

Original Article

Increased Hepatic UNC-51 Like Autophagy Activating Kinase 1 Gene Expression in Male Wistar Rats in Adaptation to Exercise Training in Fasting State

Motaherah Shabihi¹, PhD Candidate; Habib Asgharpour^{2*}, PhD; Asra Askari³, PhD

¹PhD Candidate, Department of Physical Education and Sports Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

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

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

Article Information

Article History:

Received: Aug. 08, 2023

Accepted: Oct. 28, 2023

***Corresponding Author:**

Habib Asgharpour, PhD;

Department of Physical Education and Sports Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

Email: Habibasgharpour@gmail.com

Abstract

Introduction: Defective lipophagy is associated with metabolic disorders. This study investigated the effect of four weeks of aerobic exercise in a fasted state on hepatic unc-51 like autophagy activating kinase 1 (ULK1) in male rats with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

Methods: In this experimental research, 30 male Wistar rats with an NAFLD model were randomly divided into control groups: fasting, 3-day training, 5-day training, fasting + 3-day training, and fasting + 5-day training. Unlike other rats that had 24-hour access to food, the fasting groups received the same amount of nutrition during 10 hours. Continuous running was done for four weeks with 3 and 5 sessions per week and in two conditions of feeding and fasting. Statistical analysis was done with SPSS software Version 26 using one-way variance analysis and Bonferroni test with a significance level of ($P \leq 0.05$).

Results: A significant increase in the expression of the ULK1 gene was observed in the fasting, fasting + 3-day training, and fasting + 5-day training groups compared to the control and 3-day training groups ($P < 0.05$). The increase of ULK1 in the fasting group was higher than in the 3-day- and 5-day training groups ($P < 0.05$). Also, the increase of ULK1 in the fasting + 3-day training and fasting + 5-day training groups was significantly higher than the 5-day training group ($P < 0.05$).

Conclusion: Fasting and exercise in the fasting state increase lipophagy and might improve NAFLD.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver disease, Autophagy-related Protein-1 Homolog, Exercise, Fasting, Autophagy

Please cite this article as:

Shabihi M, Asgharpour H, Askari A. Increased Hepatic UNC-51 Like Autophagy Activating Kinase 1 Gene Expression in Male Wistar Rats in Adaptation to Exercise Training in Fasting State. *Sadra Med. Sci. J.* 2024; 12(3): 308-320.



مقاله پژوهشی

افزایش بیان ژن UNC-51 شبه کیناز ۱- فعال کننده اتوفاژی کبدی در رت‌های نر ویستار در سازگاری به تمرینات ورزشی در حالت ناشتایی

مطهره شبیهی^۱، حبیب اصغریپور^{۲*}، اسرا عسکری^۳

دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران
استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران
استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۶

*نویسنده مسئول:

حبیب اصغریپور

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران.

پست الکترونیکی: Habibasgharpour@gmail.com

مقدمه: لیپوفاژی معیوب با اختلالات متابولیک مرتبط است. هدف این تحقیق بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی در حالت ناشتایی بر UNC-51-51 شبه کیناز ۱- فعال کننده اتوفاژی (ULK1) کبدی در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) بود.

مواد و روش‌ها: در تحقیق تجربی حاضر تعداد ۳۰ سر رت ویستار نر مدل NAFLD به صورت تصادفی به گروه‌های کنترل، ناشتا، ۳ روز تمرین، ۵ روز تمرین، ناشتایی+۳ روز تمرین و ناشتایی+۵ روز تمرین تقسیم شدند. برخلاف سایر رت‌ها که دسترسی ۲۴ ساعته به غذا داشتند، گروه‌های ناشتا، همان مقدار تغذیه را در طی ۱۰ ساعت دریافت کردند. دوییدن تداومی به مدت ۴ هفته با تواتر ۳ و ۵ جلسه در هفته و در دو شرایط تغذیه و ناشتایی انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و بونفرونی و سطح معنی‌داری ($P \leq 0.05$) انجام شد.

یافته‌ها: افزایش معناداری در بیان ژن ULK1 در گروه‌های ناشتا، ناشتا+۳ روز تمرین و ناشتا+۵ روز تمرین نسبت به گروه کنترل و گروه ۳ روز تمرین مشاهده شد ($P < 0.05$). افزایش ULK1 در گروه ناشتا نسبت به گروه‌های ۳ روز تمرین و ۵ روز تمرین بیشتر بود ($P < 0.05$). همچنین افزایش ULK1 در گروه‌های ناشتا+۳ روز تمرین و ناشتا+۵ روز تمرین به صورت معناداری نسبت به گروه ۵ روز تمرین بیشتر بود ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت که ناشتایی و همچنین تمرین در حالت ناشتایی موجب افزایش لیپوفاژی و بهبود NAFLD می‌شود.

کلمات کلیدی: بیماری کبد چرب غیرالکلی، همولوگ پروتئین ۱ مربوط به اتوفاژی، ورزش، ناشتایی، اتوفاژی

1. Unc-51 like autophagy activating kinase 1
2. Non-alcoholic fatty liver disease

لطفاً این مقاله را به این صورت استناد کنید:

شبیهی م، اصغریپور ح، عسکری ا. افزایش بیان ژن UNC-51 شبه کیناز ۱- فعال کننده اتوفاژی کبدی در رت‌های نر ویستار در سازگاری به تمرینات ورزشی در حالت ناشتایی. مجله علوم پزشکی صدرا. دوره ۱۲، شماره ۳، تابستان ۱۴۰۳، صفحات ۳۰۸-۳۲۰.

