

Original Article

The effect of eight weeks of high-intensity interval swimming training on the expression of liver RBP4 protein, serum hs-CRP and insulin resistance in rats with non-alcoholic steatohepatitis caused by consumption of high-fat diet

Mohamad Amin Delavari¹, Elham Shahabpour^{1*}, Alireza Jowhari²

1. Department of Sports Sciences, Faculty of Humanities, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2. Department of Sports Sciences, Faculty of Psychology and Educational Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Abstract

Background and Purpose: Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is an important public health problem, and Retinol-Binding Protein 4 (RBP4) is closely related to this disease. RBP4 is the only known specific transporter protein for vitamin A that regulates circulating levels of retinol as an antioxidant. Liver tissue is the main producer of RBP4 and can contribute to whole body retinoid homeostasis. The accumulation of triglycerides leads to an increase in the level of inflammation and oxidative stress, and in response to this change, the level of RBP4 and inflammatory markers such as high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) may change. Thus, it is possible that with the progress of the disease and the increase in the level of oxidative stress and inflammation, the markers that respond to them, including RBP4 and hs-CRP, will also change. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval swimming training on liver RBP4 protein expression, serum CRP and insulin resistance level in rats suffering from non-alcoholic steatohepatitis caused by consumption of high-fat diet.

Materials and Methods: Forty male Sprague-Dawley rats (Mean±SD; age, 6 to 8 weeks; weight 230±20 grams) were divided into four groups of control-NASH (n=9), exercise-NASH (n=9), control-healthy (9 = n) and exercise-healthy (n = 9). HIIT swimming included 20 repetitions of 30 s swimming with 30 s rest between repetitions (eight weeks, three days a week, on the even days). After the training period, intrahepatic RBP4 protein was measured by western blot technique and hs-CRP, insulin and fasting blood sugar were measured by ELISA and photometric methods. One-way ANOVA test was used to determine between-group differences and Bonferroni's post-hoc test was used to identify which mean differences were statistically significant.

Results: There was a significant increase of RBP4 in the control-NASH group compared to the healthy control (P=0.004) and a non-significant decrease in RBP4 (P=0.762) and insulin resistance (P=0.14) in exercise-NASH compared to the control-NASH. Furthermore, significant decreases in hs-CRP (P=0.007)

* Corresponding Author's E-mail: e.shahabpour@hormozgan.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2024.235982.1267>

Received: 09/06/2024

Revised: 20/08/2024

Accepted: 23/08/2024



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

and fasting blood sugar ($P=0.001$) were observed in the exercise-NASH group compared to the control-NASH.

Conclusion: Interval high-intensity swimming training can reduce systemic inflammation in non-alcoholic steatohepatitis. Therefore, it seems that this new type of exercise can prevent the progression of this disease through the control of intrahepatic RBP4 protein and insulin resistance. Therefore, this type of exercise protocol can be useful in improving NASH, though, more research is needed in this field to fully prove it.

Keywords: Non-Alcoholic Steatohepatitis, High-Intensity Interval Swimming Training, Inflammation, Insulin Resistance

How to cite this article: Delavari M, Shahabpour E, Jowhari A. The effect of eight weeks of high-intensity interval swimming training on the expression of liver RBP4 protein, serum hs-CRP and insulin resistance in rats with non-alcoholic steatohepatitis caused by consumption of high-fat diet. *J Sport Exerc Physiol.* 2024;17(3):71-90.

تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر بیان پروتئین RBP4 کبد، hs-CRP سرم و مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی ناشی از مصرف رژیم پرچرب

محمدامین دلاوری^۱، الهام شهاب‌پور^{۱*}، علیرضا جوهری^۲

۱. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) یک چالش مهم بهداشت همگانی است و پروتئین اتصال رتینول (RBP4) وابستگی نزدیکی با این بیماری دارد. RBP4 تنها پروتئین ناقل خاص شناخته‌شده برای ویتامین A است که سطوح در گردش رتینول به‌عنوان یک ضداکساینده را تنظیم می‌کند. بافت کبد تولیدکننده اصلی RBP4 است و می‌تواند به هومئوستاز رتینوئیدی کل بدن کمک کند. تجمع تری‌گلیسیرید، افزایش سطح التهاب و فشار اکسایشی را در پی دارد و در پاسخ به این تغییر، شاید سطح RBP4 و نشانگرهای التهابی از جمله پروتئین واکنشی C با حساسیت بالا (hs-CRP) دستخوش تغییر شود. بدین ترتیب گمان می‌رود که با پیشرفت بیماری و افزایش سطح فشار اکسایشی و التهاب، نشانگرهای پاسخ‌دهنده به آن‌ها از جمله RBP4 و hs-CRP نیز دچار تغییر شوند. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر بیان پروتئین RBP4 کبد، CRP سرم و سطح مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی ناشی از مصرف رژیم پرچرب انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: ۴۰ سر موش صحرایی نر (سن شش تا هشت هفته، وزن 20 ± 230 گرم، نژاد Sprague – Dawley) در چهار گروه کنترل - NASH (n=9)، تمرین-NASH (n=9)، کنترل-سالم (n=9) و تمرین-سالم (n=9) جایگزین شدند. HIIT شنا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت (هشت هفته، سه روز در هفته، روزهای زوج) بود. در پایان دوره تمرینی پروتئین RBP4 درون کبدی از شیوه‌ی وسترن بلات و hs-CRP، انسولین و قند خون ناشتای سرم از روش الایزا و فوتومتریک اندازه‌گیری شد. برای تعیین تفاوت میان گروه‌ها از آزمون آنوای یک‌راهه و برای تعیین تفاوت درون گروهی از آزمون تعقیبی بانفرونی با استفاده از نرم‌افزار SPSS26، استفاده شد و سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج: افزایش معنادار پروتئین RBP4 در گروه کنترل-NASH در مقایسه با کنترل-سالم ($P=0.004$) و کاهش غیرمعنادار RBP4 ($P=0.762$) و مقاومت به انسولین ($P=0.14$) در گروه تمرین-NASH در مقایسه با گروه کنترل-NASH وجود داشت. همچنین کاهش معنادار hs-CRP ($P=0.007$) و قند خون ناشتا ($P=0.001$) در گروه تمرین-NASH نسبت به کنترل-NASH دیده شد.

نتیجه‌گیری: تمرینات شنا با شدت بالا، می‌تواند التهاب عمومی و سراسری را در بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی کاهش دهد. بنابراین گمان می‌رود این نوع فعالیت ورزشی جدید بتواند از پیشرفت این بیماری از طریق کنترل پروتئین RBP4 درون کبدی و مقاومت به انسولین جلوگیری کند. از این رو این نوع روش تمرین می‌تواند در بهبود NASH مفید باشد. با این همه تا اثبات کامل، به پژوهش‌های بیشتری در این زمینه نیاز است.

* رایانامه نویسنده مسئول: e.shahabpour@hormozgan.ac.ir

واژه‌های کلیدی: استئاتوهیاتیت غیرالکلی، التهاب، تمرین تناوبی شنا با شدت بالا، مقاومت به انسولین.

نحوه استناد به این مقاله: دلآوری م، شهاب پور ا، جوهری ع. تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر بیان پروتئین RBP4 کبد، hs-CRP سرم و مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوهیاتیت غیرالکلی ناشی از مصرف رژیم پرچرب. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۲۰۱۷؛ ۱۷(۳): ۷۱-۹۰.

