پژوهش‌نامهٔ فیزیولوژی ورزشی کاربردی **مقاله پژوهشی**
سال نوزدهم/ شماره سی و هشت/پاییز و زمستان ۱۴۰۲

دریافت: ۱۴۰۲/۷/۱۸ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۹ ص ص: ۲۷-۱۵

تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژنIL-10 و TNF-α در بافت کبد موش‌های صحرایی فاقد تخمدان و تغذیه شده با غذای پرچرب

فهیمه ناوی دوست[۱]، الهه طالبی گرکانی[۲]، خدیجه نصیری[۳]

چکیده

اهداف: هدف اصلی این مطالعه تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن اینترلوکین-۱۰ (IL-10) و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNFα) در بافت کبد موش‌های صحرایی فاقد تخمدان و تغذیه شده با غذای پرچرب بود.

روش مطالعه: سی و دو سر موش صحرایی ماده به طور تصادفی به چهار گروه ۱)کنترل نرمال، ۲) اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب، ۳) اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب+ تمرین با شدت متوسط، ۴) اوارکتومی+مصرف غذای پرچرب+ تمرین شدید، تقسیم شدند. موش‌های گروه تمرین به مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین هوازی شدید و یا با شدت متوسط را روی نوارگردان انجام دادند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بافت کبد به منظور ارزیابی بیان ژن IL-10 و TNFα به روش Real Time PCR برداشت شد. همچنین سطوح سرمی آنزیم‌های آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: افزایش معنادار بیان ژن TNFα (p =۰/۰۰۳) و کاهش بیان ژن IL-10 کبد در گروه اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال مشاهده گردید (p=۰/۰۱). در هر دو گروه تمرین با شدت متوسط و بالا بیان ژن TNFα نسبت به گروه اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب بطور معناداری پایین‌تر بود (p =۰/۰۰۱) اما مقادیر بیان ژن IL-10 در دو گروه تمرین با شدت متوسط و بالا نسبت به گروه اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب تفاوت معناداری نداشت. همچنین تفاوت معناداری در سطوح سرمی دو آنزیم AST و ALT بین گروه‌های پژوهش یافت نشد.

نتیجه گیری: یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد تخمدان برداری و مصرف غذای پرچرب موجب ایجاد وضعیت التهابی در کبد می‌شود. تمرینات هوازی با شدت متوسط و بالا در بهبود این وضعیت اثرگذار است..

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، اوارکتومی، یائسگی، کبدچرب، اینترلوکین-۱۰، فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
[۲] دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران. نویسنده مسئول: E.talebi@umz.ac.ir
[۳] استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی ، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

مقدمه

یائسگی حاکی از قطع دائمی چرخه‌ی قاعدگی است (Ghorbani et al., 2019) و اعتقاد برآن است که آثار و عوارض این فرآینـــد فیزیولوژیک می‌تواند در طول زندگی زنان اثرگذار بوده و بـرای آن‌ها زیان‌آور باشد (Golyan Tehrani et al., 2002). کاهش سطح استروژن پس از یائسگی موجب توزیع بیشتر چربی و افزایش چاقی شکمی می‌شود (Norouzpour et al., 2020). چاقی، به خصوص چاقی مرکزی، با افزایش خطر دیابت، بیماری عروق کرونر قلب و برخی از انواع سرطان همراه است (Frank et al., 2005) و علاوه بر توسعه بیماری‌های متابولیکی نقش مهمی در ابتلا به کبد چرب نیز دارد (Norouzpour et al., 2020). همچنین نشان داده شده است که کمبود استروژن اغلب با پرخوری و افزایش وزن بدن همراه است، بنابراین چاقی می‌تواند یک مشکل اضافی در زنان یائسه باشد و بر سطوح استرس اکسیداتیو در کبد تأثیر بگذارد (Vuković et al., 2014).