شامل تخریب انتخابی قطرات چربی درون سلولی توسط لیوزوم است و شواهد فزاینده نشان می‌دهد که لیپوفازای در NAFLD تنظیم نمی‌شود. در NAFLD لیپولیز بافت چربی محیطی افزایش می‌یابد و منجر به افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده است که قطرات لیپید در سلول‌های کبدی با یک نوع انتخابی از اتوفازای موسوم به لیپوفازای تجزیه می‌شوند و در نتیجه تجزیه غیرانتخابی لیپیدها ایجاد می‌گردد و در پاتوژنز^۷ بیماری‌های متابولیک نقش دارند. اتوفازای معمولاً توسط یک محرک داخلی یا خارجی به سلول ایجاد می‌شود که باعث فعال شدن یک سری پروتئین‌های مرتبط با اتوفازای و تشکیل وزیکول‌های اتوفازیک^۸ و ساختارهای دو غشایی حامل پروتئین‌های مرتبط با اتوفازای می‌شود که محموله را می‌پیچد و سپس به لیوزوم‌ها برای تکمیل فرآیند اتوفازیک متصل می‌شود.

لیپوفازای، به عنوان شکلی از اتوفازای انتخابی و نوع جدیدی از متابولیسم لیپیدها، اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. لیپوفازای به عنوان تخریب اتوفازیک قطرات چربی^۹ (LDs) داخل سلولی تعریف می‌شود. اگرچه بسیاری از موارد ناشناخته باقی مانده است، لیپوفازای نقش مهمی در بسیاری از ارگانوسم‌ها، انواع سلول‌ها، حالات متابولیک و بیماری‌ها دارد. این فرآیند پویا شامل مجموعه‌ای از مراحل شامل تشخیص LDs داخل سلولی، شروع اتوفازای و تشکیل اتولیزوزوم^{۱۰} است که مستلزم دخالت ژن‌های مرتبط با اتوفازای از جمله UNC-51 شبه کیناز^{۱۱} -۱ فعال‌کننده اتوفازای^{۱۲} (ULK) است. پروتئین ULK نقش کلیدی در القای اتوفازای در پاسخ به گرسنگی دارد و نشان داده شده است که محل فسفوریلاسیون توسط مسیر کمپلکس یک هدف راپامایسین در پستانداران^{۱۳} (mTORC1) و پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات^{۱۴} (AMPK) است که به ترتیب تنظیم‌کننده منفی و مثبت فعالیت ULK هستند. همچنین برخی مطالعات نشان می‌دهد که AMPK/SIRT1 به عنوان یک مرکز انرژی در پاسخ به محرومیت از مواد مغذی در نظر گرفته می‌شود و با تأمین بیش از حد انرژی NAFLD مهار می‌شود؛ بنابراین نقش لیپوفازای به عنوان یک پاسخ انطباقی

بیماری کبد چرب غیرالکلی^۱ (NAFLD) شایع‌ترین علت بیماری مزمن کبد در کشورهای صنعتی و در حال رشد است و با افزایش سن و ویژگی‌های سندرم متابولیک مرتبط است. تخمین زده می‌شود که این بیماری که به صورت تجمع بیش از ۵ درصد از چربی کبد بدون علت ثانویه قابل شناسایی است، ۲۵ درصد از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار داده است. ژنتیک به تنهایی نمی‌تواند افزایش گسترده در شیوع NAFLD در طول ۲ دهه گذشته و افزایش پیش‌بینی شده برای دهه‌های آینده را توضیح دهد. اختلال در مسیرهای متابولیک گلوکز و لیپید که با افزایش شیوع جهانی چاقی و دیابت نوع ۲ در ارتباط است، به احتمال زیاد توجیه‌کننده افزایش افراد مبتلا به NAFLD است. این بیماری و عواقب آن مشکلات سلامتی فزاینده‌ای ایجاد می‌کنند.

ویژگی بارز NAFLD افزایش محتوای تری گلیسیرید داخل کبدی^۲ (IHTG) است که وقتی میزان تولید IHTG بیشتر از نرخ ترکیبی صادرات TG در ذرات لیپوپروتئین بسیار کم چگال^۳ (VLDL) و اکسیداسیون داخل کبدی اسیدهای چرب مشتق شده از TG باشد، در کبد تجمع می‌یابد.

داده‌های مجموعه‌ای از مطالعات نشان داده‌اند که میزان ترشح VLDL-TG در افراد مبتلا به NAFLD افزایش یافته است و اکسیداسیون اسیدهای چرب کبدی احتمالاً طبیعی است یا افزایش یافته است، این امر نشان‌دهنده افزایش تولید IHTG مکانیسم اولیه برای ایجاد و حفظ استئاتوز کبدی است. اسیدهای چرب مورد استفاده برای تولید IHTG از (الف) اسیدهای چرب آزاد شده به گردش خون سیستمیک و پورتال توسط لیپولیز TGs در بافت‌های چربی زیر جلدی و احشایی؛ (ب) اسیدهای چرب آزاد شده به گردش خون سیستمیک توسط لیپولیز پس از غذا TGs در شیلومیکرون^۴. (ج) لیپولیز^۵ کبدی TGs در لیپوپروتئین‌های پلاسما تحویل کبد؛ و (د) تولید مجدد اسیدهای چرب از پیش سازهای غیر لیپیدی که در کبد سنتز می‌شوند. سمیت چربی و استرس اکسیداتیو در نتیجه اختلال در متابولیسم لیپید و تجمع چربی در NAFLD ظاهر می‌شود که منجر به آسیب و التهاب سلول‌های کبدی می‌گردد. لیپوفازای^۶