مقدمه

به صورت رهاسازی قطرات لیپید ظاهر می‌شود (۵). افزایش بیان ژن پاسخگو به اسید رتینوئیک با افزایش سطح تری‌گلیسیرید کبدی وابسته است. بنابراین هرچه تجمع تری‌گلیسیرید افزایش یابد، افزایش سطح التهاب و فشار اکسایشی را در پی دارد و در پاسخ به این تغییر، شاید سطح RBP4 و نشانگرهای التهابی از جمله پروتئین واکنشی C با حساسیت بالا (hs-CRP) دستخوش تغییر می‌شود (۶). با این همه، برخی یافته‌ها نشان داده‌اند که غلظت‌های بالاتر hs-CRP با سطوح پایین‌تر رتینول در بیماری‌های التهابی وابسته است (۷، ۸)، اما پژوهش‌های دیگر نتوانسته‌اند این همبستگی را پیدا کنند (۹). از آنجا که بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی جزء کبدی نشانگان سوخت‌وسازی در نظر گرفته می‌شود و با افزایش التهاب همراه است، یافته‌ها نشان داده‌اند که افزایش التهاب و سطح مقاومت به انسولین همبستگی مثبتی نسبت به هم دارند (۱۰). از این رو گمان می‌رود با پیشرفت بیماری و افزایش سطح فشار اکسایشی و التهاب، نشانگرهای پاسخ‌دهنده به آن‌ها از جمله RBP4 و hs-CRP نیز دچار تغییر شوند (۱۱). با این همه، به دلیل اینکه تحقیقات کمی درباره همبستگی این دو متغیر با هم در بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی صورت گرفته است، نمی‌توان با قاطعیت تغییرات آن‌ها را در مواجهه با بیماری پیش‌بینی کرد. همچنین پیش‌بینی این تغییرات در برابر راهکارهای درمانی غیردارویی از جمله فعالیت ورزشی در حاله‌ای از ابهام قرار دارد.

فعالیت‌های تناوبی با شدت بالا (HIIT: High-intensity interval training) از جمله روش‌های نوینی هستند که نسبت به روش‌های هوازی تداومی، در مدت زمان کوتاه انجام می‌شوند و تأثیرات مثبت مشابه یا بالاتر را بر بهبود بیماری استئاتوهپاتیت

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease) یک چالش مهم بهداشت همگانی است که حدود یک‌چهارم جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و پیش‌بینی می‌شود شیوع آن در دهه آینده به ۵۶ درصد افزایش یابد (۱). بیماری کبد چرب غیرالکلی، از جمله استئاتوز ساده و استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH: Non-Alcoholic Steatohepatitis) که می‌تواند به سیروز و کارسینوم سلولی کبدی تبدیل شود، همبستگی نزدیکی با نشانگان سوخت‌وسازی دارد. پژوهش‌های موجود نشان می‌دهد که NAFLD نه تنها ممکن است به بیماری‌های داخل کبدی مانند کارسینوم سلول‌های کبدی پیشرفت کند، بلکه همبستگی نزدیکی با بیماری‌های خارج کبدی مانند بیماری‌های قلبی-عروقی، چاقی، دیابت دارد. از این رو درمان NAFLD و NASH ضروری است (۲).

پروتئین اتصال رتینول ۴ (RBP4: Retinol binding protein 4) یک پروتئین ۲۱ کیلو دالتونی متعلق به خانواده لیپوکالین و تنها پروتئین ناقل خاص شناخته شده برای ویتامین A است که سطوح در گردش رتینول به عنوان یک ضد اکساینده را تنظیم می‌کند (۳). اگرچه بافت چربی منبع مهمی از RBP4 است، اما بافت کبد تولیدکننده اصلی RBP4 است و می‌تواند به هومئوستاز رتینوئیدی کل بدن کمک کند (۴). رتینوئیدها ترکیبات چربی دوست هستند و تقریباً ۸۰ تا ۹۰ درصد تمام رتینوئیدها در بدن به صورت رتینیل استر (Retinyl Ester) در سلول‌های ستاره‌ای کبد (HSCs: Hepatic Stellate Cells) ذخیره می‌شوند. علاوه بر HSC، Res، HSCها حاوی قطرات چربی از جمله تری‌گلیسیرید، استرهای کلسترول، کلسترول، فسفولیپیدها و اسیدهای چرب آزادند. فعال شدن HSC برای ایجاد فیبروز کبدی بسیار مهم است و

بپردازند. با در نظر گرفتن این ویژگی‌های آب، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر بیان پروتئین RBP4 کبد، CRP سرم و سطح مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی ناشی از مصرف رژیم پرچرب انجام گرفت.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش تجربی و آزمایشگاهی، ۴۰ سر موش صحرایی نر شش تا هشت‌هفته‌ای نژاد Sprague – Dawley با میانگین وزنی 20 ± 230 گرم از دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و در حیوان‌خانه دانشگاه شیراز با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای ویژه حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و به‌صورت آزادانه در دسترس حیوانات قرار داده شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزادانه در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی تحقیق مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه شیراز با کد (IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008) صادر شد.

روش اجرای پژوهش: روش القای بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی: موش‌های صحرایی خریداری شده به دو گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند. گروه اول به‌عنوان گروه سالم، نگهداری شدند ($n=20$) و غذای استاندارد را دریافت کردند. مطابق پژوهش زو و همکاران (۲۰۰۶)، گروه دوم طی مدت هشت هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (HFD: High fat diet) قرار گرفتند تا بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی در آن‌ها القا شود ($n=20$) (۲۱). رژیم پرچرب به‌کاررفته در پژوهش حاضر به‌صورت امولسیون (به حالت مایع با

غیرالکلی می‌گذارند (۱۲). این نوع فعالیت‌های ورزشی به دوره‌های تمرین کوتاه با شدت بالا به‌همراه دوره‌های استراحت فعال بین آن‌ها تعریف می‌شود (۱۳). آقایی و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرینات تناوبی با شدت بالا سبب کاهش معنادار RBP4 عضله نعلی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو می‌شود (۱۴). قربانیان و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا می‌تواند راهبرد مناسب و پیشگیرانه‌ای برای بهبود سطوح RBP4 در زنان مبتلا به کبد چرب غیرالکلی باشد (۱۵). این در حالی است که فیلیپس و کوبولد (۲۰۱۴) بیان کردند که فعالیت‌های هوازی پرشدت طولانی‌مدت نسبت به کوتاه‌مدت تأثیر کمتری بر RBP4 دارد (۱۶). قربانیان و همکاران (۲۰۲۳) پس از انجام فعالیت ورزشی هوازی، عدم تغییر معنادار RBP4 را در مردان میانسال مبتلا به نشانگان سوخت‌وسازی نتیجه گرفتند (۱۷). نقی‌زاده و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا سبب بهبود hs-CRP و التهاب در مردان مبتلا به دیابت نوع دو می‌شود (۱۸). زولفی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند هشت هفته تمرین تناوبی با شدن بالا موجب کاهش hs-CRP در مردان مبتلا به چاقی می‌شود (۱۹). با این همه پژوهش‌های کمی در زمینه تأثیر تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا بر سطوح RBP4 و hs-CRP در بیماران NASH وجود دارد، به‌طوری‌که محققان پژوهش حاضر تحقیقی در این زمینه نیافتند. این در حالی است که آب به‌دلیل خواص ویژه خود از جمله انتقال دمای بسیار خوبی که دارد، می‌تواند از افزایش دمای زیاد هنگام فعالیت ورزشی جلوگیری کند و موجب پیشگیری از افزایش التهاب سراسری ناشی از افزایش دمای بدن شود (۲۰). همچنین با اعمال مقاومت‌های متغیر در شرایط بی‌وزنی، افراد چاق و مبتلا به NASH می‌توانند با شدت هدف خود به فعالیت ورزشی

قرار داده شد و سپس برای تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی مورفولوژی کبد و محتوای چربی، ذخیره شد. نمونه‌های کبد روی یک کرایواستات (CM3050S, Leica Microsystems, Nussloch, ساخت آلمان) به برش‌هایی به ضخامت پنج میکرومتر برش داده شدند. مقاطع کبد با (Merck, Darmstadt, Germany) Oil Red O (105230) رنگ‌آمیزی شدند. تصاویر، زیر میکروسکوپ نوری (Olympus, CX22, توکیو، ژاپن) دیده شد و از یک میدان تصادفی 40X از کبد هر موش صحرایی با استفاده از نرم‌افزار Toup View (ToupTek Photonics, Zhejiang, چین) گرفته شد (۲۲). پس از اثبات القای بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی (۲۳) در موش‌های صحرایی گروه بیمار استئاتوهپاتیت غیرالکلی به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل - NASH (n=۹) و تمرین - NASH (n=۹) و گروه سالم نیز به‌طور تصادفی در دو گروه کنترل - سالم (n=۹) و گروه تمرین - سالم (n=۹) جایگزین شدند. گفتنی است رژیم غذایی پرچرب در گروه‌های بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی تا پایان دوره تمرینات ادامه داشت.

