

# Effects of High Intensity Interval (HIT) versus Continuous Trainings on ABCG5 and ABCG8 Genes Expression in Male Wistar Rats after High Fat Diet

Sediqueh Jalali<sup>1\*</sup>, Mohsen Jafari<sup>2</sup>

1. Department of Biology, Payam Noor University, Po Box 4697-19395, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Sport Sciences, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran

(Received: 2018/11/19

Accept: 2019/02/25)

## Abstract

**Background:** ABCG5 and ABCG8 are two membrane cholesterol transporters involved in transportation of this substance across the membranes of hepatocytes and enterocytes. The aim of the present study was to investigate the effects of continuous and interval trainings on gene expression of these substances in hepatocytes of male wistar rats.

**Methods and Materials:** In the current experimental study, 15 rats were assigned into groups of control with high fat diet (group 1, N=5), interval training with high fat diet (group 2, N=5), and continuous training with high fat diet (group 3, N=5). Duration of trainings was 12 weeks (5 days/week). Mann-Whitney U test was used for statistical analysis of data.

**Results:** The results showed that ABCG5 and ABCG8 genes expression after trainings were higher in groups of 2, 3, and 1, respectively. As for ABCG5, differences between groups 1 vs 2, 1 vs 3, and 2 vs 3 and for ABCG8, differences between groups 1 vs 2 and 2 vs 3 were significant ( $P=0.008$ ) and only the difference between groups 1 vs 3 regarding ABCG8 was non-significant ( $P=0.841$ ).

**Conclusion:** It seems that exercise trainings are more effective on ABCG5, as compared with ABCG8 gene expression, and HIT is more effective compared with continuous trainings, on liver cholesterol excretion during reverse cholesterol transport.

**Keywords:** Cholesterol; High-Intensity Interval Training; Endurance Training; ABCG5; ABCG8

\* Corresponding author: Sediqueh Jalali  
E-mail: s\_jalali\_87@yahoo.com

## تأثیر تمرین‌های تناوبی شدید (HIT) و تداومی بر بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 در رت‌های نر ویستار پس از رژیم پرچرب

صدیقه جلالی\*<sup>۱</sup>، محسن جعفری<sup>۲</sup>

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران  
۲- استادیار، گروه علوم ورزشی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۸/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱۲/۰۶

### چکیده:

**سابقه و هدف:** دو مورد از ناقلان غشایی کلسترول ABCG5 و ABCG8 هستند که وظیفه انتقال این ماده را از غشاهای کبدی و روده‌ای بر عهده دارند. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر تمرین‌های تداومی و تناوبی شدید (HIT) بر بیان ژن‌های این دو ماده در هیپاتوسایت‌های موش‌های نر ویستار بود.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی تعداد ۱۵ موش پس از ۱۳ هفته رژیم غذایی پرچرب (۴۰ درصد چربی) در گروه‌های کنترل با غذای پرچرب (گروه ۱،  $N=5$ )، رژیم غذایی پرچرب با تمرین HIT (گروه ۲،  $N=5$ ) و رژیم غذایی پرچرب با تمرین تداومی (گروه ۳،  $N=5$ ) تقسیم‌بندی شدند. مدت مرحله تمرین ۱۲ هفته (هفته‌های ۵-۱۶ جلسه) بود. پس از تمرین‌ها و اعمال بیهوشی، بافت کبد برای سنجش بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 استخراج شد. برای آنالیز آماری داده‌ها از آزمون یونویتنی استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 پس از تمرین‌ها به ترتیب در گروه‌های ۲، ۳ و ۱ بیشترین میزان را داشته است. در مورد ABCG5، تفاوت گروه‌های ۱ با ۲، ۱ با ۳ و ۲ با ۳ در مورد ABCG8 تفاوت گروه‌های ۱ با ۲ و ۳ با ۳ معنادار بود ( $P=0.008$ )، تنها تفاوت غیرمعنادار مربوط به گروه‌های ۱ و ۳ در مورد ABCG8 بود ( $P=0.841$ ).

**نتیجه‌گیری:** شاید تمرین‌های ورزشی بر بیان ژن ABCG5 نسبت به ABCG8 اثرگذاری بیشتری دارند و نیز تمرین‌های HIT نسبت به تداومی، تأثیر بیشتری بر دفع کبدی کلسترول در مکانیزم انتقال معکوس کلسترول دارند.