کبد چرب غیر الکلی[1] (NAFLD) یک بیماری جهانی است که عمدتاً با چاقی مفرط و هایپرلیپیدمی همراه است. NAFLD با تجمع تری‌گلیسیرید[2] (TG) در هپاتوسیت‌ها شناخته می‌شود. TG کبدی ناشی از استریفیکاسیون اسیدهای چرب آزاد[3] (FFA) و گلیسرول می‌باشد (Mohajeri et al., 2011). هر زمان که یکپارچگی سلول های کبدی تحت تأثیر بیماری قرار گیرند، فعالیت سرمی دو آنزیم ALT[4] و AST[5] بالا می‌رود، ولی ALT، آنزیم اختصاصی‌تری برای کبد بوده و افزایش فعالیت آن نسبت به AST برای مدت طولانی‌تری پایدار می‌ماند (Jourkesh et al., 2019). همچنین به نظر می‌رسد که نقص در ترشح استروژن باعث کاهش اکسیداسیون FFA کبدی شده و تجمع چربی احشایی و به دنبال آن وقوع چاقی و بروز NAFLD را در زنان یائسه سرعت می‌بخشد (Ohashi et al., 2018). از آنجا که استروژن یک آنتی اکسیدان درون‌زاد قدرتمندی است می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدی هپاتوسیت‌های کبدی و تولید گونه‌های فعال اکسیژنی[6] (ROS) را کاهش دهد (Ohashi et al., 2018) به طوری که کاهش عملکرد تخمدان با افزایش سطح سرمی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین -۱[7] (IL-1) و اینترلوکین -۶[8] (IL-6) و فاکتور نکروز دهنده‌ی توموری آلفا[9] (TNF-α) همراه است. غلظت‌های فیزیولوژیکی استروژن قادر به پیشگیری از ترشح این گونه سایتوکاین‌های التهابی می‌باشد (Kireev et al., 2010). TNF-α از بافت چربی و عضلانی ترشح می‌شود، باعث التهاب در رگ‌های خونی شده و همچنین مولکول‌های مربوط به ذخیره چربی را تولید و ترشح می‌کند. بنابراین، در زنان یائسه با کاهش سطح استروژن و افزایش ماست‌سل‌ها و عوامل پیش‌التهابی باعث ایجاد واکنش‌های التهابی در بدن می‌شود. به این ترتیب، زنان یائسه همیشه در معرض خطر واکنش‌های التهابی می‌باشند (Ku B-J et al., 2021). اینترلوکین-۱۰[10] (IL-10) نیز عاملی است که ماکروفاژها را غیر فعال کرده و تولید سایتوکاین‌ها را کاهش می‌دهد (Akbarpour et al., 2022). ترشح IL-10 به وسیله سلول‌های Th2[11] و ماکروفاژهای فعال رخ می‌دهد و از

[1] Non-Alcoholic Fatty Liver
[2] Triglyceride
[3] Free Fatty Acid
[4] Alanine Transaminase
[5] Aspartate Aminotransferase
[6] Reactive Oxygen Species
[7] Interlukin 1
[8] Interlukin 6
[9] Tumor Necrosis Factor α
[10] Interlukin 10
[11] T helper 2 cell

تولید اغلب یا همه سایتوکاین‌هایی که توسط سلول‌های Th1 ساخته می‌شود جلوگیری می‌کند. IL-10 یک عامل ضد التهابی نیز محسوب می‌شود که سلول‌های کشنده طبیعی و لنفوسیت B را تنظیم می‌کند (Akbarpour et al., 2022). همچنین نشان داده شده است که افزایش سن به طور قابل توجهی باعث افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و کاهش سطوح فاکتور ضدالتهابی IL-10 در کبد موش‌های ماده سالمند می‌گردد (Kireev et al., 2010).

اگرچه گزارش‌ها نشان می‌دهد که مصرف داروهای کاهنده‌ی مقاومت به انسولین، چربی خون و کاهش وزن می‌توانند عملکرد کبد را در هنگام ابتلا به بیماری‌های کبد چرب خفیف بهبود ببخشند اما به نظر می‌رسد در چنین وضعیتی اولین راه‌کار درمانی پیش‌رو اصلاح سبک زندگی باشد (Smart et al., 2018). در این راستا نشان داده شده است تغییر سبک زندگی و انجام فعالیت ورزشی می‌تواند در پیشگیری از سندروم یائسگی (Abbsidarehbidi et al., 2019) و بهبود کبد چرب غیر الکلی (Oliveira et al., 2016) موثر واقع شود. با این وجود در خصوص اثر تمرین هوازی بر دو سایتوکاین IL-10 و TNF-α نتایج متفاوتی گزارش شده است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد تمرین هوازی موجب افزایش سطوح IL-10 در زنان چاق (Eizadi et al., 2018) و زنان سالمند مبتلا به سندروم متابولیک (Osali et al., 2017) گردیده است در حالی که تغییر قابل توجهی در IL-10 و سایتوکاین‌های التهابی TNF-α و IL-6 در مردان چاق ایجاد نکرده بود (Leggate et al.,2012). همچنین در زنان یائسه نیز هیچ گونه بهبودی در وضعیت استرس اکسیداتیو پس از تمرینات هوازی طولانی مدت دیده نشد (Friedenreich et al., 2016). با وجود چنین نتایج متناقضی و نیز وجود مطالعات اندک در خصوص اثر بخشی تمرین بر وضعیت التهاب کبدی در شرایط یائسگی هدف اصلی از اجرای این پژوهش بررسی اثر تمرین هوازی با دو شدت مختلف بر بیان ژن IL-10 و TNF-α در بافت کبد موش‌های صحرایی فاقد تخمدان و تغذیه شده با غذای پرچرب بود.

روش‌شناسی تحقیق

این مطالعه تجربی بود در کمیته تخصصی اخلاق در پژوهش‌های زیستی دانشگاه مازندران تایید و با کد اخلاق (IR.UMZ.REC.1400026) به تصویب رسیده است.

در این مطالعه تعداد سی و دو سر موش صحرایی ماده (۸ هفته‌ای) با وزن تقریبی۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از انستیتو رازی کرج خریداری شدند. حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه، در شرایط استاندارد آزمایشگاهی در قفس‌های پلی کربنات شفاف (۴ سر در هر قفس) در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۰ تا ۶۵ درصد و با تهویه مناسب و نور کنترل شده (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند پس از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه به ۴ گروه ۸ تایی شامل ۱- کنترل نرمال، ۲- اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب، ۳- اوارکتومی + مصرف غذای پرچرب+ تمرین متوسط، ۴- اوارکتومی + مصرف غذای پرچرب+ تمرین شدید تقسیم شدند.