روش تمرین: موش‌های گروه پژوهش به مدت دو هفته با محیط استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) آشنا شدند (۲۴). در هفته اول مرحله آشناسازی، موش‌ها با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب ۵۰ سانتی‌متر و میانگین دمای 30 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت ۲۰ دقیقه به‌طور متناوب شنا کردند. در هفته دوم وقتی که موش‌ها به‌خوبی با محیط استخر حیوانات آشنا شدند، برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، چندین مرتبه پس از یک دقیقه شنا به‌وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده شده و دوباره در آب قرار داده شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین جلسه آشناسازی، موش‌های صحرایی

ویسکوزیته بالا) استفاده شد و با استفاده از روش گاواژ روزانه (به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، علاوه بر غذای روزانه استاندارد حیوانات به موش‌های صحرایی گروه رژیم غذایی پرچرب خوراندند. محتوای این امولسیون شامل روغن ذرت، ساکارز، پودر شیر خشک، کلسترول، سدیم دزوکسی‌کولات، توئین ۸۰، پروپیلین گلیکول، مخلوط ویتامین و مواد معدنی و آب مقطر بود. در این امولسیون، پروتئین‌ها توسط پودر شیر خشک، کربوهیدرات‌ها توسط ساکاروز و چربی توسط روغن ذرت و پودر کلسترول تأمین شدند. هر وعده با مخلوطی از ویتامین و مواد معدنی تکمیل شد. این امولسیون در دمای چهار درجه سانتی‌گراد ذخیره، در حمام آب با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد گرم و پیش از استفاده کاملاً مخلوط شد (۲۱). این شیوه تغذیه‌ای به مدت هشت هفته ادامه داشت تا بر اساس پژوهش زو و همکاران (۲۰۰۶)، در موش‌های صحرایی که رژیم غذایی پرچرب مصرف می‌کردند، بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی القا شود (۲۱). به موش‌های صحرایی گروه سالم نیز از طریق تکنیک گاواژ، روزانه مقدار مساوی محلول نمک (سالین) داده شد. محتوای امولسیون پرچرب از ۷۷ درصد چربی، ۱۴ درصد پروتئین و ۹ درصد کربوهیدرات‌ها تشکیل شد. پس از پایان هشت هفته از هر گروه، دو رت به‌طور تصادفی انتخاب و تشریح شدند (گروه سالم: n=۲ و HFD: n=۲). برای اثبات بیماری NASH، از دید ماکروسکوپی (ظاهر، حالت و رنگ بافت)، میکروسکوپی (از طریق رنگ‌آمیزی H&E و Oil Red O) و همچنین، از نظر بیوشیمیایی (اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی ALT و AST) مقایسه و ارزیابی شدند. رنگ‌آمیزی Oil red O بافت کبد که قبلاً در نیتروژن مایع خنک شده بود، در ایزوپنتان (isopentane) غوطه‌ور شد و در دمای برش بهینه (Fisher HealthCare™ Tissue-Plus® (OCT

روش HIIT شنا به مدت هشت هفته (سه روز در هفته، روزهای زوج) انجام گرفت. در طول روش تمرین HIIT شنا بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به میزان هفت درصد وزن بدن هر موش بود و هر هفته یک درصد به آن اضافه شد؛ به طوری که در هفته آخر (هفته هشتم) موش‌ها با وزنه‌ای به میزان ۱۴ درصد وزن بدن خود که به ریشه دم آن‌ها بسته شد، شنا کردند (۲۵). تمرینات، عصرهنگام (بهترین زمان تمرین در ریتم و نواخت فعالیت طبیعی موش‌های صحرایی) انجام شد (۲۶).

گروه تمرین، روش HIIT شنا را آغاز کردند. بر اساس روش شنای تناوبی با شدت بالا، ابتدا پنج دقیقه گرم کردن و سپس تمرین اصلی HIIT شنا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. در پایان هر جلسه تمرین سرد کردن به مدت پنج دقیقه اعمال شد (جدول ۱) (۲۵). بر اساس روش سرد کردن، رت‌ها در مدت زمان مشخص شده، بدون وزنه در آب کم عمق (عمق آب ۴۰-۵۰ سانتی‌متر) شنا می‌کردند. سپس موش‌ها کاملاً خشک شده و به قفس‌هایشان منتقل می‌شدند.

جدول ۱. روش تناوبی شنا با شدت بالا

هفته‌ها	گرم کردن (دقیقه)	تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)	سرد کردن (دقیقه)
هفته اول	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۷	۵
هفته دوم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۸	۵
هفته سوم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۹	۵
هفته چهارم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۰	۵
هفته پنجم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۱	۵
هفته ششم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۲	۵
هفته هفتم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۳	۵
هفته هشتم	۵	۲۰	۳۰	۳۰	۱۴	۵

و زایل‌زین (سه تا پنج میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. ابتدا نمونه‌های خونی از قلب موش‌ها به مقدار پنج میلی لیتر گرفته شد، بلافاصله به داخل لوله آزمایش ژل کلات اکتیویتر انتقال داده شده و سپس از طریق سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن توسط سمپلر به میکروتیوب‌های دو سی‌سی سرم خون منتقل شد و برای بررسی نهایی در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس بافت کبد از بدن موش‌ها استخراج و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شد و سپس بلافاصله در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد. با استفاده از روش آزمایشگاهی فتومتریک، آنزیم‌های AST، ALT (شرکت

وزن موش‌ها از روز اول شروع دوره پژوهش و سپس هر هفته در روزهای جمعه، عصرهنگام مورد سنجش قرار می‌گرفت و تا پایان دوره پژوهش و روز تشریح این روند ادامه داشت. پس از به دست آوردن وزن هریک از موش‌ها در هر گروه، میانگین وزنی هر گروه مشخص و ثبت می‌شد. در مدت دوره مداخله، گروه‌های کنترل-سالم و کنترل-NASH هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند (۲۵).

روش‌های آزمایشگاهی: در پایان دوره پژوهش و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین به منظور از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای کنترل‌نشده تنش آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)

تاریک‌خانه و روش Striping بود (۲۵).
تحلیل آماری: در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی، میانگین، انحراف استاندارد و شکل استفاده شد. پس از اثبات توزیع طبیعی داده‌ها از طریق آزمون شاپیروویلک، از روش تجزیه و تحلیل واریانس یکطرفه برای تعیین تفاوت بین گروهی و در صورت معنادار بودن تفاوت‌ها، از آزمون تعقیبی بانفرونی برای تعیین تفاوت درون گروهی استفاده شد. همچنین از آزمون تی مستقل برای بررسی تفاوت میان دو گروه سالم و HFD در پایان مرحله القای NASH استفاده شد. سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. تمامی روش‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 26 انجام گرفت و برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel 2019 کمک گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به هشت هفته اول دوره پژوهش پس از القای بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی: یافته‌های مربوط به اثبات NASH در پایان دوره القای بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی از طریق رژیم پرچرب از نظر میکروسکوپی (شکل ۱)، میکروسکوپی (شکل ۲) و بیوشیمیایی (جدول ۲) آورده شده است.

پارس‌آزمون)، قند خون ناشتا (کیت سنجش گلوکز، شرکت پارس‌آزمون) و برای اندازه‌گیری hs-CRP (کیت (hs-CRP (26D7): sc-69770، شرکت SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC. و انسولین سرم (کیت: Rattus norvegicus (Rat) INS Matched Antibody Pair Kit، شماره کاتالوگ: MBS2098950) از روش الایزا و همچنین، برای اندازه‌گیری پروتئین RBP4 درون کبدی از روش وسترن بلات استفاده شد. به‌طور کلی مراحل انجام تکنیک وسترن بلات به ترتیب شامل لیز کردن بافت، تعیین غلظت پروتئین به وسیله بردفورد، تهیه غلظت‌های مختلف BSA برای کشیدن منحنی استاندارد، غلظت‌های پروتئین، آب و سمیل بافر، آماده‌سازی نمونه، ساخت الکتروفورز بر روی ژل SDS page، تهیه محلول‌ها، روش انجام آزمایش و ساختن ژل پایین و بالا، الکتروفورز بر ژل SDS page، وسترن بلات یا ایمنوبلاتینگ، مرحله انتقال از ژل به کاغذ، مرحله بلاکینگ، مرحله انکوبه کردن با آنتی‌بادی اولیه (β -Actin (C4): sc-47778, Anti-RBP4 antibody) (EPR18020-115] ab188230, abcam company)، مرحله انکوبه کردن با آنتی‌بادی ثانویه (m-IgG κ BP-) (sc-516102, mouse anti-rabbit IgG-HRP: sc-2357)، مرحله آشکارسازی، مرحله ظهور فیلم در