7. Pathogenesis

8. Autophagic vesicles

9. Lipid droplets

10. Autolysosome

11. unc-51 like autophagy activating kinase 1

12. Mammalian target of rapamycin complex 1

13. Adenosine monophosphate-activated protein kinase

1. Nonalcoholic fatty liver disease

2. Intrahepatic triglycerides

3. Very-low-density lipoprotein

4. Chylomicron

5. Lipolysis

6. Lipophagy

باین حال، هنوز مشخص نیست که آیا ورزش و مداخله رژیم غذایی NAFLD را از طریق تنظیم لیپوفازی بهبود می‌بخشد یا خیر، یا چگونه ورزش می‌تواند متابولیسم لیپید را در کبد تعدیل کند. با توجه به اینکه ULK1 کبیدی می‌تواند اطلاعات مفیدی در خصوص اثر مداخلات مختلف بر لیپوفازی در اختیار محققان قرار دهد و تاکنون تحقیقی که به‌طور خاص به مقایسه دو روش مداخله تمرینات هوازی و تمرین در شرایط ناشتایی بر متغیرهای مرتبط با NAFLD و ژن ULK1 انجام نشده است که ضرورت تحقیق حاضر را نشان می‌دهد.

با توجه به مطالب گفته‌شده، پژوهش حاضر به دنبال استراتژی‌های درمانی جدیدی که در مدل‌های تجربی برای معکوس کردن اختلال متابولیسم لیپید از طریق مکانیسم تنظیم لیپوفازی در پیشگیری و درمان بیماری کبد استفاده شده‌اند، تمرکز کرده است و به دنبال این پرسش است که آیا تقویت اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد در کبد به‌واسطه تمرین هوازی تداومی و ناشتایی ۱۴ ساعت می‌تواند منجر به لیپوفازی کبد در رت‌های نر مدل NAFLD گردد؟

مواد و روش‌ها

در تحقیق تجربی حاضر، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر ۱۸ هفته‌ای مدل NAFLD با میانگین وزن $348 \pm 25/53$ گرم از انستیتو پاستور ایران به‌عنوان نمونه پژوهش تهیه شدند. پس از یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۵ تایی شامل کنترل، ناشتایی، ناشتایی و ۳ روز تمرین، ناشتایی و ۵ روز تمرین، ۳ روز تمرین، ۵ روز تمرین تقسیم شدند. رت‌ها در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت 55 ± 4 درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات به ارتفاع ۴۳ و طول ۲۷ و عرض ۲۵ سانتی‌متر و به تعداد ۲ تا ۳ سر رت در هر قفس در مرکز علوم حیوانات دانشگاه علوم پزشکی گرگان نگهداری شدند.

القای بیماری کبد چرب غیرالکلی در حیوانات

در تحقیق حاضر برای القای NAFLD به رت‌های ویستار از رژیم غذای پرچرب و مصرف ساکاروز استفاده شد. به همین منظور با افزودن ۳۰ درصد چربی روغن نباتی و مخلوط شکر به میزان ۱۰ درصد به غذای

به انواع استرس‌های شدید خارج سلولی و درون سلولی برای درمان بیماری‌های مرتبط از جمله NAFLD مهم و ضروری است.

در شرایط گرسنگی، اتوفازی تخریب اجزای سیتوپلاسمی را به‌صورت غیرانتخابی افزایش می‌دهد، درحالی‌که در شرایط غنی از مواد مغذی، اتوفازی به‌طور انتخابی محموله‌های سیتوپلاسمی خاص را حذف می‌کند. اخیراً لیپوفازی یک مسیر جایگزین برای تخریب LDs از طریق مسیر لیزوزومی اتوفازی توصیف شده است. درحالی‌که مسیر متعارف کاتابولیسم LDs شامل لیپازهای سلولی است که به سطح LDs متصل می‌شوند و هیدرولیز^{۱۴} تری اسیل گلیسرول^{۱۵} و متابولیت‌های پایین‌دست را در شرایط عادی کاتالیز می‌کنند، باین حال، نقش‌های کاملاً آشکار لیپوفازی بر متابولیسم لیپید در بیماری‌های مختلف کبیدی از جمله NAFLD به‌عنوان یک بیماری شایع در جهان، هنوز مشخص نشده است.

شواهد نشان می‌دهد که ورزش می‌تواند اختلال متابولیسم ناشی از رژیم غذایی غنی از چربی را کاهش دهد و ممکن است از کبد در برابر NAFLD محافظت کند. همچنین فعالیت ورزشی باعث کاهش چربی بدن می‌شود و اتوفازی عضلات اسکلتی و میوکارد را در موش‌های معمولی فعال می‌کند، چشم‌گیرترین سازگاری کبیدی با ورزش، کاهش میزان لیپیدهای کبیدی است. جین لان یائو^{۱۶} و همکاران در سال ۲۰۱۸ تحقیقی با هدف ارزیابی تمرینات هوازی و مقاومتی بر چربی کبیدی در افراد مبتلا NAFLD نشان دادند که تمرینات هوازی و مقاومتی در افزایش لیپوپروتئین پرچگال^{۱۷} (HDL) مؤثر بود، اما تنها تمرین هوازی باعث کاهش TG شد. مکانیسم‌های اساسی برای پیشگیری و درمان به NAFLD با ورزش، متنوع و پیچیده هستند. مطالعات کنونی در مورد مکانیسم‌های پرولپولیتیک^{۱۸}، ضدالتهابی^{۱۹} و آنتی‌اکسیدانی و لیپوفازی متمرکز شده است. ترویج لیپوفازی به‌عنوان یک مکانیسم مهم برای پیشگیری و بهبود NAFLD با ورزش در نظر گرفته می‌شود.