برای انجام اوارکتومی (پس از یک هفته سازگاری با محیط) موشها ابتدا با ترکیبی ازکتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس به حالت استراحت روی سطح کناری بدن قرار داده شدند به گونه‌ای که سطح شکمی در امتداد دم به سمت جراح قرار گیرد، آنگاه موهای محل جراحی تراشیده و استریل شد. ابتدا برشی یک سانتیمتری در انتهای قفسه سینه زده و بافت چربی و عضلات این ناحیه

کنار زده شد. سپس تخمدان و شاخ‌های رحمی از حفره شکمی خارج شده و شریان بند استریل (لیگاتور) در ابتدای لوله‌های فالوپ قرار داده شد. سپس با برشی کوچک در نزدیکی تخمدان، تخمدان و بخشی از لوله‌های فالوپ برداشته شد. پس از اطمینان از عدم خونریزی، لیگاتور برداشته شده و عضلات و پوست ناحیه برش، بخیه زده شد (Khakpay R, Ansari S, khakpay F., 2017).

غذای پرچرب (۴۰٪ کیلوکالری از چربی ۲۰٪ کیلو کالری از پروتئین و ۴۰٪ کیلوکالری از کربوهیدرات) بصورت آماده از انستیتو رازی تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. مصرف غذای پرچرب از شروع هفته دوم آغاز و تا پایان پژوهش ادامه یافت.

حیوانات گروه‌های تمرین پس از یک هفته آشنایی با نوارگردان (پنج جلسه در هفته، هر جلسه ۱۰ دقیقه) پروتکل های تمرین را شروع کردند. تمرین هوازی با شدت بالا شامل دویدن روی نوارگردان ویژه جوندگان با سرعت ۳۰ متر در دقیقه، معادل ۸۵ —۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تمرین با شدت متوسط با سرعت ۲۱ متر در دقیقه معادل۷۰—۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. هر جلسه شامل ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بدون شیب بود. تمرینات ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته انجام شد. تمرینات روی نوار گردان دارای شوک الکتریکی اجرا شده و تا حد امکان از دادن شوک الکتریکی خودداری گردید (Yazdandoost-Baygi., 2022).

چهل و هشت ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین هوازی و پس از ۸ تا ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه، نمونه گیری انجام شد. موش‌های صحرایی با تزریق درون صفاقی ترکیبی از زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، بی‌هوش شده و با برش در ناحیه شکم و قفسه سینه،۱۰ میلی‌لیتر خون از ورید اجوف با سرنگ کشیده و در لوله‌های آزمایش ریخته شد. نمونه خونی جمع‌آوری شده سریعاً به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سرم به دست آمده برای انجام مراحل بعدی تحقیق در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بافت کبد هر موش سریعاً جدا شده و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک فوراً در نیتروژن مایع منجمد گردید. پس از آن نمونه‌ها جهت آنالیزهای بعدی به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. اندازه‌گیری سطوح نسبی بیان ژن TNFα و IL10 توسط روش qRT-PCR انجام شد. به این منظور RNA کل از نمونه‌ها استخراج شد. برای استخراج RNA کل از ۵۰ میلی گرم بافت کبد و از کیت استخراج RNA (دنازیست آسیا، مشهد) استفاده شد. به منظور از بین بردن آلودگی‌های DNA، RNA های استخراجی با استفاده از آنزیم DNase- RNase-free تیمار شدند. RNA های تیمار شده با آنزیم DNase برای سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفتند. سنتز cDNA با استفاده از کیت یکتا تجهیزآزما (ایران) و با توجه به دستور عمل شرکت صورت گرفت. تعیین کمیت نسبی در Real time PCR بوسیله اندازه گیری افزایش تشعشع نور فلورسنس، در نتیجه اتصال رنگ سایبرگرین انجام گرفت. طی این مرحله، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای نمونه‌های cDNA برای ژن TNFα و IL-10 و ژن رفرنس β-Actin با استفاده از کیت سایبرگرین شرکت امپلیکون (دانمارک) در دستگاه Rotor gene Corbett 6000 انجام شد.

پس از بررسی مقادیر مربوط به سیکل آستانه (C_t) حاصل از تکرارهای بیولوژی و تکنیکی هر تیمار، میانگین C_T برای تکرارهای تکنیکی ژن TNFα و IL10 و ژن رفرنس β-Actin محاسبه شد و در ادامه بیان داده‌ها توسط

نسبت بیان هریک از ژن های اختصاصی فوق به ژن β-Actin (ژن رفرنس) محاسبه شد. میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش لیواک ($2^{-\Delta\Delta CT}$) محاسبه شد.