**واژگان کلیدی:** کلسترول، تمرین تناوبی شدید، تمرین استقامتی، ABCG5، ABCG8.

### مقدمه:

۸ با فعال شدن گیرنده ایکس کبدی (LXR)<sup>۲</sup> بیان می‌شوند. این دو پروتئین به صورت همکار در سلول‌های روده‌ای و کبدی قرار دارند، به طوری که در سلول‌های روده‌ای جذب استرول‌های گیاهی را محدود می‌کنند و در سلول‌های کبدی دفع صفراوی استرول‌ها را افزایش می‌دهند که نتیجه هر دو مکانیزم کاهش کلسترول و خطر آتروسکلروز و سکت قلبی است (۴). موش‌های فاقد پروتئین‌های ABCG5 و ABCG8 با کاهش توانایی در دفع استرول‌های اضافی به درون صفرا مواجه هستند (۵) و بیش بیانی ژن‌های ABCG5 و ABCG8 در کبد ترشح کلسترول صفراوی را افزایش داده و جذب روده‌ای کلسترول از منابع غذایی مصرفی را کاهش می‌دهد (۶). جهش در ژن‌های ABCG5 و ABCG8 جذب روده‌ای کلسترول و استرول گیاهی را افزایش و دفع صفراوی آن‌ها را کاهش می‌دهد که باعث افزایش ۲۰۰ برابری غلظت استرول‌های گیاهی در پلاسما (سیتواسترومی) می‌شود (۷). پروتئین‌های ABCG5 و ABCG8 در غشای آپیکال انتروسایت‌ها و

بیماری سرخرگ کرونری (آتروسکلروز) از دلایل اصلی ناتوانی و مرگ در سراسر جهان است که روز به روز در حال گسترش است. در ایران نیز این بیماری نخستین عامل همه مرگ‌ومیرهاست که بیشتر ناشی از تغییر سبک زندگی و شیوع بی‌حرکی است (۱). یکی از علل وقوع آتروسکلروز عارضه‌ای به نام سیتواسترومی است که نتیجه افزایش بیش از حد فیتواسترول‌ها در پلاسماست (۲). مکانیزم مولکولی درگیر در بیماری سیتواسترومی جهش در ژن‌های ناقل‌های جعبه‌ای G5 و G8 متصل به آدنوزین تری‌فسفات (ABCG5<sup>۱</sup> و ABCG8<sup>۲</sup>) است. این ناقلان غشایی نقشی محوری در کنترل دفع استرول از کبد ایفا می‌کنند (۳). ABCG5 و ABCG8

1. Adenosine Tri-Phosphate Binding Cassette Sub-Family G Member 5
2. Adenosine Tri-Phosphate Binding Cassette Sub-Family G Member 8

نویسنده مسئول: صدیقه جلالی

پست الکترونیکی: s\_jalali\_87@yahoo.com

این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی با کد IR.SSRI.REC.۱۳۹۵.۱۱۵ است. با توجه به اینکه آزمودنی‌های گروه‌های این تحقیق را موش‌های صحرایی نر تشکیل می‌دادند که در یک محیط کنترل شده و در یک طرح پس آزمون تحت تاثیر متغیرهای مستقل (تمرین‌های تناوبی و تداومی) قرار گرفتند، بنابراین روش انجام کار از نوع تجربی و فقط در شرایط آزمایشگاهی محض است. موش‌های نر صحرایی نژاد ویستار از انستیتو پاستور آمل خریداری شدند. برای همه آن‌ها شرایط مناسب آزمایشگاهی فراهم شد. پژوهش حاضر در دو مرحله شامل مرحله جاق کردن و مرحله تمرین انجام شد که پس از گذشت یک هفته، جهت سازگاری با محیط جدید، تمامی رت‌ها تا رسیدن به میانگین سن ۶-۵ هفته و وزن اولیه ۱۲۸.۳۲ گرم از رژیم غذایی طبیعی استفاده می‌کردند که پس از ۱۳ هفته رژیم غذایی پرچرب (۴۰ درصد چربی) در سه گروه تقسیم شدند. گروه‌های این پژوهش در مرحله دوم (تمرین) شامل گروه کنترل با غذای پر چرب (N=5)، گروه رژیم غذایی پرچرب با تمرین تناوبی (HIT)<sup>۵</sup> (N=5) و گروه رژیم غذایی پر چرب با تمرین تداومی یا استقامتی (N=5) را شامل می‌شد (۱۶).

شاخص‌های تن سنجی ارزیابی شده در تمامی گروه‌ها عبارت بودند از وزن و قد که قبل از شروع پروژۀ تحقیقاتی، پایان مرحله جاق کردن و پایان هفته ۱۲ تمرین در یک زمان مشخص به صورت ماهانه برای همه رت‌ها اندازه‌گیری می‌شد. هر چهار سر موش در یک قفس و در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی (دمای محیطی با 22±2 درجه سانتیگراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوای 50±5 درصد با تهویه مناسب) نگهداری شدند. وزن موش‌ها به وسیله ترازوی دیجیتال با حساسیت ۰/۰۱ گرم (ساخت کمپانی Sartorius آلمان) اندازه‌گیری شد. موش‌ها هر هفته یک بار وزن شدند (۱۶، ۱۷).

