrome and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. Trends in Endocrinology & Metabolism 2021; 32(7): 500-14.
4.Hood DA, Memme JM, Oliveira AN, Triolo M. Maintenance of skeletal muscle mitochondria in health, exercise, and aging. Annual Review of Physiology 2019; 81: 19-41.
5.Rahman FA, Quadrilatero J. Mitochondrial network remodeling: an important feature of myogenesis and skeletal muscle regeneration. Cellular and Molecular Life Sciences 2021; 78(10): 4653-75.
6.Torrens-Mas M, Hernández-López R, Pons DG, Roca P, Oliver J, Sastre-Serra J. Sirtuin 3 silencing impairs mitochondrial biogenesis and metabolism in colon cancer cells. American Journal of Physiology-Cell Physiology 2019; 317(2): C398-C404.
7.Jing E, Emanuelli B, Hirschey MD, Boucher J, Lee KY, Lombard D, et al. Sirtuin-3(Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production. Proceedings of the National Academy of Sciences 2011; 108(35): 14608-13.
8.Ostman C, Smart N, Morcos D, Duller A, Ridley W, Jewiss D. The effect of exercise training on clinical outcomes in patients with the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. Cardiovascular Diabetology 2017; 16(1): 1-11.
9.Kim Y, Triolo M, Hood DA. Impact of aging and exercise on mitochondrial quality control in skeletal muscle. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2017; 2017: 3165396.
10.Taskin S, Celik H, Demiryurek S, Turedi S, Taskin A. Effects of different-intensity exercise and creatine supplementation on mitochondrial biogenesis and redox status in mice. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2022; 25(8): 1009-15.
11.Khajvand Abedini A, Abdi A, Barari A, Torabi Palat Kaleh G, Kazemi M, Mirshafaei MA. The effect of moderate intensity interval training on mitochondrial biogenesis markers of rats fed a high fat diet. Physical Activity and Health 2022; 1(2): 25-37.
12.Gomes F, Chuffa L, Scarano W, Pinheiro P, Fávaro W, Domeniconi RF. Nandrolone decanoate and resistance exercise training favor the occurrence of lesions and activate the inflammatory response in the ventral prostate. Andrology 2016; 4(3): 473-80.
13.Lanza IR, Blachnio-Zabielska A, Johnson ML, Schimke JM, Jakaitis DR, Lebrasseur NK, et al. Influence of fish oil on skeletal muscle mitochondrial energetics and lipid metabolites during high-fat diet. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 2013; 304(12): E1391-E403.
14.Shen HH, Peterson SJ, Bellner L, Choudhary A, Levy L, Gancz L, et al. Cold-pressed nigella sativa oil standardized to 3% thymoquinone potentiates omega-3 protection against obesity-induced oxidative stress, inflammation, and markers of insulin resistance accompanied with conversion of white to beige fat in mice. Antioxidants 2020; 9(6): 489.
15.Di Cristofano M, Ferramosca A, Di Giacomo M, Fusco C, Boscaino F, Luongo D, et al. Mechanisms underlying the hormetic effect of conjugated linoleic acid: Focus on Nrf2, mitochondria and NADPH oxidases. Free Radical Biology and Medicine 2021; 167: 276-86.
16.Rossignoli CP, Dechandt CR, Souza AO, Sampaio IH, Vicentini TM, Teodoro BG, et al. Effects of intermittent dietary supplementation with conjugated linoleic acid and fish oil (EPA/DHA) on body metabolism and mitochondrial energetics in mice. The Journal of Nutritional Biochemistry 2018; 60: 16-23.
17.Delroz H, Abdi A, Barari A, Farzanegi P. Protective Effect of aerobic training along with resveratrol on mitochondrial dynamics of cardiac myocytes in animal model of non-alcoholic fatty liver disease. Journal of Ardabil University of Medical Sciences 2019; 19(3): 272-83.
18.Efati M, Khorrami M, Zarei Mahmmodabadi A, Raouf Sarshoori J. Induction of an Animal model of non-alcoholic fatty liver disease using a formulated high-fat diet. Journal of Babol University of Medical Sciences 2016; 18(11): 57-62.
19.Freitas DA, Rocha-Vieira E, Soares BA, Nonato LF, Fonseca SR, Martins JB, et al. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. Physiology & Behavior 2018; 184: 6-11.