جدول۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

ژن	توالی پرایمر رفت (5'-…-3')	توالی پرایمر برگشت (5'-…-3')	شماره دسترسی	طول (جفت باز)
β-Actin	GTGTGACGTTGACATCCGTAAAGAC	TGCTAGGAGCCAGGGCAGTAAT	NM_031144.3	۱۱۹
IL10	CAGTGGAGCAGGTGAAGAATG	TTTCATTTTGAGTGTCACGTAGG	NM_012854.2	۱۱۹
TNFα	GGTCCCAACAAGGAGGAGAAGT	TCCGCTTGGTGGTTTGCTAC	NM_012675.3	۱۳۷

برای آنالیز داده ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. به منظور اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها و همگن بودن واریانس ها به ترتیب از آزمون کولموگروف–اسمیرنوف و آزمون لون استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یک سویه با آزمون تعقیبی LSD جهت مقایسه تفاوتهای بین گروهی استفاده و $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

نتایج

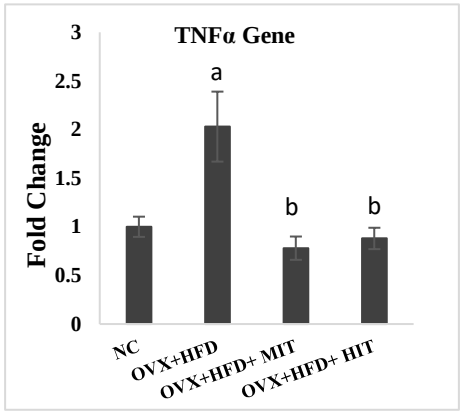
در جدول ۲ مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی گزارش شده است. همانطور که ملاحظه می گردد تفاوت معناداری در سطوح سرمی دو آنزیم AST و ALT بین گروه‌های پژوهش ملاحظه نگردید.

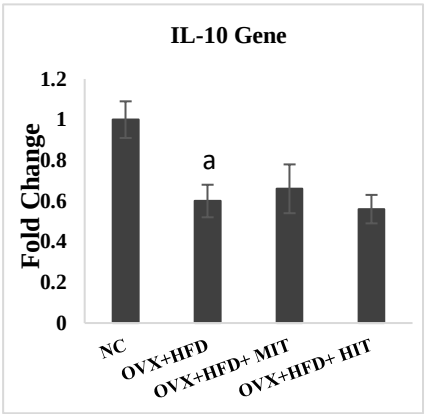
جدول ۲: مقادیر (میانگین± انحراف استاندارد) آنزیم‌های کبدی در گروه‌های پژوهش

متغیر / گروه	AST(IU/L)	ALT(IU/L)
کنترل نرمال	۸۴/۸±۱۵/۴۳	۶۰/۲±۹/۲۵
کنترل اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب	۹۰/۵±۸/۰۲	۶۲±۱۶/۴۶
اوارکتومی + مصرف غذای پرچرب+ تمرین متوسط	۸۴/۲±۷/۵۹	۶۹/۲۵±۵/۶۷
اوارکتومی + مصرف غذای پرچرب+ تمرین شدید	۹۲±۶/۷۸	۵۹/۶±۱۰/۵۹

نتایج نشان داد در موش‌های صحرایی اوارکتومی و تغذیه شده با غذای پرچرب بیان ژن TNFα در کبد نسبت به موش‌های نرمال بطور معناداری افزایش یافته است ($p=۰/۰۰۳$). در هر دو گروه تمرین با شدت متوسط و با شدت بالا بیان این ژن نسبت به گروه اوارکتومی+ مصرف غذای پرچرب بطور معناداری کاهش یافته بود ($p=۰/۰۰۱$). بین دو گروه تمرین تفاوت معناداری مشاهده نشد (شکل ۱). همچنین اوارکتومی و تغذیه با غذای پرچرب موجب کاهش معنادار بیان ژن IL-10 کبد نسبت به گروه کنترل نرمال گردید ($p=۰/۰۱$). مقادیر بیان این ژن در دو

گروه تمرین با شدت متوسط و بالا نسبت به گروه اوارکتومی+مصرف غذای پرچرب تفاوت معناداری نداشت (شکل ۱).





شکل ۱: بیان نسبی ژن‌های TNFα و IL-10 (میانگین± خطای استاندارد) در گروه‌های پژوهش: NC: کنترل نرمال، OVX+HFD: اوارکتومی و مصرف غذای پرچرب، MIT: تمرین با شدت متوسط، HIT: تمرین با شدت بالا. a: تفاوت معنادار با گروه NC، b: تفاوت معنادار با گروه OVX+HFD، (n=۵)، $p \leq ۰/۰۵$ بعنوان سطح معنادار در نظر گرفته شده است.

بحث و بررسی:

در مطالعه حاضر، تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن IL-10 و TNF-α در بافت کبد موش‌های صحرایی فاقد تخمدان و تغذیه شده با غذای پرچرب بررسی شد. این مطالعه نشان داد مصرف غذای پرچرب و تخمدان برداری، منجر به افزایش بیان ژن نشانگر التهابی TNF-α و همچنین کاهش بیان ژن عامل ضد التهابی IL-10 در کبد گردیده است. همچنین انجام تمرین هوازی با دو شدت بالا و متوسط موجب کاهش معنی دار بیان ژن TNF-α گردید و تأثیری بر بیان ژن IL-10 نداشت.