جیره غذایی پر چرب با ترکیب‌های ۴۰ درصد چربی، ۱۳ درصد پروتئین و ۴۷ درصد کربوهیدرات تهیه شد و در ۱۳ هفته تمامی موش‌های صحرایی از این رژیم استفاده کردند و پس از رسیدن به معیارهای چاقی، مرحله تمرین با رعایت رژیم غذایی پر چرب شروع شد. حیوانات آزمایش شده در این پژوهش در قالب گروه‌های هشت سر موش در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به طول ۳۰ و عرض و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد نگهداری شدند. غذای آزمودنیها، از شرکت خوراک دام بهرپور کرج تهیه شد. آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنها قرار داده شد. ابزار گردآوری اطلاعات شامل مواد لازم برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های متغیرهای وابسته، ترمیم هشت لاینه، دستگاه سانتریفیوژ، دامسج جیوه‌های (ساخت ایران)، رطوبت سنج ساخت آلمان، ترازو با حساسیت بالا، لوله‌های فالكون و سایر دستگاهها و وسایل ویژه آنالیز نمونهها بودند (۱۶).

حداکثر سرعت و توان هوازی رت‌های گروه تمرینی قبل از شروع برنامه ورزشی اصلی و بعد از یک هفته تمرین به عنوان مرحله آشنایی با نوارگردان با هدف برنامه ریزی دقیق تر با توجه به پروتکل استاندارد به شرح زیر اندازه‌گیری شد؛ بعد از ۱۰ تا ۲۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ درصد تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO<sub>2</sub>max)؛ سرعت نوارگردان هر دو دقیقه یک بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۲ متر بر دقیقه) افزایش یافت تا حیوانات به واماندگی رسیدند. ملاک برای رسیدن به VO<sub>2</sub>max رسیدن به واماندگی (دستیابی به حداکثر سرعت) بود. پس از به دست آوردن میانگین حداکثر سرعت در تمامی رت‌های گروه‌های تمرین، ۶۵ درصد حداکثر سرعت ارزیابی شده به عنوان شدت مورد نظر در گروه تمرین تداومی (استقامتی) در هفته اول در نظر گرفته شد. مرحله گرم کردن شامل گرم به مدت سه دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه و به دنبال آن به مدت دو دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه در نظر گرفته شد و همچنین پس از اجرای تمرین اصلی در هر گروه، رت‌ها به مدت یک دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه و سپس مدت دو دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه، به عنوان پروتکل سرد کردن انجام شد. پروتکل تمرین تداومی (استقامتی) نیز با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و

غشای کانیکولار هیپاتوسایت‌ها یافت می‌شوند. آن‌ها از طریق ترشح استرول‌های گیاهی و کلسترول از درون انتروسایت‌ها به درون مجرای روده و دفع آن‌ها از هیپاتوسایت‌ها به درون صفرا جذب این مواد را کاهش می‌دهند و از این طریق در دفع کلسترول اضافی از دیواره‌های عروق کرونر و کاهش سطح کلسترول خون سهیم بوده و موجب کاهش خطر آتروسکلروز و سکته قلبی می‌شوند. در واقع استرول‌ها سوبستراهای اصلی ABCG5 و ABCG8 هستند (۸).