شواهد جدید نشان می‌دهد که لیپوفازی در مهار تجمع LDs نقش دارد. از طرفی مداخلات مؤثر بر افزایش لیپوفازی ترویج‌شده با ورزش یا مداخلات تغذیه‌ای در درمان و پیشگیری NAFLD اهمیت دارد.

14. Hydrolysis

15. Triacylglycerol

16. Jinlan Yao

17. High-density lipoprotein

18. Prolipolytic

19. Anti-inflammatory

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی تداومی

هفته	مرحله ۱	مرحله ۲	مرحله ۳	مرحله ۴	مرحله ۵	مرحله ۶
سرعت* و مدت#	سرعت	سرعت	سرعت	سرعت	سرعت	سرعت
سازگاری با محیط	-	-	-	-	-	-
آشنایی با تمرین	۸	۱۰	۵	۳	-	-
هفته اول تمرین	۷	۱۰	۱۴	۲۰	۷	۴
هفته دوم تمرین	۸	۱۴	۱۶	۲۵	۱۲	۶
هفته سوم تمرین	۸	۱۴	۱۸	۲۰	۱۴	۱۰
هفته چهارم تمرین	۸	۱۴	۱۸	۲۰	۱۴	۱۰

*سرعت بر حسب متر در دقیقه؛ #مدت بر حسب دقیقه

(AST)، آلانین آمینو ترانسفراز^{۲۱} (ALT) به روش کینتیک^{۲۲}، به ترتیب با استفاده از کیت‌های برند فراسا مد و بایرکس ساخت ایران و دستگاه اتوانالایزر BS480 اندازه‌گیری شدند. جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده یکتا تجهیز آزما (cat.No:FABRK001 dot.No:K812320822) انجام گرفت. برای این کار، ابتدا ۳۰ میلی‌گرم از بافت موردنظر از هر عضو گروه را با ۳۵۰ میکرو لیتر از بافر FARB^{۲۳} و ۳,۵ میکرو لیتر از بتا-مرکا پتواتانول^{۲۴} مخلوط کرده و ترکیب حاصل را به مدت ۳ دقیقه ورتکس شد؛ سپس مخلوط حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شده و بعد از فیلترهای موجود در کیت استفاده شد و مخلوط حاصله را داخل فیلتر ریخته و با سرعت rpm13000 به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع خارج‌شده از فیلتر جمع‌آوری شد و داخل میکرو تیوپ‌های ۱,۵ میلی‌لیتری ریخته و به‌اندازه همان اتانول ۷۰ درصد RNAase FREE به آن افزوده شد. سپس مخلوط حاصله به مدت ۳۰ ثانیه ورتیکس شد و بعد از آن میکس موردنظر را داخل فیلترهای FARB ریخته شد و با سرعت ۱۳۰۰ دور در یک دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد از محلول WASH1 به میزان ۵۰۰ میکرو لیتر به فیلتر اضافه شد و دوباره مخلوط با همان سرعت سانتریفوژ شد. همین مرحله با محلول WASH2 تکرار شد و در انتها به فیلتر ۱۰۰ - ۴۰ میکرو لیتر از آب عادی از RNAase اضافه و به مدت ۱ دقیقه با بالاترین

21. Alanine transaminase

22. Kinetic

23. FARB Buffer

24. Beta-Mercaptoethanol

استاندارد صورت گرفت و روزانه میزان ۱۰ گرم غذا به ازای ۱۰۰ گرم وزن هر رت در اختیار رت‌ها گذاشته شد.

طراحی آزمایش

تمامی حیوانات مدل NAFLD به آب و غذای پلت استاندارد (۱۰ گرم غذا به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن رت) دسترسی آزاد (در طی ۲۴ ساعت) داشتند و رت‌ها در گروه‌های گرسنگی، همان مقدار مواد غذایی را طی ۱۰ ساعت دریافت می‌کردند. پروتکل ناشتایی به مدت چهار هفته بود و روزانه به مدت ۱۴ ساعت در زمان چرخه بیداری (۱۷:۳۰ عصرها ۷:۳۰ صبح) رت‌ها اعمال گردید. جهت القای ناشتایی، رت‌های گروه‌های ناشتایی، همان مقدار معمول غذای نرمال (۱۰ گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن رت) مواد غذایی که بقیه گروه‌ها طی ۲۴ ساعت دریافت می‌کردند را طی ۱۰ ساعت مصرف کردند.

پروتکل تمرین

به‌منظور آشناسازی و سازگاری با محیط در هفته اول حیوانات به مدت ۱۵ دقیقه روی تردمیل قرار گرفتند و پس از مرحله آشنایی، تمرین هوازی تداومی را به مدت ۴ هفته به با تواترهای ۳ و ۵ روز در هفته به مدت ۴۵-۶۰ دقیقه روی تردمیل انجام دادند. برنامه تمرینی اصلی رت‌ها روی تردمیل با شیب صفر درجه با سرعت ۱۴ متر در دقیقه در هفته نخست به سرعت ۱۶ و ۱۸ متر در دقیقه با شیب صفر درجه در هفته‌های بعد رسید (جدول ۱).