20.de Andrade AM, Fernandes MdC, de Fraga LS, Porawski M, Giovenardi M, Guedes RP. Omega-3 fatty acids revert high-fat diet-induced neuroinflammation but not recognition memory impairment in rats. Metabolic Brain Disease 2017; 32(6): 1871-81.
21.Zhang YN, Guo YQ, Fan YN, Tao XJ, Gao QH, Yang JJ. Lycium barbarum polysaccharides promotes mitochondrial biogenesis and energy balance in a NAFLD cell model. Chinese Journal of Integrative Medicine 2022; 28(11): 975-82.
22.Sahin K, Orhan C, Akdemir F, Tuzcu M, Sahin N, Yılmaz I, et al. β-Cryptoxanthin ameliorates metabolic risk factors by regulating NF-κB and Nrf2 pathways in insulin resistance induced by high-fat diet in rodents. Food and Chemical Toxicology 2017; 107: 270-9.
23.Koliaki C, Szendroedi J, Kaul K, Jelenik T, Nowotny P, Jankowiak F, et al. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. Cell Metabolism 2015; 21(5): 739-46.
24.Pohjoismäki JL, Wanrooij S, Hyvärinen AK, Goffart S, Holt IJ, Spelbrink JN, et al. Alterations to the expression level of mitochondrial transcription factor A, TFAM, modify the mode of mitochondrial DNA replication in cultured human cells. Nucleic Acids Research 2006; 34(20): 5815-28.
25.Finley LW, Carracedo A, Lee J, Souza A, Egia A, Zhang J, et al. SIRT3 opposes reprogramming of cancer cell metabolism through HIF1α destabilization. Cancer Cell 2011; 19(3): 416-28.
26.McDonnell E, Peterson BS, Bomze HM, Hirschey MD. SIRT3 regulates progression and development of diseases of aging. Trends in Endocrinology & Metabolism 2015; 26(9): 486-92.
27.Li R, Xin T, Li D, Wang C, Zhu H, Zhou H. Therapeutic effect of Sirtuin 3 on ameliorating nonalcoholic fatty liver disease: the role of the ERK-CREB pathway and Bnip3-mediated mitophagy. Redox Biology 2018; 18: 229-43.
28.Zhang J, Song X, Cao W, Lu J, Wang X, Wang G, et al. Autophagy and mitochondrial dysfunction in adjuvant-arthritis rats treatment with resveratrol. Scientific Reports 2016; 6(1): 1-10.
29.Safdar A, Little JP, Stokl AJ, Hettinga BP, Akhtar M, Tarnopolsky MA. Exercise increases mitochondrial PGC-1 α content and promotes nuclear-mitochondrial cross-talk to coordinate mitochondrial biogenesis. The Journal of Biological Chemistry 2018; 293(13): 4953.
30.Haase TN, Ringholm S, Leick L, Biensø RS, Kiilerich K, Johansen S, et al. Role of PGC-1α in exercise and fasting-induced adaptations in mouse liver. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 2011; 301(5): R1501-R9.
31.Aharoni-Simon M, Hann-Obercyger M, Pen S, Madar Z, Tirosh O. Fatty liver is associated with impaired activity of PPARγ-coactivator 1α (PGC1α) and mitochondrial biogenesis in mice. Laboratory Investigation 2011; 91(7): 1018-28.
32.Bassel-Duby R, Olson EN. Signaling pathways in skeletal muscle remodeling. Annu Rev Biochem 2006; 75: 19-37.
33.Finck BN, Gropler MC, Chen Z, Leone TC, Croce MA, Harris TE, et al. Lipin 1 is an inducible amplifier of the hepatic PGC-1α/PPARα regulatory pathway. Cell Metabolism 2006; 4(3): 199-210.
34.Zhou X, Chen M, Zeng X, Yang J, Deng H, Yi L, et al. Resveratrol regulates mitochondrial reactive oxygen species homeostasis through Sirt3 signaling pathway in human vascular endothelial cells. Cell Death & Disease 2014; 5(12): e1576-e.
35.Ghiarone T, Andrade-Souza VA, Learsi SK, Tomazini F, Ataide-Silva T, Sansonio A, et al. Twice-a-day training improves mitochondrial efficiency, but not mitochondrial biogenesis, compared with once-daily training. Journal of Applied Physiology 2019; 127(3): 713-25.
36.Pellegrin M, Bouzourène K, Aubert JF, Bielmann C, Gruetter R, Rosenblatt-Velin N, et al. Impact of aerobic exercise type on blood flow, muscle energy metabolism, and mitochondrial biogenesis in experimental lower extremity artery disease. Scientific Reports 2020; 10(1): 1-14.
37.Raffaele M, Bellner L, Singh SP, Favero G, Rezzani R, Rodella LF, et al. Epoxyeicosatrienoic intervention improves NAFLD in leptin receptor deficient mice by an increase in HO-1-PGC1α mitochondrial signaling. Experimental Cell Research 2019; 380(2): 180-7.
38.Kusunoki C, Yang L, Yoshizaki T, Nakagawa F, Ishikado A, Kondo M, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid has an anti-oxidant effect via the Nrf-2/HO-1 pathway in 3T3-L1 adipocytes. Biochemical and Biophysical Research Communications 2013; 430(1): 225-30.
39.Yang J, Sáinz N, Félix-Soriano E, Gil-Iturbe E, Castilla-Madrigal R, Fernández-Galilea M, et al. Effects of long-term DHA supplementation and physical exercise on non-alcoholic fatty liver development in obese aged female mice. Nutrients 2021; 13(2): 501.