درباره تاثیر انواع تمرین‌های ورزشی بر بیان ژن‌های خانواده ناقلان ABC بخصوص ABCG5 و ABCG8 تاکنون تحقیق‌های زیادی انجام نشده است. در یک پژوهش تاثیر ۱۲ هفته تمرین دویدن بر برخی پارامترهای RCT در موش‌ها بررسی شده است. پس از تمرین‌های تری‌گلیسرید خون کاهش یافت، در حالی که دیگر چربی‌های خون تغییری نکردند، از طرفی خروج کلسترول از ماکروفاژ و دفع کلسترول از راه اسید صفراوی و مدفوع نیز افزایش یافت، ولی بیان ژن ناقل اسید صفراوی (ABCB11)، ناقل فسفولیپید (ABCB4) و ناقلان استرول (ABCG5 و ABCG8) تغییر معناداری پیدا نکرد (۹). در یک مطالعه ۲۰ موش ماده جوان شش تا هشت هفته‌ای با وزن ۱۲۵ تا ۱۳۵ گرم از نژاد ویستار تمرین‌های دویدن روی تردمیل را با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه روی شیب صفر درجه به مدت هشت هفته (پنج روز در هفته، ۶۰ دقیقه در روز) به انجام رسانیدند. نتایج افزایش بیان ژن ABCG8 را در سلول‌های روده‌ای موش‌ها نشان داد (۱۰). در یک تحقیق ۳۰ زن دارای اضافه وزن به دو گروه کنترل و تجربی اضافه شدند و گروه تجربی هشت هفته (سه جلسه در هفته) تمرین هوازی انجام دادند و پس از این تمرین‌ها بیان ژن ABCG8 به طور معناداری افزایش یافت (۱۱). در مطالعه دیگری آثار هفت هفته یک رژیم آتروژنیک (۴۰ درصد چربی و ۲۵ درصد کلسترول) به همراه تمرین استقامتی بر تجمع تری‌گلیسرید و کلسترول در کبد و بیان ژن‌های FXR و LXR و ژن‌های هدف آن‌ها در موش‌های اسپراگو داوولی بررسی شد. نتایج نشان داد که تمرین‌های استقامتی سبب افزایش بیان ژن‌های نیمن پیک C1 مشابه ABCG5 و ABCG8 و NPC1L1<sup>۴</sup> در موش‌های تحت رژیم استاندارد شد، ولی رژیم آتروژنیک افزایش بیان ژن‌های مذکور را سرکوب کرد (۱۲). تاثیر تمرین دویدن روی ترمیم بر بیان ژن‌های ABCG5، ABCG1، و ویسفاتین در چربی احشایی موش‌های ویستار در مطالعه دیگری بررسی شد. محققان در این تحقیق موش‌های شش تا هشت هفته‌ای را به مدت هشت هفته (پنج روز در هفته) روی تردمیل با شیب صفر درصد و سرعت ۲۵ متر بر دقیقه تمرین دادند. نتایج نشان داد که تمرین‌های ورزشی استقامتی سبب کاهش بیان ژن ویسفاتین و افزایش بیان ژن ABCG1 و ABCG5 در بافت چربی احشایی می‌شود (۱۳). محققان دیگری بیان ژن اعضای ابرخانواده گیرنده هسته‌ای مرتبط با متابولیسم لیپید را در پاسخ به تمرین بررسی کردند. در این تحقیق موش‌های ماده سالم به مدت هشت هفته (پنج روز در هفته) تمرین‌های تردمیل را انجام دادند. تمرین‌های ورزشی سبب کاهش بیان ژن LXR و ژن‌های هدف آن شامل ABCG5 و ABCG8 در مقایسه با موش‌های بی‌تحرك گروه کنترل شد. آن‌ها نتیجه گرفتند که تمرین‌های ورزشی منظم به حفظ روده‌ای کلسترول و هوموستاز اسید صفراوی می‌انجامد (۱۴). در مطالعه‌ای دیگر پاسخ ژن ABCG5 در سلول‌های کبد، کلیه و روده کوچک موش‌های ماده به هشت هفته (پنج روز در هفته، هر روز ۶۰ دقیقه) تمرین دویدن با شیب صفر درجه و سرعت ۲۵ متر بر دقیقه بررسی و افزایش بیان ژن این ماده در سلول‌های مذکور گزارش شد (۱۵). بررسی ادبیات پیشینه نشان می‌دهد که در مورد آثار تمرین‌های استقامتی (تداومی) بر بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 نتایج متناقضی وجود دارد و در مورد آثار تمرین‌های اینتروال (تناوبی) نیز بر بیان ژن این دو ماده هیچ تحقیقی انجام نشده است. این موضوع نیاز به تحقیق‌های بیشتر در این زمینه را نشان می‌دهد. با توجه به کمبود تحقیق‌ها در این زمینه، هدف از تحقیق حاضر مقایسه آثار دو نوع تمرین تداومی و تناوبی بر بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 در هیپاتوسایت‌های موش‌های نر ویستار بود.

**مواد و روش‌ها:**

- High Intensity Interval Training
- Maximum Oxygen Consumption

- Niemann-Pick C1-Like 1

مقایسه سه گروه و از آزمون یومنوتنی برای مقایسه جفتی گروه‌ها استفاده شد. همه تجزیه و تحلیل‌های آماری در نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 23 انجام شدند.

#### یافته‌ها:

با توجه به نتایج آزمون شاپیروویلیک، توزیع داده‌ها در مورد ABCG5 و ABCG8 طبیعی نبود (جدول ۱)

جدول ۱: نتایج آزمون شاپیروویلیک

متغیر وابسته	آماره	درجه‌های آزادی	سطح معناداری
--------------	-------	----------------	--------------

نتایج آزمون کروسکالوالیس (P-value)	گروه تمرین تداومی (M±SD)	گروه تمرین HIT (M±SD)	گروه کنترل (M±SD)	متغیر
002/0	(10 <sup>-4</sup> ×2) ± (10 <sup>-3</sup> ×2)	(10 <sup>-3</sup> ×2) ± (10 <sup>-3</sup> ×8)	(10 <sup>-4</sup> ×2) ± (10 <sup>-3</sup> ×1)	ABCG5 (normalized data)
009/0	(10 <sup>-9</sup> ×4) ± (10 <sup>-9</sup> ×5)	(10 <sup>-8</sup> ×7) ± (10 <sup>-7</sup> ×2)	(10 <sup>-9</sup> ×1) ± (10 <sup>-9</sup> ×4)	ABCG8 (normalized data)

۰,۰۰۳	۱۵	۰,۷۸۷	ABCG5
۰,۰۰۰	۱۵	۰,۶۹	ABCG8

و بنابراین از آزمون‌های ناپارامتریک کروسکالوالیس و یومنوتنی برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد (جدول ۲).