روش سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی و ژن

سطوح آنزیم‌های کبدی آسپاراتات ترانس آمیناز^{۲۰}

20. Aspartate aminotransferase

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده

تعداد نوکلئوتیدها	توالی پرایمر	ژن
۲۰	For: 5'- GGAGGAGTATCTGATAGGGCAG -3'	UNC-51 مرتبط با کیناز ۱
۲۰	Rev: 5'- AACCCGGTGCTCTTTGTAC -3'	
۲۲	'For: 5'- CACTGAGCATCTCCCTC ACAA-3	گلیسرآلدهید-۳ فسفات دهیدروژناز
۲۲	'Rev: 5'- TGGTATTCGAGAGA AGGGAGG -3	

تجزیه و تحلیل آماری

در تحقیق حاضر همگی متغیرها به صورت میانگین و انحراف استاندارد بیان شده‌اند. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و همچنین تجانس واریانس‌ها بین گروه‌های تحقیق به ترتیب از آزمون‌های شاپیرو-ویلک^{۳۰} و لون^{۳۱} استفاده شد. برای مقایسه متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های تحقیق از روش آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه^{۳۲} استفاده شد و در صورت معنی‌داری برای یافتن محل اختلاف از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد و سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

همه موارد اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در این مطالعه رعایت شده است. این پژوهش از دانشگاه آزاد واحد علمی آباد کتول کد اخلاق به شناسه IR.IAU.AK.REC.1399.026 دریافت نموده است.

یافته‌ها

گزارش توصیفی میانگین، انحراف معیار گروه‌ها در (جدول ۳) ارائه شده است.

(جدول ۴) مربوط به مقایسه بین گروهی متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های تحقیق است.

با توجه به نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معنی‌داری در متغیرهای دور شکم ($P < 0.001$)، ULK1 ($P < 0.001$)، آلانین آمینوترانسفراز ($P < 0.001$) و آسپارات آمینوترانسفراز ($P = 0.001$) بین گروه‌های تحقیق وجود داشت. به‌منظور یافتن محل اختلاف از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد که نتایج آن در (جدول ۵، شکل ۱) ارائه شده است.

دور سانتریفوژ شد که در نتیجه آن RNA از بافت استخراج گردید. سپس میزان کیفیت، کمیت حاصل از RNA با دستگاه نانو دراپ^{۲۵} اندازه‌گیری شد و به سنتز دی ان ای مکمل^{۲۶} (cDNA) شرکت پارس توس مشهد (parstous.lot:2156,REF:A101161) پرداخته شد. برای این کار ابتدا میزان ۱۰ میکرو لیتر از بافر میکس کیت را با ۲ لانه از آنزیم کیت مخلوط و بعد میزان ۱ نانوگرم الی ۵ میکروگرم خلوص و میزان RNA هر عضو گروه‌ها مقادیری حدود ۱-۲ میکرو لیتر از RNA به کیس اضافه شد. مخلوط حاصل را تا حجم ۲۰ میکرو لیتر با depc treated water پرکرده و سپس ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. بعد از آن ۶۰ دقیقه در دمای ۴۷ درجه انکوبه گردید و برای توقف، واکنش را ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه قرار داده شد و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری سطوح بیان ژن ULK1 به روش کمی ریل تایم^{۲۷} انجام شد.

پرایمرها به روش سایبر گرین^{۲۸} و سفارش پرایمرها توسط شرکت پیشگام بیو تک (سنتز آلمان) انجام شد. ژن گلیسرآلدهید-۳ فسفات دهیدروژناز^{۲۹} (GAPDH) به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان ژن موردنظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. به این صورت که ابتدا سیکل آستانه ژن موردنظر هر نمونه از سیکل آستانه ژن خانه گردان همان نمونه کم شد. ($\Delta Ct = Ct \text{ Target} - Ct \text{ Housekeeping}$) در مرحله بعد، عدد به دست آمده از ΔCt هر نمونه را از نمونه‌های که نسبت به آن نیاز بود مقایسه شود کم کرده و منفی عدد به دست آمده را به توان دو رساندیم و بیان نسبی ژن ULK1 به دست می‌آمد $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ Target} - \Delta Ct \text{ Reference}$ (جدول ۲) گزارش شده است.

25. NanoDrop

26. Complementary DNA

27. Real time

28. SYBER Green qpcr master mix (cat.No: YT2552,lot.P2003)

29. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

30. Shapiro-Wilk test

31. Levene's test

32. One-way analysis of variance test

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد گروه‌های تحقیق

متغیرها	کنترل	گرسنگی	۳ روز تمرین	۵ روز تمرین	گرسنگی +۳ روز تمرین	گرسنگی +۵ روز تمرین
ALT	۱۹۷/۱۰۱±۶۲/۹۶	۵۸/۵±۴۴/۸۸	۱۱۹/۲۳±۲۴/۹۳	۱۰۰/۴۴±۸۸/۵۴	۷۱/۱۵±۰۲/۹۰	۶۶/۱۰±۹۸/۰۵
AST	۴۶۵/۱۳۰±۹۴/۷۶	۲۲۱/۴۰±۴۸/۸۶	۲۱۳/۶۳±۷۸/۶۵	۲۲۳/۶۴±۱۴/۴۹	۱۳۷/۵۲±۶۸/۳۵	۱۴۱/۸۹±۴۲/۷۷
ULK1	۱/۰±۰/۰۰	۱۰/۳±۴۰/۰۲	۱/۱±۳۶/۴۸	۱/۱۰±۹۱/۷۱	۹/۵±۳۴/۲۶	۱۱/۷±۲۰/۳۷
دور شکم به سینه	۱/۰±۲۰/۵۲	۱/۰±۰۶/۰۲	۱/۰±۲۳/۰۴	۱/۰±۲۲/۰۸	۱/۰±۰۸/۰۴	۱/۰±۰۶/۰۳