40.Miotto PM, Horbatuk M, Proudfoot R, Matravadia S, Bakovic M, Chabowski A, et al. α-Linolenic acid supplementation and exercise training reveal independent and additive responses on hepatic lipid accumulation in obese rats. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 2017; 312(6): E461-E70.
41.Masoodsinaki H, Nazarali P, Hanachi P. Evaluation and impact of omega-3 supplementation with a period of selective aerobic exercise on liver enzymes (AST-ALT) of active student girls. Hormozgan Medical Journal 2014; 18(3): 247-56.
42.Yahyazadeh M, Mirnasuri R. The effect of 8-week aerobic moderate intensity exercise and Omega-3 supplementation on Total antioxidant capacity and hydrogen peroxide in young un trained men. CMJA 2015; 5(3): 1283-9.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Effect of Interval Training and Omega-3 on Mitochondrial Biogenesis in the Liver Tissue of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)Rats

Kazemi M[1], Abdi A[1*], Mehrabani J[2], Barari A[1]

[1]Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran, [2]Department of Exercise Physiology, University of Guilan, Rasht, Iran

Received: 20 Feb 2023 Accepted: 05 Aug 2023

Abstract

Background & aim: Non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD) is an important cause of chronic liver disease worldwide. Mitochondrial dysfunction has been proven to be closely associated with NAFLD. The aim of the present study is to investigate the effect of interval training and omega-3 on mitochondrial biogenesis in liver tissues of NAFLD rats.

Methods: In the experimental study conducted in 2022 at Amol Azad University, 40 male Wistar rats (mean weight 156.98±7.82) were divided into 5 groups: Control-Normal (CN), NAFLD, NAFLD-Training (TRNAF), NAFLD-Supplement (SUPNAF) and NAFLD-Training-Supplement (TRSUPNAF). The supplement groups received 1 g of Omega-3 (per kg of body weight) orally during the intervention period. Interval training program including running on treadmill with a speed of 14-28 meters per minute, was performed 5 days a week for eight weeks. The genes expression of Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1-α (PGC-1α), Nuclear respiratory factor 1 (Nrf1), Mitochondrial transcription factor A (Tfam) and Sirtuin 3 (SIRT3) were measured by Real Time PCR. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc test at the $P<0.05$.

Results: Induction of NAFLD decreased the expression of PGC-1α, Nrf1, Tfam and SIRT3 ($p=0.0001$). The expression of PGC-1α, Nrf1, Tfam and SIRT3 was significantly increased in TRNAF ($p=0.041$, $p=0.048$, $p=0.043$ and $p=0.035$ respectively), SUPNAF ($p=0.044$, $p=0.042$, $p=0.037$ and $p=0.033$ respectively) and TRSUPNAF (respectively, $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$ and $p=0.0001$) groups compared to NAFLD; and also, TRSUPNAF compared to TRNAF ($p=0.041$, $p=0.040$, $p=0.039$ and $p=0.043$ respectively) and SUPNAF ($p=0.038$, $p=0.046$, $p=0.046$ and $p=0.045$ respectively) group.

Conclusion: The results indicated that exercise training along with omega-3 in the condition of NAFLD was able to modulate mitochondrial biogenesis through an increase in the genes involved in this pathway. Moreover, the combination of Interval exercise training and Omega-3 supplementation has synergistic effects.

Keyword: Exercise, Omega-3, Mitochondrial Biogenesis, Nonalcoholic fatty liver disease.

***Corresponding author: Abdi A,** Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
Email: a.abdi58@gmail.com

Please cite this article as follows: Kazemi M, Abdi A, Mehrabani J, Barari A. The Effect of Interval Training and Omega-3 on Mitochondrial Biogenesis in the Liver Tissue of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)Rats. Armaghane-danesh 2023; 28(5): 638-654.