جدول ۲: مقادیر میانگین متغیرهای وابسته در گروه‌های تحقیق تجزیه و تحلیل یافته‌ها در مورد ABCG5 نشان داد که مقادیر میانگین این متغیر

مقایسه	مقایسه گروه‌های	مقایسه گروه‌های	برونداد آزمون یومنوتنی	متغیر
گروه‌های ۳ و ۲	۳ و ۱	۲ و ۱		
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	مقدار U	ABCG5 (normalized data)
-۲/۶۱۱	-۲/۶۱۱	-۲/۶۱۱	مقدار Z	
۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	P-value	
۰/۰۰۰	۱۱	۰/۰۰۰	مقدار U	ABCG8 (normalized data)
-۲/۶۱۱	-۰/۳۱۳	-۲/۶۱۱	مقدار Z	
۰/۰۰۸	۰/۸۴۱	۰/۰۰۸	P-value	

بین هر سه گروه تفاوت معناداری داشت ( $P \leq 0.05$ )، به طوری که بیان ژن این ماده در گروه تمرین HIT بیشترین مقدار و در گروه کنترل کمترین مقدار را داشته است (جدول ۳).

جدول ۳: تفاوت‌های بین گروهی بر اساس آزمون یومنوتنی گروه ۱: گروه کنترل با مصرف غذای پرچرب، گروه ۲: گروه تمرین HIT با مصرف غذای پرچرب، گروه ۳: گروه تمرین تداومی با مصرف غذای پرچرب در مورد ABCG8 نیز به غیر از تفاوت غیرمعنادار گروه‌های کنترل با تمرین تداومی (استقامتی) ( $P > 0.05$ )، تفاوت بقیه گروه‌ها معنادار بود ( $P \leq 0.05$ )، به طوری که بالاترین میزان بیان ژن این متغیر در گروه تمرین HIT و پایین‌ترین میزان آن در گروه کنترل بوده است (جدول ۳ و شکل ۲).

#### بحث و نتیجه‌گیری:

تجزیه و تحلیل یافته‌ها نشان داد که میزان بیان ژن ABCG5 و ABCG8 پس از تمرین‌های تناوبی به طور معناداری بیشتر از تمرین‌های تداومی بوده است. یافته‌های این تحقیق در مورد ABCG5 با یافته‌های Cote و همکاران (۲۰۱۳) و Ghanbari-Niaki و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۱۴) همسو و با یافته‌های Meissner

مدت ۱۵ دقیقه در هفته اول شروع شد و به تدریج به سرعت ۲۵ متر بر دقیقه و مدت ۳۱ دقیقه در هفته ۱۲ رسید. از هیچ‌گونه شوک الکتریکی یا تحریک دیگری به جز لمس کردن و مالیدن دم برای تحریک استفاده نشد (۱۶).

پروتکل تمرین تناوبی در هفته اول شامل هفت تلاش یک دقیقه‌ای با سرعت ۳۱ متر بر دقیقه و استراحت فعال (در بین هر تمرین شدید) انجام شد که به تدریج در هفته دوازدهم به ۱۰ تلاش یک دقیقه‌ای با سرعت ۵۵ متر بر دقیقه و استراحت فعال رسید. شدت به طور متوسط هفته‌ای دو متر بر دقیقه اضافه شد. پس از ۱۳ هفته استفاده از جیره غذایی پرچرب (۴۰ درصد)، پروتکل تمرینی شروع شد. تمرین پنج روز در هفته و دو روز استراحت در بین این پنج جلسه و برای ۱۲ هفته انجام شد (۱۶).

پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی نمونه‌گیری خون از موش‌ها در حالت ناشتایی و از ورید اجوف گرفته شد. موش‌ها با تزریق درونصفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلوزین (۳ mg/kg) بیهوش شدند. نمونه‌های خون در لوله‌های فالتون جمع‌آوری و داخل یخچال نگهداری شد. نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم یا پلاسما آن جداسازی و برای مراحل بعدی تحقیق (اندازه‌گیری متغیرهای مورد نظر) به فریزر با دمای منفی ۷۰ درجه سانتیگراد انتقال یافت. برای هموزن کردن بافت مراحل زیر انجام شد:

بافت مورد نظر از فریزر خارج و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزنکنشی شد. بافت داخل لوله آزمایش فالتون ۱۵ قرار داده شد و به نسبت هر ۰/۵ گرم بافت مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول لیزکننده تک فازی روی آن ریخته شد. برای حفظ پروتئین‌های بافت، آپروتینین به آن اضافه شد. با استفاده از هموزنایزر به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه بافت هموزن شد. محلول به‌دست‌آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی توسط سمبلر به داخل میکروتیوب منتقل و رسوب باقی‌مانده دور ریخته شد.