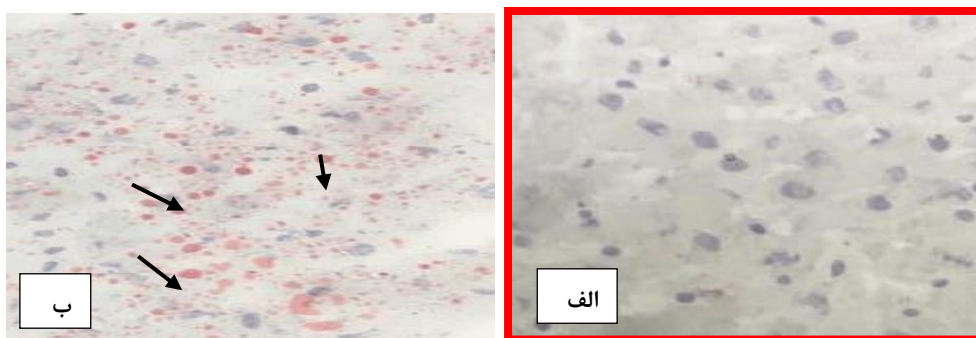


شکل ۱. مقایسه نمای ظاهری کبد سالم (الف) و کبد بیمار (ب)، بلافاصله پس از تشریح در پایان دوره القای بیماری NASH با رژیم پرچرب

همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، نمونه کبد گروه HFD با نمونه کبد سالم از نظر میکروسکوپی (ظاهری) با هم مقایسه شد. رنگ بافت کبد HFD به دلیل تجمع بالای تری‌گلیسیرید در آن متمایل به سفید و رنگ کبد سالم به دلیل عدم تجمع تری‌گلیسیرید به رنگ قرمز

است.

از نظر میکروسکوپی با استفاده از رنگ آمیزی Oil red O در گروه HFD تجمع چربی بیشتری وجود دارد، این در حالی است که هیچ نشانه‌ای از تجمع چربی در نمونه کبد گروه سالم وجود ندارد (شکل ۲).



شکل ۲. رنگ آمیزی بافت کبد توسط Oil red O (نمای میکروسکوپی)، الف: کبد سالم - به دلیل نبود چربی هیچ نوع رنگ قرمزی به خود نگرفته است ب: کبد چرب، لیپیدها به رنگ قرمز درآمده‌اند.

همان‌گونه که در شکل ۲ دیده می‌شود، تعداد نقطه‌های قرمز رنگ در نمونه کبد HFD، نشان‌دهنده میزان تجمع تری‌گلیسیرید در این بافت است. با این همه، در نمونه کبد سالم هیچ نوع نقطه قرمز رنگی دیده نمی‌شود و بیانگر عدم تجمع تری‌گلیسیرید در نمونه بافت کبد

سالم است.

همچنین یافته‌های مربوط به آنزیم‌های کبدی AST و ALT سرم در موش‌های صحرایی تشریح شده در پایان دوره القای NASH از طریق رژیم پرچرب در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. یافته‌های مربوط به آنزیم‌های کبدی AST و ALT سرم جهت اثبات NASH

متغیر	گروه	میانگین \pm انحراف استاندارد	p-value
AST (U/L)	سالم	۳۹/۸۱۰ \pm ۱/۴۰۰	۰/۰۲۲*
	HFD	۶۴/۳۷۰ \pm ۳/۴۷۰	
ALT (U/L)	سالم	۴۳/۳۴۵ \pm ۲/۹۵۵	۰/۰۲۶*
	HFD	۶۷/۱۲۰ \pm ۲/۵۸۰	

*P<۰/۰۵, **P<۰/۰۱, ***P<۰/۰۰۱

بر اساس داده‌های جدول ۲ تفاوت معناداری میان دو گروه سالم و گروه رژیم پرچرب (HFD) در آنزیم‌های کبدی AST و ALT سرم وجود دارد. نتایج مربوط به هشت هفته دوم دوره پژوهش و بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی: بررسی نتایج به دست آمده از

آزمون شاپیروویلیک نشان داد، داده‌های تمام متغیرهای مورد بررسی از توزیع طبیعی برخوردار بودند. یافته‌های توصیفی مربوط به متغیرهای انسولین، قند خون ناشتا و مقاومت به انسولین در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳. یافته‌های توصیفی انسولین، قند خون ناشتا و مقاومت به انسولین سرم خون گروه‌های پژوهش

نام متغیر	گروه‌های پژوهش	M±SD	کمترین داده	بیشترین داده
انسولین (Ng/ml)	کنترل-سالم	۰/۳۲۵ ± ۰/۰۵۱	۰/۱۷۸	۰/۴۹۶
	تمرین-سالم	۰/۳۴ ± ۰/۰۴۷	۰/۲۲۴	۰/۵۰۸
	کنترل-NASH	۰/۷۷۱ ± ۰/۰۹۵	۰/۴۵۶	۱/۰۴۲
	تمرین-NASH	۰/۷۴۲ ± ۰/۰۷۴	۰/۴۹	۰/۹۵۴
قند خون ناشتا (Mg/dl)	کنترل-سالم	۷۷ ± ۳/۵۱۲	۶۶	۸۹
	تمرین-سالم	۱۶۴/۵ ± ۷/۸۱۸	۱۴۴	۱۹۳
	کنترل-NASH	۲۸۵/۳۳ ± ۱۳/۸۸۹	۲۳۹	۳۳۴
	تمرین-NASH	۱۹۰ ± ۶/۶۴۳	۱۶۹	۲۱۳
مقاومت به انسولین (micro.U/L)	کنترل-سالم	۰/۱۳۸ ± ۰/۰۱	۰/۱۰۲	۰/۱۶۸
	تمرین-سالم	۰/۱۵۵ ± ۰/۰۲۸	۰/۰۸۵	۰/۲۴۴
	کنترل-NASH	۰/۳۱۲ ± ۰/۰۳۷	۰/۱۶۲	۰/۴۰۹
	تمرین-NASH	۰/۲۴۴ ± ۰/۰۴	۰/۱۳۲	۰/۳۸۵

جدول ۴. مقایسه بین گروه‌های پژوهش در متغیرهای انسولین، قند خون ناشتا و مقاومت به انسولین

گروه مورد مقایسه (I)	گروه مورد مقایسه (II)	انسولین (Ng/ml)	قند خون ناشتا (Mg/dl)	مقاومت به انسولین (micro.U/L)
کنترل-سالم	کنترل-NASH	۰/۰۰۱ ^{۰/۴۴۶***}	۰/۰۰۱ ^{۲۰۸۳۳۳***}	۰/۰۰۵ ^{۰/۱۷۳***}
تمرین-سالم	تمرین-سالم	۱ ^{۰/۰۱۵}	۰/۰۰۱ ^{۸۷/۵۰۰***}	۱ ^{۰/۰۱۶}
تمرین-NASH	تمرین-NASH	۰/۰۰۳ ^{۰/۴۱۶***}	۰/۰۰۱ ^{۱۱۳/۰۰۰***}	۰/۱۰۵ ^{۰/۱۶۷}
تمرین-سالم	کنترل-NASH	۰/۰۰۲ ^{۰/۳۱۱***}	۰/۰۰۱ ^{۱۲۰/۸۳۳***}	۰/۱۵۷ ^{۰/۰۱۲}
تمرین-NASH	تمرین-NASH	۰/۰۰۴ ^{۰/۴۰۱***}	۰/۳۲۴ ^{۲۵/۵}	۰/۳۵۴ ^{۰/۰۸۹}
کنترل-NASH	تمرین-NASH	۰/۹۳۴ ^{۰/۱۰۴}	۰/۰۰۱ ^{۹۵/۳۳۳***}	۰/۸۳۸ ^{۰/۰۶۸}