UNC-51: ULK1 شبه کیناز -۱ فعال کننده اتوفازی؛ ALT: آلانین آمینوترانسفراز؛ AST: آسپاراتات آمینوترانسفراز

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین گروهها

متغیرها	منابع تغییر	مجموع مربعات	میانگین مربعات	df	F	P
ALT	بین گروهی	۶۷۶۲۲/۴۹۴	۱۳۵۲۴/۴۹۹	۵	۶/۰۸۳	* /۰۰۱
	درون گروهی	۵۳۳۶۲/۸۷۶	۲۲۲۳/۴۵۳	۲۴		
	جمع کل	۱۲۰۹۸۵/۳۷۰		۲۹		
AST	بین گروهی	۳۰۷۰۸۱/۲۴۳	۶۱۴۱۶/۲۴۹	۵	۹/۷۵۶	* /۰۰۱
	درون گروهی	۱۵۱۰۸۷/۲۳۶	۶۲۹۵/۳۰۲	۲۴		
	جمع کل	۴۵۸۱۶۸/۴۷۹		۲۹		
ULK1	بین گروهی	۶۴۷/۱۱۸	۱۲۹/۴۲۴	۵	۸/۲۸۴	* /۰۰۱
	درون گروهی	۳۴۷/۹۴۵	۱۵/۶۲۴	۲۴		
	جمع کل	۱۰۲۲/۰۸۳		۲۹		
دور شکم	بین گروهی	۸۶/۰۰۰	۱۷/۲۰۰	۵	۴۲/۵۵۷	* /۰۰۱
درون گروهی	۸۶۴۰/۳۰۰	۸۶۴۰/۳۰۰	۲۴			
جمع کل	۶۹۳۶/۰۰۰		۲۹			

*: سطح معنی داری ($P < 0/001$)؛ ALT: آلانین آمینوترانسفراز؛ AST: آسپاراتات آمینوترانسفراز؛ UNC-51: ULK1 شبه کیناز -۱ فعال کننده اتوفازی؛ df: درجه آزادی

بحث

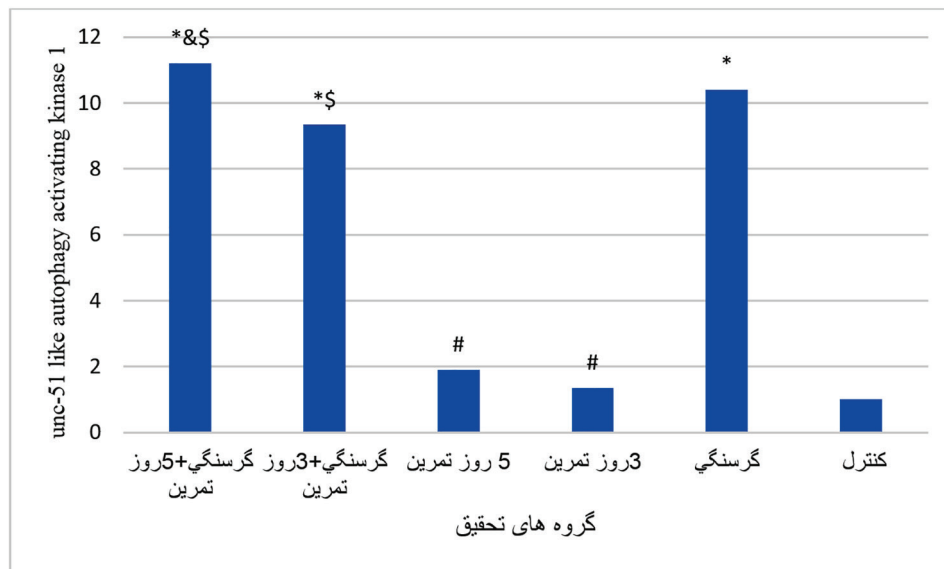
در حالت ناشتایی بر افزایش ULK1 است. مولر^{۳۳} و همکاران در تحقیقشان گزارش کردند که ۳۶ ساعت ناشتایی موجب افزایش بیان ژن ULK1 در عضله اسکلتی شد که با تغییرات ULK1 در گروه ناشتایی نسبت به گروه کنترل متفاوت بود. علت این تفاوت در نتایج ممکن است به دلیل تفاوت در بافت‌های مورد مطالعه و همچنین تفاوت در میزان مداخله ناشتایی باشد؛ چون در تحقیق مولر مداخله ناشتایی ۳۶ ساعت بود درحالی‌که در تحقیق حاضر مداخله ناشتایی یک بازه زمانی ۱۴ ساعتی بود. همچنین نتایج تحقیق مولر نشان داد که سیگنال دهی اتوفازی پس از ۶۰ دقیقه ورزش، مستقل از

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پروتکل ناشتایی موجب افزایش بیان ژن ULK1 کبدی نسبت به گروه کنترل شد. در بررسی اثر تعاملی ناشتایی و تمرینات ورزشی نیز نتایج تحقق حاضر نشان‌دهنده افزایش بیشتر بیان ژن ULK1 در گروه‌های ناشتایی با تواتر تمرین ۳ و ۵ جلسه تمرین در هفته نسبت به گروه کنترل شد. افزایش ULK1 در گروه‌های ۳ و ۵ جلسه تمرین در حالت ناشتایی نسبت به گروه ۵ جلسه تمرین بیشتر بود؛ همچنین افزایش ULK1 در گروه ۵ جلسه تمرین در حالت ناشتایی نسبت به گروه ۳ جلسه در هفته نیز بیشتر بود؛ که این نتایج نشان‌دهنده نقش حجم تمرین

جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی بونفرنی جهت مقایسه میانگین‌های گروه‌های مداخله با کنترل

ULK1	AST	ALT	دور شکم	گروه ۲	گروه ۱
۰/۰۱۵*	<۰/۰۰۱**	<۰/۰۰۱**	<۰/۰۰۱**	گرسنگی	
۱/۰۰	<۰/۰۰۱**	۰/۲۲۱	<۰/۰۰۱**	۳ روز تمرین	
۱/۰۰	<۰/۰۰۱**	۰/۰۵۲	<۰/۰۰۱**	۵ روز تمرین	کنترل
۰/۰۴۱*	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۴*	<۰/۰۰۱**	گرسنگی +۳ روز تمرین	
۰/۰۰۶*	<۰/۰۰۱**	۰/۰۰۳*	<۰/۰۰۱**	گرسنگی +۵ روز تمرین	
۰/۰۲۱*	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۳ روز تمرین	گرسنگی
۰/۰۱۳*	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۵ روز تمرین	
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	گرسنگی +۳ روز تمرین	
۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۷۷۷	۰/۰۸۱	گرسنگی +۵ روز تمرین	
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۵ روز تمرین	
۰/۰۵۹	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	گرسنگی +۳ روز تمرین	۳ روز تمرین
۰/۰۰۹*	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۰۳۳*	گرسنگی +۵ روز تمرین	
۰/۰۳۸*	۰/۷۷۴	۱/۰۰	۱/۰۰	گرسنگی +۳ روز تمرین	۵ روز تمرین
۰/۰۰۶*	۰/۱۱۶	۱/۰۰	۱/۰۰	گرسنگی +۵ روز تمرین	
۱/۰۰	۰/۰۶۷	۱/۰۰	۱/۰۰	گرسنگی +۵ روز تمرین	گرسنگی +۳ روز تمرین

*: سطح معنی‌داری ($P < 0.05$)؛ **: سطح معنی‌داری ($P < 0.001$)؛ ALT: آلانین آمینوترانسفراز؛ AST: آسپارات آمینوترانسفراز؛ ULK1: UNC-51 شبه کیناز ۱- فعال کننده اتوفازی



شکل ۱. مقایسه تغییرات ژن UNC-51 شبه کیناز ۱- فعال کننده اتوفازی در گروه‌های تحقیق. *: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ناشتایی؛ &: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ۳ روز تمرین؛ \$: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه ۵ روز تمرین

بیان ژن ULK1 بخصوص در گروه با تواتر تمرین بیشتر به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه‌های تمرین در حالت تغذیه شده بود؛ بنابراین می‌توان گفت که در صورت انجام تمرینات با تواتر تمرینی بیشتر به علت

وضعیت تغذیه‌ای، در عضله اسکلتی انسان فعال می‌شود و نشان می‌دهد که شروع اتوفازی یک پاسخ فیزیولوژیکی مهم به ورزش در انسان است. این در حالی بود که در تحقیق حاضر در گروه‌های تعاملی افزایش

که تمرینات هوازی دویدن و ناشتایی ۱۴ ساعته موجب کاهش محیط دور شکم و آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز^{۳۶} (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز^{۳۷} (AST) بافت کبد شد. به‌طور فزاینده‌ای تشخیص داده می‌شود که محل چربی بیش‌ازحد، به‌ویژه افزایش رسوب بافت چربی احشایی^{۳۸} (VAT)، هنگام تعیین اثرات نامطلوب سلامتی اضافه‌وزن و چاقی مهم است. یافته‌های بررسی‌های سیستماتیک تأیید می‌کند که تعادل منفی انرژی ناشی از ورزش یا رژیم غذایی با کاهش معنی‌دار VAT و عوامل خطر قلبی متابولیک مرتبط است. جریان آزاد اسیدهای چرب، مولکول‌های فعال زیستی و التهابی مانند سیتوکین‌ها^{۳۹} و آدیپوکین‌ها^{۴۰} از چربی احشایی، کبد را در معرض تجمع چربی و التهاب قرار می‌دهد. انتشار مداوم عوامل پیش التهابی^{۴۱} و محتوای چربی بالا در گردش خون منجر به التهاب سیستمیک و مقاومت به انسولین می‌شود. پیامدهای متابولیکی مقاومت به انسولین منجر به هایپرگلیسمی^{۴۲}، دیس لیپیدمی^{۴۳}، افزایش نشانگرهای التهابی و چاقی احشایی می‌شود و این چرخه معیوب چربی احشایی و القای مقاومت به انسولین باعث تشدید نفوذ چربی سلول‌های کبدی می‌شود. فعالیت ورزشی منظم مطابق با دستورالعمل‌های فعلی، در ترکیب با یک رژیم غذایی متعادل، با کاهش معنی‌دار VAT همراه است. محور بین بافت چربی و کبد در بیشتر آسیب‌های وارده به این بافت در رابطه با رژیم‌های غذایی چاق‌کننده است بنابراین کاهش چربی احشایی می‌تواند موجب کاهش تجمع چربی‌ها در کبد و آسیب به سلول‌های کبدی شود که نتیجه آن افزایش سطوح آمینوترانسفرازها مانند ALT و AST به‌عنوان بیومارکرهای مرتبط با کبد چرب می‌شود. بر اساس نتایج تحقیق ما، بیشترین میانگین ALT در گروه کنترل چرب (۱۹۷،۶۲) و کمترین میانگین آن در گروه‌های ناشتایی (۵۸/۴۴) و گروه ناشتایی با تواتر ۵ روز تمرین (۶۶،۹۸۰) مشاهده شد. همچنین بیشترین میانگین AST در گروه کنترل چرب (۴۶۵،۹۴) و کمترین میانگین آن در گروه (ناشتایی + ۵ روز تمرین) (۱۴۱،۴۲) مشاهده شد. مصرف بیش‌ازحد لیپید منجر به دریافت انرژی اضافی و تجمع چربی در بدن می‌شود. افزایش چربی احشایی