برای بررسی بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 از تکنیک واکنش زنجیره پلیمرز (rtPCR) استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام و سپس اسیدریبونوکلیک RNA<sup>۱</sup> کل از بافت‌ها استخراج و به اسیددزوکسی ریبونوکلیک مکمل (cDNA) تبدیل شد. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده بررسی شد (۱۶).

در تحقیق حاضر از آمار توصیفی برای طبقه‌بندی و تنظیم داده‌ها و تعیین شاخص مرکزی (میانگین) و شاخص پراکندگی (انحراف معیار) استفاده شد. بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها که در نهایت تعیین‌کننده انتخاب آزمون‌های پارامتریک و غیرپارامتریک است، از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. پس از اینکه مشخص شد توزیع داده‌ها طبیعی نیست ( $P \leq 0.05$ )، از آزمون کروسکالوالیس برای

- Real-Time Polymerase Chain Reaction
- Ribonucleic Acid
- Complementary Deoxyribonucleic Acid

در این پژوهش تمرین‌های ورزشی سبب تحریک HNF4 $\alpha$ ، GATA4 و LRH1 شده و از این طریق بیان ژن ABCG5 و ABCG8 در سلول‌های کبدی افزایش یافته است.

یکی دیگر از سازوکارهای مربوط به افزایش بیان ژن ABCG5 و ABCG8 در آزمودنی‌های این پژوهش می‌تواند کاهش التهاب ناشی از تمرین‌های ورزشی باشد، چرا که التهاب می‌تواند یک منبع بالقوه برای سرکوب عملکرد HDL و RCT باشد. هنگام التهاب HDL تحت چندین تغییر ساختاری قرار می‌گیرد که آن را تبدیل به HDL فاز حاد می‌کند که به نسبت غنی از اسیدهای چرب، تری‌گلیسرید، امیلوئید A سرم و آپولیپوپروتئین AIV است، در حالی که استرهای کلاسترول و آنزیم‌های ضدالتهابی مانند پاراکساناز ۱۱۹ کاهش می‌یابند. علاوه بر این التهاب سبب القای ترشح میلوپراکسیداز می‌شود که سبب تغییر آپو A1 و اختلال در توانایی آن در پذیرش کلاسترول می‌شود. سرانجام التهاب در بیان ژن عوامل مربوط به مصرف و ترشح و دفع کلاسترول در کبد (مانند ABCG5 و ABCG8) تأثیر منفی می‌گذارد (۹). از طرفی بهبود نیمرخ چربی بخصوص افزایش HDL خود سرکوب‌کننده التهاب است که در نهایت سبب افزایش بیان ژن ABCG5 و ABCG8 خواهد شد. مکانیزم دقیق آن به این صورت است که افزایش HDL و نیز افزایش خروج کلاسترول از سلول روی عمل گیرنده‌های شبه گذرگاهی و CD14 و نیز آبشارهای سیگنالی که به تحریک NF $\kappa$ B و MAPK برای تولید سایتوکاین‌های التهابی منجر می‌شوند تأثیر منفی می‌گذارد و به این ترتیب میزان التهاب کاهش می‌یابد که می‌تواند در نهایت تأثیر مثبتی بر افزایش بیان ژن ABCG5 و ABCG8 داشته باشد (۲۳). همچنین اینترفرون گاما که یک ماده التهابی پیش‌آرتروزیک است می‌تواند بیان ژن ABCG5 و ABCG8 را سرکوب کند که شاید کاهش این ماده که ناشی از کاهش التهاب متعاقب تمرین‌های ورزشی در این پژوهش است، در افزایش بیان ژن ABCG5 و ABCG8 درگیر بوده است (۲۴).

در مجموع، یافته‌های این پژوهش نشان داد که ۱۲ هفته تمرین تناوبی سبب افزایش بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 در موش‌های نر و بیستار شد، در حالی که تمرین‌های تداومی فقط افزایش بیان ژن ABCG5 را به دنبال داشت، این موضوع نشان می‌دهد که شاید تمرین‌های ورزشی بر بیان ژن ABCG5 نسبت به ABCG8 اثرگذاری بیشتری دارند و نیز تمرین‌های HIT نسبت به تداومی، تأثیر بیشتری بر دفع کبدی کلاسترول در مکانیزم انتقال معکوس کلاسترول دارند. پیشنهاد می‌شود برای نتایج دقیق‌تر، مطالعه‌های بیشتری در این باره انجام پذیرد.