P<۰/۰۰۱:***, P<۰/۰۱:**, P<۰/۰۵:*

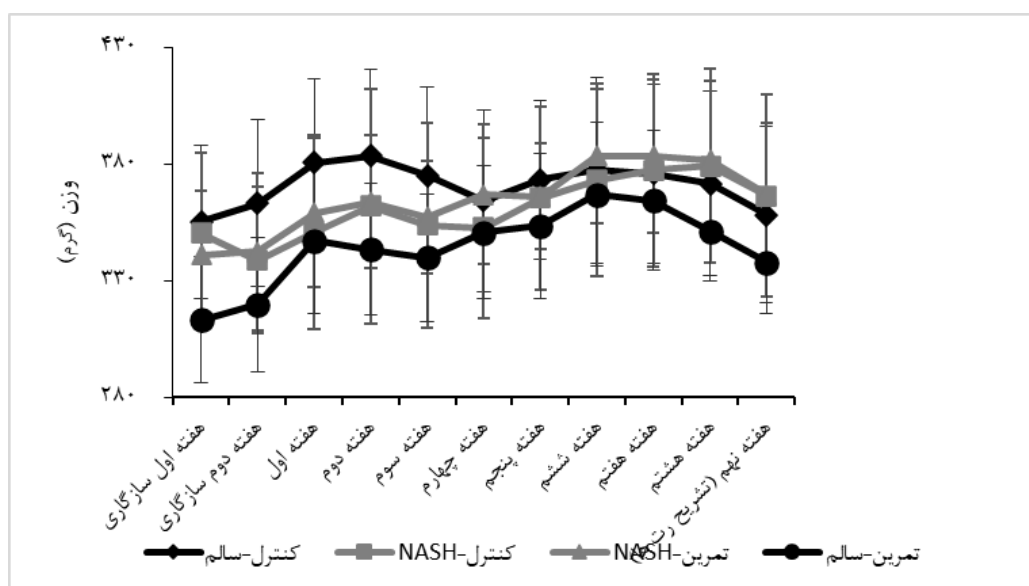
نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه مربوط به سه متغیر انسولین، قند خون ناشتا و مقاومت به انسولین، تفاوت معنادار میان گروه‌ها در متغیرهای انسولین (P=۰/۰۰۱)، قند خون ناشتا (P=۰/۰۰۱) و مقاومت به انسولین (P=۰/۰۰۳) را نشان داد (جدول ۴). همچنین یافته‌ها در متغیر انسولین، افزایش معنادار در گروه کنترل-NASH (P=۰/۰۰۱) و گروه تمرین-NASH (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل-سالم (P=۰/۰۰۱) در افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین-NASH و افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین-سالم (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل-سالم و کاهش معنادار گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-سالم (P=۰/۰۰۱) را نشان داد. همچنین افزایش معنادار در گروه کنترل-NASH (P=۰/۰۰۱) و افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین-NASH (P=۰/۰۰۵) و افزایش غیرمعنادار گروه

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه مربوط به سه متغیر انسولین، قند خون ناشتا و مقاومت به انسولین، تفاوت معنادار میان گروه‌ها در متغیرهای انسولین (P=۰/۰۰۱)، قند خون ناشتا (P=۰/۰۰۱) و مقاومت به انسولین (P=۰/۰۰۳) را نشان داد (جدول ۴). همچنین یافته‌ها در متغیر انسولین، افزایش معنادار در گروه کنترل-NASH (P=۰/۰۰۱) و گروه تمرین-NASH (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل-سالم (P=۰/۰۰۱) در افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین-NASH و افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین-سالم (P=۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل-سالم و کاهش معنادار گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-سالم (P=۰/۰۰۱) را نشان داد. همچنین افزایش معنادار در گروه کنترل-NASH (P=۰/۰۰۱) و افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین-NASH (P=۰/۰۰۵) و افزایش غیرمعنادار گروه

NASH نسبت به کنترل-NASH ($P=0/838$) دیده شد.

یافته‌های مربوط به متغیر وزن در گروه‌های پژوهش طی هفته‌های آشناسازی و تمرین (هشت هفته دوم تا پایان دوره پژوهش) در شکل ۱ نشان داده شده است.

تمرین-NASH ($P=0/105$) و گروه تمرین-سالم ($P=1/000$) در مقایسه با گروه کنترل-سالم دیده شد. افزایش غیرمعنادار گروه کنترل-NASH ($P=0/157$) و تمرین-NASH ($P=0/354$) در مقایسه با گروه تمرین-سالم نشان داده شد. همچنین کاهش غیرمعنادار گروه تمرین-



شکل ۳. تغییرات وزن چهار گروه پژوهش در دوره آشناسازی، تمرین (هشت هفته دوم) تا پایان دوره پژوهش -*: کاهش معنادار در گروه تمرین-سالم نسبت به گروه کنترل-سالم و گروه کنترل-NASH -P

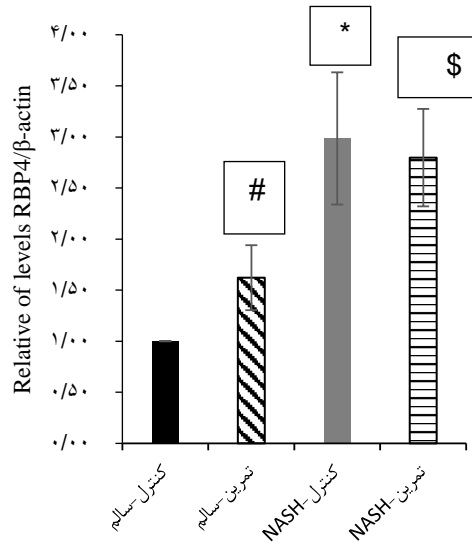
معنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-سالم ($P=0/008$) وجود داشت. همچنین کاهش معنادار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-NASH ($P=0/038$) و کاهش غیرمعنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-NASH ($P=0/762$) دیده شد. افزایش غیرمعنادار این پروتئین در گروه تمرین-سالم در مقایسه با کنترل-سالم ($P=0/124$) نیز وجود داشت.

نتایج تغییرات در پروتئین hs-CRP میان گروه‌ها افزایش معنادار گروه کنترل-NASH در مقایسه با کنترل-سالم ($P=0/001$) و نیز افزایش معنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با گروه کنترل-سالم ($P=0/005$) را نشان داد (شکل ۶).

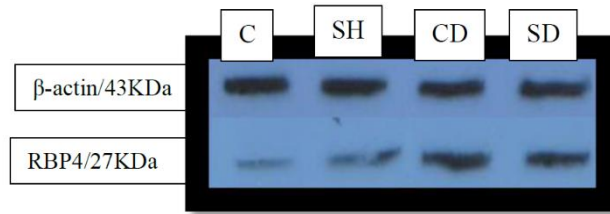
بر اساس شکل ۳ و داده‌های میانگین متغیر وزن در هر چهار گروه پژوهش تا پایان دوره مداخله تمرینی، کاهش معنادار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-سالم ($P=0/003$) و گروه کنترل-NASH ($P=0/002$) نشان داده شد.

یافته‌ها در بیان پروتئین RBP4، تفاوت معنادار در میان گروه‌ها را نشان داد ($P=0/001$) (شکل ۴). همچنین تغییرات پروتئین RBP4 بافت کبد به صورت باندهای رنگی و کیفی-بصری از روش اندازه‌گیری وستریلاتینگ نشان داده شد (شکل ۵).

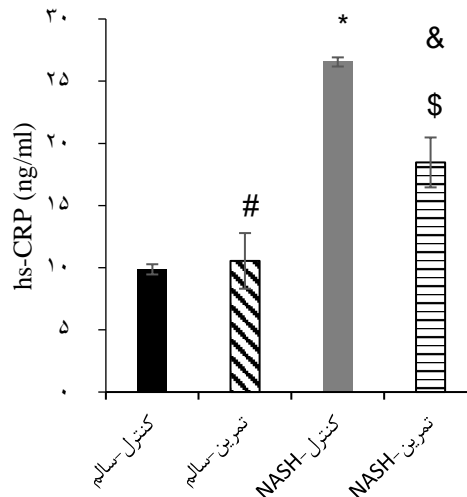
همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، افزایش معنادار پروتئین RBP4 در گروه کنترل-NASH در مقایسه با گروه کنترل-سالم ($P=0/004$) و افزایش



شکل ۴. نسبت بیان RBP4/β-actin - افزایش معنادار در گروه کنترل-NASH در مقایسه با کنترل-سالم (P=0/004)، \$: افزایش معنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-سالم (P=0/008)، #: کاهش معنادار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با کنترل-NASH (P=0/038)



شکل ۵. تغییرات پروتئین RBP4 - باندهای پروتئینی به تفکیک هر گروه مشخص شده است. میزان شدت رنگ و ضخامت باندها نسبت به بتا اکتین سطح غلظت پروتئین RBP4 بافت کبد را نشان می‌دهد (C: کنترل-سالم، SH: تمرین-سالم، CD: کنترل-NASH، SD: تمرین-NASH).