هم راستا با نتایج پژوهش حاضر نشان داده شد مصرف غذای پرچرب و تخمدان برداری در موش‌های صحرایی باعث تولید و افزایش سایتوکاین التهابی TNF-α شده است و بر خلاف نتایج پژوهش حاضر مبنی بر عدم تغییر سطوح پلاسمایی AST وALT، سطوح این آنزیم‌های کبدی نیز به میزان قابل توجهی افزایش یافته بود (Nagamma et al., 2022). اخیرا نیز افزایش IL-6 و کاهش IL-10 در موش‌های تخمدان برداری شده گزارش شده است (Sapatini et al., 2023). کاهش استروژن در اثر تخمدان برداری موجب بروز اختلالات اکسیداتیو می‌شود. زیرا استروژن با داشتن اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی مانع از به وجود آمدن اختلالات اکسایشی و افزایش سطح فاکتورهای پیش التهابی می‌شود (Chung et al., 2017). به علاوه نتایج به دست آمده در پژوهش‌ها حاکی از آن است که افزایش TNF-α تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) را به روش‌های مختلفی افزایش می‌دهد. روش اول: TNF- α بیوژنز ROS را از طریق رویدادهایی که در میتوکندری انجام می

شود، تحریک می‌کند. روش دوم: TNF-α رونویسی از ترکیبات مختلف NADPH[1] اکسیداز یا فعالیت آن را افزایش می‌دهد (Alyari et al., 2020). TNF-α به عنوان اولین سایتوکاین در مسیر التهاب مزمن شناخته شده است و منشاء عمده این فاکتور، بافت چرب است (Alyari et al., 2020). دریافت بیش از حد انرژی (مصرف غذای پرچرب) باعث افزایش استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد متابولیک و عوامل پاتولوژیک التهابی شده و افزایش ترشح فاکتورهای پیش التهابی نظیر TNF-α را به دنبال دارد. افزایش بافت چربی نقش مهمی در ایجاد التهاب با درجه پایین دارد که با تولید سایتوکاین و تحریک مسیرهای سیگنالینگ سایتوکاین‌های التهابی مشخص می‌شود (Seo et al., 2012). همانطور که قبلا ذکر شد در این پژوهش کاهش معنادار بیان ژن TNF-α به دنبال تمرینات هوازی با دو شدت متوسط و بالا ملاحظه گردید و بین دو نوع تمرین نیز تفاوتی وجود نداشت. گزارش شده است ۱۲ هفته تمرینات تکواندو در زنان یائسه موجب کاهش معنادار TNF-α شده است (Ku B-J et al., 2021). همچنین نشان داده شده است تمرین شنا موجب بهبود فاکتورهای پیش التهابی نظیر TNF-α و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بافت کلیه موش‌های تخمدان برداری شده و مبتلا به دیابت گردیده است (Alyari et al., 2020).

کاهش استروژن در دوران یائسگی بر بیان آپوپروتئین‌های کبد تأثیر گذاشته که موجب کاهش بیان آپولیپوپروتئین A و افزایش آپولیپوپروتئین B، افزایش لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) و خیلی پایین(VLDL)، کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و تغییر نابجا در سنتز و ترشح (MTP/ApoB100)[2] در کبد می‌شود و در نتیجه منجر به کاهش خروج VLDL از کبد به داخل خون و تجمع تری گلیسرید در سیتوزول سلول‌های کبد می‌گردد (Gharahcholoo et al., 2018). از سوی دیگر با افزایش سن توانایی کبد در اکسیداسیون اسیدهای چرب و افزایش لیپوژنز نیز کاهش می‌یابد که منجر به تجمع چربی‌ها در کبد می‌شود و به دلیل کاهش ایمنی به واسطه کاهش هورمون استروژن در زنان سالمند، سطح سایتوکاین‌های التهابی افزایش می‌یابد (Brady., 2015). تمرینات هوازی منظم از طریق ایجاد چندین مکانیسم می‌تواند منجر به کاهش تجمع چربی در کبد شده و در بهبود کبد چرب و کاهش التهاب نقش داشته باشد. انجام تمرینات منظم هوازی با تنظیم کاهشی SREBP-1c[3] و تنظیم افزایشی PPARγ[4]، موجب کاهش محتوای چربی داخل کبدی می‌گردد. همچنین فعالیت‌های ورزشی هوازی با افزایش میزان مصرف انرژی روزانه، بهبود و افزایش اکسیداسیون چربی‌ها در عضلات اسکتی و کاهش درصد چربی کل بدن مخصوصا ناحیه شکمی می‌تواند انتقال اسیدهای چرب آزاد به داخل کبد و در نتیجه افزایش تجمع چربی در کبد را کاهش دهد (Gharahcholoo et al., 2018). کاهش چربی درون کبدی کاهش استرس اکسیداتیو کبد و لذا بهبود التهاب در کبد را به دنبال دارد.

علاوه بر این، مشخص شده است سطوح بالای سایتوکاین‌های پیش التهابی نظیر TNF-α با کاهش توده عضلانی ارتباط دارد (Pedraza-Vázquez et al., 2023). از آنجایی که کاهش استروژن می‌تواند در کاهش توده عضلانی موثر باشد (Pellegrino et al., 2022). بنابراین حفظ توده عضلانی از طریق تمرینات ورزشی در کاهش التهاب موثر است. در این راستا نشان داده شده است که تمرینات ورزشی مقاومتی در کنترل اختلالات

[1] Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
[2] Microsomal Transfer Protein
[3] Sterol Regulatory Ehement -Binding Protein-1c
[4] Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ

متابولیک مرتبط با یائسگی، از جمله تغییرات نامطلوب گلوکز و HDL خون، و بهبود مورفولوژی بافت کبد موش‌های تخمدان برداری شده مؤثر بوده است (Vasques et al., 2012).