#### تشکر و قدردانی:

به این وسیله از مرکز تحقیقات بنیادی علوم ورزشی و پزشکی مولکولی شهید میرغنی، بخصوص جناب آقای دکتر سیدجواد میرغنی به دلیل همکاری در عملیات آزمایشگاهی مربوط به این طرح پژوهشی تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

19. Paraoxanase-1

#### منابع:

- Jafari M, Pouryamehr E, Fathi M. The Effect of Eight Weeks High Intensity Interval Training (HIIT) on E-Selection and P-Selection in Young Obese Females. *Int J Sport Stud Hlth*. 2018; 1(1):e64336.
- Yu XH, Qian K, Jiang N, Zheng XL, Cayabyab FS, Tang CK. ABCG5/ABCG8 in cholesterol excretion and atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 2014; 428:82–88.
- Li G, Gu HM, Zhang DW. ATP-binding cassette transporters and cholesterol translocation. *IUBMB Life*. 2013; 65:505–512.
- Baldan A, Bojanic DD, Edwards PA. The ABCs of sterol transport. *J*

و همکاران (۲۰۱۰) و Ngo Sock و همکاران (۲۰۱۴) ناهمسو بود؛ همچنین در مورد ABCG8 نتایج این تحقیق متفاوت با نتایج Ghanbari-Niaki و همکاران (۲۰۱۲) و مطابق با نتایج Meissner و همکاران (۲۰۱۰)، Ngo Sock و همکاران (۲۰۱۴) و Cote و همکاران (۲۰۱۳) بود (۹، ۱۲–۱۵، ۱۸). نوع مداخله، نوع آزمودنی و شدت و مدت تمرین از دلایل احتمالی همسویی و ناهمسویی نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق‌های ذکر شده است. به عنوان مثال در تحقیق‌های Meissner و همکاران (۲۰۱۰) و Ngo Sock و همکاران (۲۰۱۴) که نتایج آن‌ها متفاوت با نتایج این تحقیق است، برخلاف تحقیق حاضر، رژیم پرچرب به آزمودنی‌ها داده نشده است (۹، ۱۴)؛ همچنین از آنجا که در تحقیق Cote و همکاران (۲۰۱۳) مانند این تحقیق آزمودنی‌ها رژیم پرچرب مصرف کرده بودند، نتایج آن‌ها با نتایج این تحقیق همخوانی داشت (۱۲). این موضوع نشان‌دهنده اهمیت رژیم غذایی بخصوص مصرف رژیم پرچرب در متابولیسم کلاسترول و فرآیند RCT است.

مکانیزم اصلی درگیر در بیان ژن‌های ABCG5 و ABCG8 فعالیت LXR است. گیرنده‌های LXR تعدادی پروتئین از خانواده عوامل رونویسی هستند که متابولیسم کلاسترول، تری‌گلیسرید و گلوکز را تنظیم می‌کنند (۱۹). تنظیم بیان ژن ABCG5 و ABCG8 فقط بر عهده LXR نیست، بلکه عامل چهار آلفای هسته‌ای هپاتوسایت 10 (HNF4 $\alpha$ )، پروتئین متصل به توالی 11 (GATA4) و هومولوگ 1 گیرنده کبدی 12 (LRH1) نیز در همکاری با یکدیگر بیان ژن ABCG5 و ABCG8 را افزایش می‌دهند (۲۰). همچنین بهبود نیمرخ چربی و افزایش بیان ژن ABCG5 و ABCG8 در این پژوهش می‌تواند ناشی از کاهش فرآیندها و عوامل التهابی مانند پروتئین واکنشی (CRP) 13، اینترلوکین 6 (IL6) 6 و عامل آلفای کشنده تومور 15 (TNF $\alpha$ ) باشد (۲۱). گیرنده هسته‌ای ارفان (LRH1) 16 که به نام‌های عامل پیش‌بر 17 (CYP7A1) و عامل رونویسی آلفافتوپروتئین 18 (FTF) نیز شهرت دارد، یک عامل رونویسی است که به طور مستقیم هردو ژن ABCG5 و ABCG8 را فعال می‌کند. این ماده به موقعیت 13۴–۱۴۲ در ناحیه اینترژنیک ABCG5/ABCG8 متصل می‌شود و جهش در این مکان فعالیت پیش‌برهای ABCG5 و ABCG8 را به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهد. همچنین LRH1 به طور مستقیم فعالیت LXR را تحریک می‌کند (۲۲). شاید

- Hepatocyte Nuclear Factor 4 Alpha
- GATA Binding Protein 4
- Liver Receptor Homolog-1
- C-Reactive Protein
- Interleukin-6
- Tumor Necrosis Factor-Alpha
- Orphan Nuclear Receptor Liver Receptor Homolog-1
- Cyp7a1 Promoter Factor
- A-Fetoprotein Transcription Factor

Lipid Res. 2009; 50:S80-S85.

- Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, Von Bergmann K, Lutjohann D, Cohen JC et al. Disruption of Abcg5 and Abcg8 in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99:16237–16242.
- Yu L, Li-Hawkins J, Hammer RE, Berge KE, Horton JD, Cohen JC et al. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. *J Clin Invest*. 2002; 110:671–680.
- Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of Bile Acids and Bile Acid Receptors in Metabolic Regulation. *Physiol Rev*. 2009;

- 89:147-191.
8. Woodward OM, Kottgen A, Kottgen M. ABCG transporters and disease. *FEBS J*. 2011; 278:3215-3225.
  9. Meissner M, Nijstad N, Kuipers F, Tietge UJF. Voluntary exercise increases cholesterol efflux but not macrophage reverse cholesterol transport in vivo in mice. *Nutr Metabol*. 2010; 7:54-59.
  10. Ghanbari-Niaki A, Rahmati Ahmadabad S, Zare-Kookandeh N. ABCG8 Gene Responses to 8 Weeks Treadmill running with or Without Pistachia atlantica (Baneh) Extraction in Female Rats. *Int J Endocrinol Metab*. 2012;10(4):604-610.
  11. Ramezani Z, Hejazi S M, Rashidlamir A. The Effect of Eight Weeks Aerobic Exercise on the Atherogenic Ratio and ABCG8 Gene Expression in PBMC Globules of Overweight Women. *Ir J Diabetes Obes*. 2017;9(3):95-100.
  12. Cote I, Sock ET, Levy E, Lavoie JM. An atherogenic diet decreases liver FXR gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: effect of endurance training. *Eur J Nutr*. 2013;52(5):1523-32.
  13. Ghanbari-Niaki A, Zare-Kookandeh N, Deldar H, Zare-Kookandeh A, Baghaei-Tehrani R. Visceral fat ABCG1, ABCG5 and visfatin gene expression in response to a treadmill running program with or without a liquid Pistachio-atlantica (Bene) extraction in female rats. *Iran J Card Surg*. 2013; 5(2&3):10-16.
  14. Ngo Sock ET, Farahnak Z, Lavoie JM. Exercise training decreases gene expression of endo-and xeno-sensors in rat small intestine. *Appl Physiol Nutr Me*. 2014; 39(10):1098-103.
  15. Ghanbari-Niaki A, Zare-Kookandeh N, Zare-Kookandeh A. ABCG5 gene responses to treadmill running with or without administration of Pistachio atlantica in female rats. *Iran J Basic Med Sci*; 2014; 17:162-171.
  16. Mirghani SJ, Peeri M, Yaghoobpour Yekani O, Zamani M, Feizolahi F, Nikbin S, et al. Role or Synergistic Interaction of Adenosine and Vitamin D3 Alongside High-Intensity Interval Training and Isocaloric Moderate Intensity Training on Metabolic Parameters: Protocol for an Experimental Study. *JMIR Res Protoc* 2019;8(1):e10753.
  17. Yaghoobpour Yekani O, Azarbayjani M A, Peeri M, Farzanegi P. Effect of type of training on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet. *Yafte*. 2018;19(5):106-116.
  18. Ghanbari-Niaki A, Rahmati Ahmadabad S, Zare-Kookandeh N. ABCG8 Gene Responses to 8 Weeks Treadmill running with or Without Pistachia atlantica (Baneh) Extraction in Female Rats. *Int J Endocrinol Metab*. 2012;10(4):604-610.
  19. Mohammadi A, Mirzaei F, Moradi MN, Jamshidi M, Ghiasvand T, Yari R, et al. Effect of flaxseed on Serum Lipid Profile and expression of NPC1L1, ABCG5 and ABCG8 genes in the intestine of diabetic rat. *Avi J Med Biochem*. 2013;1(1):1-6.
  20. Back SS, Kim J, Choi D, Lee ES, Choi SY, Han K. Cooperative transcriptional activation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 genes by nuclear receptors including Liver-X-Receptor. *BMB Rep*. 2013;46(6):322-327.
  21. Malik P, Berisha SZ, Santore J, Agatista-Boyle C, Brubaker G, Smith JD. Zymosan mediated inflammation impairs in vivo reverse cholesterol transport. *J Lipid Res*. 2011;52:951-957.
  22. Freeman LA, Kennedy A, Wu J, Bark S, Remaley AT, Santamarina-Fojo S, et al. The orphan nuclear receptor LRH-1 activates the ABCG5/ABCG8 intergenic promoter. *J Lipid Res*. 2004;45:1197-1206.
  23. Fitzgerald ML, Mujawar Z, Tamehiro N. ABC Transporters, Atherosclerosis and Inflammation. *Atherosclerosis*. 2010;211(2):361-370.
  24. Panousis CG, Zuckerman SH. Interferon-gamma induces downregulation of Tangier disease gene (ATP-binding-cassette transporter 1) in macrophage-derived foam cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1565-1571.