شکل ۶. تغییرات پروتئین hs-CRP سرم - *: افزایش معنادار در گروه کنترل-NASH در مقایسه با کنترل-سالم (P=0/001)، &: افزایش معنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-سالم (P=0/005)، #: کاهش معنادار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با کنترل-NASH (P=0/007) و تمرین-NASH (P=0/008)، \$: کاهش معنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-NASH (P=0/007)

بر اساس شکل ۶، کاهش معنادار پروتئین hs-CRP در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-NASH ($P=0/001$) و گروه تمرین-NASH ($P=0/008$) دیده شد. همچنین کاهش معنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با گروه کنترل-NASH ($P=0/007$) و افزایش غیرمعنادار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با کنترل-سالم ($P=0/894$) نشان داده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شنا با شدت بالا بر بیان پروتئین RBP4 کبد، hs-CRP سرم و مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی ناشی از مصرف رژیم پرچرب انجام گرفت. نتایج نشان داد پس از القای کبد چرب بیان پروتئین RBP4 در گروه‌های تمرین-NASH و کنترل-NASH به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم بیشتر بود. با این همه، کاهش غیرمعنادار در گروه تمرین-NASH در مقایسه با گروه کنترل-NASH وجود داشت.

همچنین افزایش غیرمعنادار این پروتئین در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-سالم دیده شد. سطح قند خون ناشتا نیز در گروه تمرین-NASH در مقایسه با گروه کنترل-NASH کاهش معنادار، اما در متغیرهای مقاومت به انسولین و انسولین کاهش غیرمعنادار داشت. نانکام و بلوهر (۲۰۲۱)، کاهش سطح بیان RBP4 را پس از فعالیت ورزشی نتیجه‌گیری کردند (۲۷). این نتیجه موجب بهبود حساسیت به انسولین ناشی از تمرین ورزشی می‌شود که با سطوح پایین‌تر RBP4 مرتبط است (۲۸). تقیان و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که RBP4 همبستگی مستقیمی با مقاومت به انسولین در زنان دیابتی دارد، همچنین فعالیت ورزشی به‌طور چشمگیری بیان پروتئین RBP4، گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین را کاهش داد (۲۹).

قربانیان و همکاران (۲۰۲۳) به این نتیجه رسیدند که انجام فعالیت هوازی به‌همراه محدودیت کالریک می‌تواند سبب کاهش معنادار RBP4 سرم و مقاومت به انسولین مردان دارای نشانگان سوخت‌وسازی شود (۱۷). یافته‌های پژوهش حاضر نیز این کاهش را نشان داد، اگرچه این کاهش غیرمعنادار بود. از دلایل غیرمعنادار شدن این متغیرها در پژوهش حاضر در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-NASH می‌توان به مصرف مداوم رژیم پرچرب (۷۷ درصد چربی) در کل دوره پژوهش اشاره کرد. این در حالی است که در پژوهش قربانیان و همکاران (۲۰۲۳) محدودیت کالریک به‌همراه تمرین هوازی بر آزمودنی‌ها اعمال شده بود. پس می‌توان گفت در پژوهش حاضر تمرین شنای تناوبی با شدت بالا با وجود عدم محدودیت کالریک و مصرف دائم رژیم با چربی ۷۷ درصد، کاهش غیرمعنادار در دو متغیر مذکور ایجاد کرد و مانع از پیشرفت آن‌ها و وخیم‌تر شدن مقاومت به انسولین شد (۱۷). با این همه، کاهش معنادار قند خون ناشتا در این گروه در مقایسه با کنترل-NASH دیده شد. گمان می‌رود با طولانی شدن طول مدت دوره تمرین، مقاومت به انسولین نیز متعاقب قند خون ناشتا در سازگاری به تمرین به کاهشی معناداری دست می‌یافت. تقیان و همکاران (۲۰۱۴) کاهش معنادار RBP4، قند خون ناشتا، انسولین و مقاومت به انسولین را پس از هشت هفته تمرین هوازی روی تردمیل در زنان دارای مقاومت به انسولین مشاهده کردند (۳۰). این یافته‌ها با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد، زیرا در پژوهش حاضر نیز فعالیت تناوبی شنا با شدت بالا توانست قند خون ناشتا را کاهش دهد و مقاومت به انسولین و عامل وابسته به آن یعنی پروتئین RBP4 درون‌کبدی را کنترل کند و مانع از افزایش بیشتر آن شود. پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد با وجود عدم محدودیت کالریک در پژوهش حاضر، تمرین شنای تناوبی با شدت

اشاره شد، چاقی از عوامل مؤثر در افزایش سطوح پروتئین RBP4 در انسان است. همچنین یافته‌ها نشان داده‌اند که سطح پروتئین RBP4 در افراد چاق بسیار بالاتر از افراد لاغر است (۲۸). بنابراین کاهش وزن سبب کاهش غلظت سرمی RBP4 می‌شود (۳۶). یافته‌ها نشان داده‌اند که کاهش وزن به مقدار پنج درصد، به کاهش مقاومت به انسولین منجر می‌شود، با این همه، اثر کاهشی غیرمعنادار بر بیان RBP4 دارد (۳۷).

با افزایش تجمع چربی در کبد، بیان RBP4 افزایش می‌یابد. در پی آن، بیان PEPCK افزایش می‌یابد و در نتیجه تولید گلوکز کبدی و ترشح آن به درون خون بالا می‌رود و در نتیجه قند خون افزایش می‌یابد (۳۸). از سوی دیگر در پی افزایش بیان RBP4 ناشی از بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی شاید فعالیت مسیر پیام‌رسانی IRS1/PI3K/AKT در عضله اسکلتی به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد و در نتیجه بیان GLUT4 عضله اسکلتی به‌شدت پایین می‌آید و به‌دنبال آن عضله اسکلتی نمی‌تواند گلوکز خون را برداشت کند و موجب تشدید مقاومت به انسولین می‌شود (۳۸). همچنین با افزایش بافت چربی و همچنین تجمع تری‌گلیسیرید در کبد، افزایش RBP4 با اختلال در پیام‌رسانی انسولین از طریق افزایش فعالیت سازوکار STRA6/JAK2/STAT5 وابسته است و سبب اختلال بالقوه بر عملکرد انسولین و افزایش مقاومت به انسولین می‌شود. همچنین افزایش RBP4 موجب افزایش فعالیت سازوکار TLR4/MD2/MyD88 می‌شود و در نتیجه بیان عوامل التهابی از جمله CRP را به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهد (۳۸).

CRP از عوامل التهابی مهم است که سطوح سرمی آن در این پژوهش حاضر بررسی شد. CRP از کبد ترشح می‌شود و وقتی بدن دچار تروما، التهاب یا واکنش استرسی می‌شود، سطح سرمی آن افزایش می‌یابد. یافته‌های پژوهش حاضر نیز نشان داد سطح سرمی CRP در گروه کنترل-NASH در مقایسه با سایر گروه‌ها از

بالا (تمرین در آب) همانند تمرین هوازی روی تردمیل (تمرین در خشکی) در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی دارای مقاومت به انسولین، می‌تواند اثر سازگاری کاهشی داشته باشد و آن را کنترل کند. این یافته یک نقطه بالقوه مثبت از تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا در درمان غیردارویی بیماران متابولیک است، چراکه این چالش و اختلاف‌نظر میان پژوهشگران وجود دارد که تمرینات در آب نسبت به تمرینات در خشکی می‌تواند اثربخشی درمانی داشته باشد یا خیر (۳۱، ۳۲). نکته شایان ذکر این است که مقاومت به انسولین و عوامل سلولی-مولکولی وابسته به آن با برخی از اجزای نشانگان سوخت‌وسازی از جمله وزن بدن همبستگی مثبت دارد. یافته‌های وزن در پژوهش حاضر نشان داد که وزن در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل- NASH کاهش غیرمعنادار را تجربه کرد. با توجه به اینکه تغییرات وزن و مقاومت به انسولین همبستگی مثبتی دارند (۳۳)، شاید می‌توان یکی از دلایل عدم معناداری بیان پروتئین RBP4 و مقاومت به انسولین را عدم تغییر معنادار متغیر وزن در دو گروه در مقایسه با هم مطرح کرد. از طرف دیگر تغییرات وزن گروه تمرین- سالم دارای کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل- NASH و گروه کنترل- سالم بود. در سطح سلولی-مولکولی نیز این نتیجه دیده شد و کاهش معنادار RBP4 در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل- NASH مشهود بود. پس می‌توان یافته پژوهش حاضر در این زمینه را اثباتی در راستای همبستگی مستقیم وزن با پروتئین RBP4 و مقاومت به انسولین در بیماران استئاتوهپاتیت غیرالکلی دانست. پژوهش‌ها نشان داده‌اند ورزش هوازی سطح RBP4 را در زنان یائسه مبتلا به دیابت نوع دو، زنان میانسال و زنان جوان کاهش می‌دهد (۳۴). در پژوهشی در پاسخ به چهار هفته تمرین ورزشی در طیف سنی وسیعی از بیماران، سطح پروتئین RBP4 کاهش یافت (۳۵). همان‌طور که