در مطالعه حاضر تمرین هوازی با شدت متوسط موجب افزایش غیر معنادار بیان ژن IL-10 گردید. سرحدی و همکاران نیز نشان داده‌اند که انجام فعالیت ورزشی منظم سبب افزایش غیر معنادار IL-10 در زنان یائسه فعال نسبت به غیر فعال شده است (Sarhadi et al., 2017). از آنجایی که انجام تمرینات ورزشی می‌تواند باعث کاهش ذخایر چربی شکمی و درون کبدی شود این احتمال وجود دارد که کاهش محتوای چربی درون کبدی ناشی از تمرین موجب تنظیم کاهشی گیرنده‌های بتا آدرنرژیک شده باشد. این در حالی است که این گیرنده‌ها در تولید سایتو کاین‌های پیش التهابی دخالت دارند (Barry et al., 2018).

آنزیم‌های کبدی مانند آسپارتات آمینوترانسفرازو آلانین ترانس آمیناز از جمله آنزیم‌های نشانگر برای عملکرد و یکپارچگی کبد هستند که برای تشخیص تظاهرات بالینی حاصل از سمیت حاد یا مزمن کبدی استفاده می‌شوند (Ahmed et al., 2008). این در حالی است که در مطالعه حاضر نشان داده شد که مصرف غذای پرچرب و تخمدان برداری بر سطوح آنزیم‌های کبدی اثر نداشته است. در خصوص عدم تغییر سطوح این آنزیم ها با مداخلات مذکور نیاز به بررسی‌های بیشتری می‌باشد. اما به این نکته نیز باید توجه داشت که سطح این دو آنزیم می‌تواند علیرغم وجود محتوای بالای چربی کبد در محدوده طبیعی و در غیاب چربی اضافی درون کبدی، بالا باشد (Fracanzani et al., 2008 & Mofrad et al., 2003) بنابراین بنظر می‌رسد سطوح پلاسمایی آمینوترانسفرازها شاخص ضعیفی برای نمایش چربی درون کبدی باشد. در این راستا نشان داده شده است که در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی، میزان چربی کبد پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی بطور معناداری کاهش یافته در حالی که آنزیم‌های کبدی تغییر نکرده بودند (Hallsworth et al., 2011).

نتیجه گیری:

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد تخمدان برداری و مصرف غذای پرچرب موجب ایجاد وضعیت التهابی در کبد می‌شود. تمرینات هوازی با شدت متوسط و بالا در بهبود این وضعیت اثرگذار است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از سرکار خانم ماریه میرابراهیمی کارشناس محترم آزمایشگاه بیوشیمی ورزشی دانشگاه مازندران قدردانی می‌گردد.

تضاد منافع

این پژوهش هیچ‌گونه تضاد و تعارض منافعی ندارد.

.منابع

Abbsidarehbidi, M., & Bambaeichi, E. (2019). Comparison of the Effects of Aerobic Training with Vitamin C and Estradiol on Markers of the Liver among Ovariectomized and Normal Rats. scientific journal of ilam university of medical sciences, 27(2), 198-209.

Akbarpour, M., Fathollahi, F., & Rlrrrg, D. (2022). The effect of eight weeks of resistance training with pomegranate juice supplementation on inflammatory/anti-inflammatory factors and some lipoproteins in

women with type 2 diabetes. Pars Journal of Medical Sciences, 18(2), 57-64.

Ahmed, M. B., Hasona, N. A. S., & Selemain, H. A. H. (2008). Protective effects of extract from dates (Phoenix dactylifera L.) and ascorbic acid on thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats.

Alyari, N., Vahdatpour, T., & Karami-bonari, A. (2020). Effects of Swim Training on Inflammatory Factors and Oxidative Stress of Kidneys in Diabetic and Ovariectomized Female Rats. Journal of Applied Exercise Physiology, 16(31), 89-103.

Brady, C. W. (2015). Liver disease in menopause. World Journal of Gastroenterology: WJG, 21(25), 7613.

Barry, J. C., Simtchouk, S., Durrer, C., Jung, M. E., Mui, A. L., & Little, J. P. (2018). Short-term exercise training reduces anti-inflammatory action of interleukin-10 in adults with obesity. Cytokine, 111, 460-469.

Chung, M. T., Lee, Y. M., Shen, H. H., Cheng, P. Y., Huang, Y. C., Lin, Y. J., ... & Lam, K. K. (2017). Activation of autophagy is involved in the protective effect of 17β-oestradiol on endotoxaemia-induced multiple organ dysfunction in ovariectomized rats. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 21(12), 3705-3717.

Eizadi, M., Laleh, B., & Khorshidi, D. (2018). The effect of aerobic training with difference durations on serum il-10 in middle-aged obese females. Acta Endocrinologica (Bucharest), 14(4), 563.

Fracanzani, A. L., Valenti, L., Bugianesi, E., Andreoletti, M., Colli, A., Vanni, E., ... & Fargion, S. (2008). Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. Hepatology, 48(3), 792-798.