جمله کنترل-سالم افزایش معنادار داشت. با توجه به پژوهش‌های پیشین که بیان کرده بودند CRP یک نشانگر التهابی حاد محسوب می‌شود، در اینجا نیز این مطلب به خوبی مشهود است که با افزایش پیشرفت بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی ناشی از مصرف دائم رژیم پرچرب، سطح CRP سرم خون در گروه کنترل-NASH افزایش معنادار داشته است. از سوی دیگر یافته‌های دیگر این پژوهش نشان داد سطح CRP سرم در گروه تمرین-NASH در مقایسه با گروه کنترل-NASH کاهش معنادار داشت. این نشان می‌دهد که فعالیت شنای تناوبی با شدت بالا می‌تواند سبب کاهش معنادار التهاب سراسری و شاید التهاب بافت کبد در این بیماری شود. از آنجا که پژوهش‌های پیشین همبستگی مستقیم سطح التهاب با سطح مقاومت به انسولین در بیماری‌های متابولیکی از جمله بیماری کبد چرب غیرالکلی و دیابت نوع دو را نشان داده‌اند (۳۹،۴۰)، در پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش معنادار سطح CRP سرم به‌عنوان یک نشانگر اصلی التهاب سبب کاهش مقاومت به انسولین و عامل مولکولی وابسته به آن یعنی RBP4 شده است. با این همه علاوه بر این نتایج می‌توان گفت با وجود کاهش معنادار التهاب سراسری ناشی از فعالیت شنای تناوبی با شدت بالا، تغییرات مولکولی از RBP4 در بافت کبد کاهش غیرمعنادار داشته است و این می‌تواند یک دلیل مهم از این موضوع باشد که چرا مقاومت به انسولین همراستا با سطح التهاب سراسری کاهش معنادار نداشته است. همچنین از نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت با وجود کاهش غیرمعنادار وزن در گروه تمرین-NASH در مقایسه با کنترل-NASH، با اینکه مصرف دائم رژیم پرچرب، اما سطح التهاب سراسری کاهش معنادار داشت. این یافته می‌تواند جزو اولین نتایج میان پژوهش‌های پیشین باشد، چراکه برای اولین بار نشان داده شد تمرینات شنای تناوبی با شدت بالا، مستقل از کاهش

معنادار وزن، می‌تواند سطح التهاب سراسری در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی را کاهش دهد و در نتیجه بهبود نسبی در مقاومت به انسولین و کاهش گلوکز خون به‌وجود آید. با این حال به دلیل اینکه عامل CRP با استرس همبستگی مستقیمی دارد (۴۱)، ممکن است تنش ناشی از تمرین شنا، کمی بر سطوح سرمی این پروتئین تأثیر گذاشته باشد که می‌توان این مطلب را جزو محدودیت‌های پژوهش حاضر به‌شمار آورد. با این همه مطابق با روش کار، سازگاری با تمرین به‌طور مناسب صورت گرفت، اما کنترل کامل استرس موش‌های صحرایی به‌صورت کامل تحت کنترل پژوهشگران نبود. بنابراین پیشنهاد می‌شود طول مدت دوره تمرینی در پژوهش‌های آینده افزایش یابد تا مشخص شود سازگاری‌های کاهشی به‌وجودآمده در سطح سرم، تا چه اندازه می‌تواند با سازگاری‌های کاهشی در درون بافت کبد در این نوع بیماری وابسته باشد.

روی‌هم‌رفته با توجه به نتایج این پژوهش گمان می‌رود تمرین شنای تناوبی با شدت بالا، بدون محدودیت کالریک، به‌طور نهفته می‌تواند سطح التهاب سراسری را کاهش دهد و سبب کاهش قند خون ناشتا شود. همچنین این نوع فعالیت ورزشی، می‌تواند از پیشرفت بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی از طریق کنترل بیان پروتئین RBP4 درون‌کبدی و مقاومت به انسولین جلوگیری کند و شاید به‌عنوان یک عامل پیشگیری‌کننده بالقوه در این بیماری معرفی شود. با این همه، چون پژوهش حاضر جزو اولین پژوهش‌ها در این زمینه بوده است، می‌بایست تا حصول نتایج قطعی، پژوهش‌های بیشتری در این زمینه انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

از نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی که فرصت ارائه این مطالب را در اختیار ما قرار دادند، صمیمانه سپاسگزاریم.

10.3389/fphys.2021.659977

حمایت مالی

پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی از سازمان خاصی دریافت نکرده است.

5. Chen G. The link between hepatic vitamin A metabolism and nonalcoholic fatty liver disease. *Current drug targets*. 2015 Nov 1;16(12):1281-92. DOI: 10.2174/1389450116666150325231015

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده‌سازی مقاله مشارکت یکسان داشته‌اند.

6. Zou W, Wang Z, Xia J, Yang J. Retinol-binding protein 4 (RBP4) and high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) levels in patients with diminished ovarian reserve (DOR): a cross-sectional study. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2020 Dec;18:1-7. DOI:10.1186/s12958-020-00670-4

تعارض منافع

تمامی نویسندگان اظهار می‌کنند هیچ‌گونه تعارض منافی بین آنها وجود ندارد.

7. Li J, Huang X, Jiang Y, Luo F, Mao Z. Expression and clinical significance of serum retinol binding protein 4, superoxide dismutase and hypersensitive C-reactive protein in patients with acute ST-segment elevated myocardial infarction. *Zhonghua wei Zhong Bing ji jiu yi xue*. 2020 Oct 1;32(10):1199-202. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200113-00132

منابع

8. Wood AD, Strachan AA, Thies F, Aucott LS, Reid DM, Hardcastle AC, Mavroei A, Simpson WG, Duthie GG, Macdonald HM. Patterns of dietary intake and serum carotenoid and tocopherol status are associated with biomarkers of chronic low-grade systemic inflammation and cardiovascular risk. *British journal of nutrition*. 2014 Oct;112(8):1341-52. DOI: 10.1017/S0007114514001962
9. De Dios O, Navarro P, Ortega-Senovilla H, Herrero L, Gavela-Pérez T, Soriano-Guillen L, Lasunción MA, Garcés C. Plasma retinol levels and high-sensitivity C-reactive protein in prepubertal children. *Nutrients*. 2018 Sep 7;10(9):1257. DOI: 10.3390/nu10091257

1. Huang DQ, El-Serag HB, Loomba R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2021 Apr;18(4):223-38. DOI: 10.1038/s41575-020-00381-6
2. Hu R, Yang X, He X, Song G. The relationship between NAFLD and retinol-binding protein 4-an updated systematic review and meta-analysis. *Lipids in Health and Disease*. 2023 Jan 21;22(1):8. DOI:10.1186/s12944-022-01771-2
3. Liu Y, Mu D, Chen H, Li D, Song J, Zhong Y, Xia M. Retinol-binding protein 4 induces hepatic mitochondrial dysfunction and promotes hepatic steatosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016 Nov 1;101(11):4338-48. DOI: 10.1210/jc.2016-1320
4. Steinhoff JS, Lass A, Schupp M. Biological functions of RBP4 and its relevance for human diseases. *Frontiers in Physiology*. 2021 Mar 11;12:659977. DOI:

10. Watt MJ, Miotto PM, De Nardo W, Montgomery MK. The liver as an endocrine organ—linking NAFLD and insulin resistance. *Endocrine reviews*. 2019 Oct;40(5):1367-93. DOI: 10.1210/er.2019-00034
11. Kataria Y, Deaton RJ, Enk E, Jin M, Petrauskaitė M, Dong L, Goldenberg JR, Cotler SJ, Jensen DM, Van Breemen RB, Gann PH. Retinoid and carotenoid status in serum and liver among patients at high-risk for liver cancer. *BMC gastroenterology*. 2016 Dec;16:1-2. DOI: 10.1186/s12876-016-0432-5
12. Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjaee S, Khakdan S. High-intensity interval training (HIIT) alleviated NAFLD feature via miR-122 induction in liver of high-fat high-fructose diet induced diabetic rats. *Archives of physiology and biochemistry*. 2020 May 26;126(3):242-9. DOI: 10.1080/13813455.2018.1510968
13. Khalafi M, Symonds ME. The impact of high intensity interval training on liver fat content in overweight or obese adults: A meta-analysis. *Physiology & Behavior*. 2021 Jul 1;236:113416. DOI: 10.1016/j.physbeh.2021.113416
14. Khalafi M, Symonds ME. The impact of high intensity interval training on liver fat content in overweight or obese adults: A meta-analysis. *Physiology & Behavior*. 2021 Jul 1;236:113416. DOI: 10.1111/jdi.12186
15. Ghorbanian B, Saberi Y. Changes in Fetuin-B and RBP4 During A Course of High-Intensity Interval Training in Women with Nonalcoholic Fatty Liver. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2021 Jan 1;23(1). DOI: 10.22088/jbums.23.1.398
16. Phillips A, Cobbold C. A Comparison of the Effects of Aerobic and Intense Exercise on the Type 2 Diabetes Mellitus Risk Marker Adipokines, Adiponectin and Retinol Binding Protein-4. *International journal of chronic diseases*. 2014;2014(1):358058. DOI: 10.1155/2014/358058
17. Ghorbanian B, Wong A, Iranpour A. The effect of dietary carbohydrate restriction and aerobic exercise on retinol binding protein 4 (RBP4) and fatty acid binding protein 5 (FABP5) in middle-aged men with metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition*. 2023 Aug;130(4):553-63. DOI:10.1017/S0007114522003580
18. Naghizadeh H, Heydari F. The effect of 12 weeks of high-intensity interval training and curcumin consumption on plasma levels of IL-6, TNF-alpha and CRP in men with type II diabetes along with hyperlipidemia. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2023 Mar 21;11(25):22-36. DOI:10.22077/jpsbs.2022.4895.1682
19. Zolfi H, Shakib A, Valipour A. The effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on mir-27a levels and serum c-reactive protein (CRP) concentration in middle-aged obese men. *Daneshvar Medicine*. 2022 Oct 23;30(4):36-47. DOI:10.22070/daneshmed.2022.16187.1205
20. Wang S, Zhou H, Zhao C, He H. Effect of exercise training on body composition and inflammatory cytokine levels in overweight and obese individuals: a systematic review and network meta-analysis. *Frontiers in immunology*. 2022 Jun 23;13:921085. DOI: 10.3389/fimmu.2022.921085
21. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, Zhang L, Wang Y. High-fat emulsion-

- induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life sciences*. 2006 Aug 8;79(11):1100-7. DOI: 10.1016/j.lfs.2006.03.021
22. Chen B, Ma Y, Xue X, Wei J, Hu G, Lin Y. Tetramethylpyrazine reduces inflammation in the livers of mice fed a high fat diet. *Molecular Medicine Reports*. 2019 Apr 1;19(4):2561-8. DOI: 10.3892/mmr.2019.9928
23. Jowhari A, Daryanoosh F, Jahromi MK, Nekooeian AA. Effect of High-intensity Intermittent Swimming Training on peroxisome proliferator-activated receptors- α and Liver Enzymes in Non-alcoholic Steatohepatitis Male Rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2022 Dec 25. DOI:10.18502/ssu.v30i10.11454
24. Farzanegi P, Habibian M, Alinejad H. The combined effect of regular aerobic exercise with garlic extract on renal apoptosis regulatory factors in aged rats with chronic kidney disease. *Arak Medical University Journal*. 2016 Jan 1;19(3):62-70.[In Persian].
25. Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Guerra Martinez C, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, Galina A. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *PloS one*. 2015 Jun 29;10(6):e0131766. DOI: 10.1371/journal.pone.0131766
26. Shafiee A, Gaeini A, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2014 Jun 10;17(3):26-34.[In Persian].
27. Nankam PA, Blüher M. Retinol-binding protein 4 in obesity and metabolic dysfunctions. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2021 Jul 1;531:111312. DOI: 10.1016/j.mce.2021.111312
28. Olsen T, Blomhoff R. Retinol, retinoic acid, and retinol-binding protein 4 are differentially associated with cardiovascular disease, type 2 diabetes, and obesity: an overview of human studies. *Advances in Nutrition*. 2020 May 1;11(3):644-66. DOI: 10.1093/advances/nmz131
29. Taghian F. Concurrent exercise and aerobic-resistance exercise ameliorate the serum of Retinol-Binding Protein-4 level and insulin resistance in postmenopausal women. *Science & Sports*. 2022 Dec 1;37(8):736-44. DOI: 10.1016/j.scispo.2021.06.010
30. Taghian F, Zolfaghari M, Hedayati M. Effects of aerobic exercise on serum retinol binding protein4, insulin resistance and blood lipids in obese women. *Iranian Journal of Public Health*. 2014 May;43(5):658. PMID: 26060767
31. Kurobe K, Kousaka A, Ogita F, Matsumoto N. Metabolic responses to exercise on land and in water following glucose ingestion. *Clinical physiology and functional imaging*. 2018 Mar;38(2):227-32. DOI: 10.1111/cpf.12404
32. Lopera CA, da Silva DF, Bianchini JA, Locateli JC, Moreira AC, Dada RP, Thivel D, Junior NN. Effect of water-versus land-based exercise training as a component of a multidisciplinary intervention program for

- overweight and obese adolescents. *Physiology & behavior*. 2016 Oct 15;165:365-73. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.08.019
33. Whillier S. Exercise and insulin resistance. *Physical exercise for human health*. 2020:137-50. DOI: 10.1007/978-981-15-1792-1_9
34. Zouhal H, Zare-Kookandeh N, Haghighi MM, Daraei A, de Sousa M, Soltani M, Abderrahman AB, M. Tijani J, Hackney AC, Laher I, Saeidi A. Physical activity and adipokine levels in individuals with type 2 diabetes: A literature review and practical applications. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2021 Dec;22(4):987-1011. DOI: 10.1007/s11154-021-09657-x
35. Young L. The Influence of Acute and Chronic Exercise on Retinol Binding Protein 4 and Markers of Skeletal Muscle Glucose Uptake (Doctoral dissertation, The University of Utah).
36. Karamfilova V, Gateva A, Alexiev A, Zheleva N, Velikova T, Ivanova-Boyanova R, Ivanova R, Cherkezov N, Kamenov Z, Mateva L. The association between retinol-binding protein 4 and prediabetes in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2022 Jan 2;128(1):217-22. DOI: 10.1080/13813455.2019.1673429
37. Haider DG, Schindler K, Prager G, Bohdjalian A, Luger A, Wolzt M, Ludvik B. Serum retinol-binding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007 Mar 1;92(3):1168-71. DOI: 10.1210/jc.2006-1839
38. Fan J, Hu J. Retinol binding protein 4 and type 2 diabetes: from insulin resistance to pancreatic β -cell function. *Endocrine*. 2024 Mar 23:1-5. DOI: 10.1007/s12020-024-03777-5
39. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, Beguinot F. Chronic adipose tissue inflammation linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Frontiers in physiology*. 2020 Jan 29;10:1607. DOI: 10.3389/fphys.2019.01607
40. Sakurai Y, Kubota N, Yamauchi T, Kadowaki T. Role of insulin resistance in MAFLD. *International journal of molecular sciences*. 2021 Apr 16;22(8):4156. DOI: 10.3390/ijms22084156
41. Noushad S, Ahmed S, Ansari B, Mustafa UH, Saleem Y, Hazrat H. Physiological biomarkers of chronic stress: A systematic review. *International journal of health sciences*. 2021 Sep;15(5):46. PMID: 34548863