Frank, L. L., Sorensen, B. E., Yasui, Y., Tworoger, S. S., Schwartz, R. S., Ulrich, C. M., Irwin, M. L., Rudolph, R. E., Rajan, K. B., & Stanczyk, F. (2005). Effects of exercise on metabolic risk variables in overweight postmenopausal women: a randomized clinical trial. Obesity research, 13(3), 615-625 .

Friedenreich, C. M., Pialoux, V., Wang, Q., Shaw, E., Brenner, D. R., Waltz, X., ... & Courneya, K. S. (2016). Effects of exercise on markers of oxidative stress: an Ancillary analysis of the Alberta Physical Activity and Breast Cancer Prevention Trial. BMJ Open Sport & Exercise Medicine, 2(1), e000171.

Gharahcholoo, L., Talebi-Garakani, E., Fathi, R., & Hamidian, G. (2018). Effect of a Ten-week Endurance Training Program on Tissue and Stereological Structure of Liver Parenchyma, and Serum Levels of

Cholestrole and Triglyceride in Ovariectomized Rats. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences, 10(1), 105-116.

Ghorbani, M., Tabatabaeichehr, M., Bagheri, M., Salari, E., & Nazari, S. (2019). Effect of saffron on happiness of postmenopausal women: a clinical randomized trial. The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility, 22(4), 11-17.

Golyan Tehrani, S., Mir Mohammad Ali, M., Mahmoudi, M., & Khaledian, Z. (2002). Study of quality of life and its patterns in different stages of menopause for women in Tehran [Research]. Hayat, 8(3), 33-41.

Hallsworth, K., Fattakhova, G., Hollingsworth, K. G., Thoma, C., Moore, S., Taylor, R., ... & Trenell, M. I. (2011). Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. Gut, 60(9), 1278-1283.

Jourkesh, M., Ebadi, H. (2019). Effect of Six Weeks Endurance, Resistance and Combined Training on Liver ALT and AST in The Liver of Ovariectomized Rat. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology, 6(1), 78-85. doi: 10.22049/jassp.2019.26649.1267

Khakpay R, Ansari S, Khakpay F. (2017). The Antinociceptive Effect of 17β-estradiol in the Paragigantocellularis Lateralis Nucleus of Ovariectomized Female Rats Mediated by Estrogen Receptors. J Arak Uni Med Sci. 2017; 20 (8) :29-38

Kireev, R., Tresguerres, A., Garcia, C., Borras, C., Ariznavarreta, C., Vara, E., Vina, J., & Tresguerres, J. (2010). Hormonal regulation of pro-inflammatory and lipid peroxidation processes in liver of old ovariectomized female rats. Biogerontology, 11(2), 229-243 .

Ku, B.-J.; Ko, K.; Shin, K.-O.; Bae, J.-Y. (2021). Effect of Regular Taekwondo Self-Defense Training on Oxidative Stress and Inflammation Markers in Postmenopausal Women. Healthcare 2021, 9, 985. https://doi.org/10.3390/ healthcare9080985

Leggate, M., Carter, W. G., Evans, M. J., Vennard, R. A., Sribala-Sundaram, S., & Nimmo, M. A. (2012). Determination of inflammatory and prominent proteomic changes in plasma and adipose tissue after high-intensity intermittent training in overweight and obese males. Journal of Applied Physiology, 112(8), 1353-1360.

Mofrad, P., Contos, M. J., Haque, M., Sargeant, C., Fisher, R. A., Luketic, V. A., ... & Sanyal, A. J. (2003). Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. Hepatology, 37(6), 1286-1292.

Mohajeri, D., Rezae, A., Mousavi, G., & Rahmani, J. (2011). Histopathological study on the effects of Crocin on prevention of fatty liver disease in the rats fed with high fat diet. Veterinary Clinical

Pathology The Quarterly Scientific Journal, 5(3 (19) Autumn), 1295-1304 .

Nagamma, T., Konuri, A., Bhat, K. M., Udupa, P., Rao, G., & Nayak, Y. (2022). Prophylactic effect of Trigonella foenum-graecum L. seed extract on inflammatory markers and histopathological changes in high-fat-fed ovariectomized rats. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 12(2), 131-140.

Norouzpour, M., Marandi, M., Ghanbarzadeh, M., & ZareMaivan, A. (2020). The effect of aerobic-resistance exercise on serum level of retinol-bonded protein 4, abdominal obesity, and metabolic markers in postmenopausal women with non-alcoholic fatty liver. Journal of Applied Exercise Physiology, 16(32), 171-186.

Ohashi, T., Kato, M., Yamasaki, A., Kuwano, A., Suzuki, H., Kohjima, M., & Ogawa, Y. (2018). Effects of high fructose intake on liver injury progression in high fat diet induced fatty liver disease in ovariectomized female mice. Food and Chemical Toxicology, 118, 190-197.

Oliveira, C. P., de Lima Sanches, P., de Abreu-Silva, E. O., & Marcadenti, A. (2016). Nutrition and physical activity in nonalcoholic fatty liver disease. Journal of diabetes research, 2016.

Osali, A., Choobineh, S., Soori, R., Ravasi, A. A., & Mostafavi, H. (2017). The effect of three months of aerobic exercise with moderate intensity on IL-6, IL-10, and cognitive performance in 50-65 year old women with metabolic syndrome. Journal of Advances in Medical and Biomedical Research, 25(110), 1-12.

Pedraza-Vázquez, G., Mena-Montes, B., Hernández-Álvarez, D., Gómez-Verjan, J. C., Toledo-Pérez, R., López-Teros, M. T., ... & Luna-López, A. (2023). A low-intensity lifelong exercise routine changes miRNA expression in aging and prevents osteosarcopenic obesity by modulating inflammation. Archives of Gerontology and Geriatrics, 105, 104856.

Pellegrino, A., Tiidus, P. M., & Vandenboom, R. (2022). Mechanisms of Estrogen Influence on Skeletal Muscle: Mass, Regeneration, and Mitochondrial Function. Sports Medicine, 52(12), 2853-2869.

Sapatini, L. R. L., Calsa, B., Marim, L. J., Helaehil, J. V., Chiarotto, G. B., & Corezola do Amaral, M. E. (2023). Caloric restriction prevents inflammation and insulin dysfunction in middle-aged ovariectomized mice. Molecular Biology Reports, 1-11.

Sarhadi, Mona, Nasiri Farsani, Mokhtar, & Shahriari, Ali Reza. (2017). Comparing Plasma levels of C-reactive Protein, Interleukin-10 and -

15 in Physically active and Sedentary postmenopausal women. Iranian Journal of ageing, 12(1), 104-106. SID.

Seo, D. Y., Lee, S., Figueroa, A., Kwak, Y. S., Kim, N., Rhee, B. D., ... & Han, J. (2012). Aged garlic extract enhances exercise-mediated improvement of metabolic parameters in high fat diet-induced obese rats. Nutrition Research and Practice, 6(6), 513-519.

Smart, N., King, N., McFarlane, J. R., Graham, P., & Dieberg, G. (2018). Effect of exercise training on liver function in adults who are overweight or exhibit fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. British journal of sports medicine, 52(13), 834-843 .

Vasques, M. O., Andreato, L. V., Almeida, F. N., Esteves, J. D. C., de Souza, R. F., & de Moraes, S. F. (2012). Strength training improves plasma parameters, body composition and liver morphology in ovariectomized rats. Science & sports, 27(2), 94-100.

Vuković, R., Blažetić, S., Oršolić, I., Heffer, M., G Vari, S., Gajdoš, M., ... & Has-Schön, E. (2014). Impact of ovariectomy, high fat diet, and lifestyle modifications on oxidative/antioxidative status in the rat liver. Croatian Medical Journal, 55(3), 218-227.

Yazdandoost- Baygi, H., Talebi-Garakani, E., Nasiri, K., & Safarzade, A. (2022). The Effect of Two Different Intensities of Aerobic Training and Crocin Consumption on Visceral Adipose Cell Size and Insulin Resistance in Ovariectomized Rats Fed with High-Fat Diet. Journal of Applied Exercise Physiology, 18(35), 15-30. doi: 10.22080/jaep.2022.23916.2112

Zahran, W. E., Salah El-Dien, K. A., Kamel, P. G., & El-Sawaby, A. S. (2013). Efficacy of tumor necrosis factor and interleukin-10 analysis in the follow-up of nonalcoholic fatty liver disease progression. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 28, 141-146.

The effect of aerobic training on the expression of IL-10 and TNF-α genes in the liver tissue of ovariectomized and high-fat diet-fed female rats

Fahime Navidoust, Elahe Talebi-Garakani*, Khadije Nasiri

Exercise Physiology Department, Faculty of Sport Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran.

*Corresponding author: E.talebi@umz.ac.ir

Abstract

Objectives: The main objective of this study was to investigate the effect of aerobic training on the expression of interlukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor-alpha (TNFα) genes in the liver tissue of ovariectomized and high-fat diet fed rats.

Methods: Thirty-two female rats were randomly divided into four groups: 1) Normal control, 2) Ovariectomy + high-fat diet, 3) Ovariectomy + high-fat diet + moderate-intensity training, 4) Ovariectomy + high-fat diet + high-intensity training. The training groups underwent aerobic training sessions for 8 weeks, five sessions per week, either at a moderate intensity or at a high intensity on a treadmill. Liver tissue samples were collected 48 hours after the last exercise session to evaluate the expression of IL-10 and TNFα genes using the Real-Time PCR method. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) enzymes were also measured.

Results: Significant increase in TNFα gene expression (p=0.003) and a decrease in IL-10 gene expression (p=0.01) in the liver were observed in the ovariectomy + high-fat diet group compared to the normal control group. In both moderate and high-intensity training groups, TNFα gene expression was significantly lower than in the ovariectomy + high-fat diet group (p=0.001), but there was no significant difference in IL-10 gene expression values in the moderate and high-intensity training groups compared to the ovariectomy + high-fat diet group. Also, no significant difference was found in the serum levels of the two enzymes AST and ALT between the study groups.

Conclusion: The findings of the present study indicate that ovariectomy and high-fat diet consumption cause an inflammatory state in the liver. Moderate and high intensity aerobic training is effective in improving this condition.

Key words: Aerobic Training, Ovariectomy, Menopause, Fatty Liver, Interleukin-10, Tumor Necrosis Factor- α