36. Alanine aminotransferase

37. Aspartate aminotransferase

38. visceral adipose tissue

39. Cytokines

40. Adipokines

41. Proinflammatory agents

42. Hyperglycemia

43. Dyslipidemia

افزایش عوامل مؤثر در لیپوفاژی مانند ULK1، سطح لیپوفاژی بیشتر افزایش می‌یابد. می‌توان علت تفاوت در نتایج تحقیق مولر نسبت به تحقیق ما را به تفاوت در نمونه‌های مورد بررسی و همچنین بافت‌های مورد مطالعه نسبت داد؛ چون در تحقیق حاضر از بافت کبد استفاده شده شد که بنا به دلایل فیزیولوژیک یک بافت مهم متابولیکی است. گزارش شده است که دویدن حاد روی تردمیل در موش‌ها باعث استرس اکسیداتیو میتوکندری در ۳ تا ۱۲ ساعت و میتوفاژی در ۶ ساعت پس از ورزش در عضله اسکلتی می‌شود که در ارتباط با میتوفاژی ناشی از ورزش و اهمیت سیگنال‌دهی AMPK - ULK1 است. علاوه بر این، اتوفاژی توسط AMPK که یک حسگر انرژی کلیدی است و متابولیسم سلولی را برای حفظ هموستاز انرژی تنظیم می‌کند، ترویج می‌شود. برعکس، اتوفاژی توسط mTOR، یک تنظیم‌کننده مرکزی رشد سلولی که فاکتور رشد و سیگنال‌های غذایی را ادغام می‌کند، مهار می‌شود. تعداد فزاینده‌ای از شواهد نشان داده‌اند که فعال‌سازی AMPK با کاهش غلظت مالونیل کوآنزیم A^{۳۴}، یک مهارکننده کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز^{۳۵}، اکسیداسیون اسید چرب را افزایش می‌دهد. تحت ناشتایی گلوکز، AMPK با فعال کردن مستقیم Ulk1 از طریق فسفوریلاسیون Ser17 و Ser777، اتوفاژی را ترویج می‌کند. تحت کفایت مواد مغذی، فعالیت mTOR بالا با فسفریله کردن ULK1 Ser757 و مختل کردن تعامل بین ULK1 و AMPK از فعال‌سازی Ulk1 جلوگیری می‌کند؛ این فسفوریلاسیون هماهنگ برای ULK1 در القای اتوفاژی مهم است. با توجه به اینکه هر دو مداخله ناشتایی و تمرینات ورزشی هر دو موجب فعال‌سازی AMPK می‌شوند و از طرفی فعال‌سازی AMPK موجب سیگنال‌دهی به ULK1 می‌شود می‌توان علت تغییرات بیشتر در بیان ژن ULK1 در گروه تمرین در حالت ناشتایی نسبت به گروه‌های تمرین در حالت تغذیه توجیه کرد. از طرفی در مقایسه روش‌های مداخله در گروه ناشتایی به همراه تواتر تمرین ۵ جلسه در هفته تغییرات ULK1 نسبت به گروه‌های تمرین بیشتر بود و این تغییرات نسبت به گروه ناشتایی نیز معنی‌دار بود. می‌توان افزایش بیشتر ULK1 در این گروه را به‌عنوان یک سازگاری متابولیکی با هدف لیپولیز بیشتر برای پاسخ به تأمین انرژی بیشتر نسبت داد.

همچنین یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد

34. Malonyl-coenzyme A

35. Carnitine palmitoyltransferase I

ATP کمک می‌کند که AMPK را فعال می‌کند. نتایج مطالعه HELENA نشان می‌دهد که آمادگی قلبی تنفسی بالا ممکن است اثرات محافظتی بر سطح آنزیم‌های کبدی در نوجوانان با دور کمر بالا داشته باشد و ورزش با تمرکز بر افزایش آمادگی قلبی تنفسی بالا و کاهش چربی شکمی می‌تواند ابزار خوبی در پیشگیری و درمان NAFLD باشد؛ که در تحقیق حاضر به صورت کاهش چربی دور شکم و کاهش آمینوترانسفرازهای کبدی مشاهده شد.

مطالعات نشان می‌دهد که هم ULK1 و هم ATG13 کمپلکس آغازین ممکن است از طریق فسفوریلاسیون هدایت شده توسط MTORC1 تنظیم شوند. گزارش شده است که فسفوریلاسیون ULK1 Ser757 توسط MTORC1 با تداخل در ارتباط آن با AMPK، فعالیت آن را مهار می‌کند. فعالیت میتوکندری کبد و متابولیسم لیپید را از طریق القای میتوفازی افزایش می‌دهد. علاوه بر این، ULK1 می‌تواند با تنظیم بیان پروتئین جعبه سرچنگالی (FOXO1) M1⁵⁰ از رشد کارسینوم سلولهای کبد⁵¹ پشتیبانی کند. ULK1 از طریق مکانیسم‌های اتوفازی و غیر اتوفازی سمیت و التهاب ناشی از لیپید را کاهش می‌دهد. همچنین، ULK1 سمیت استامینوفن (APAP) و سنتز کلسترول کبدی را از طریق یک سیگنال دهی مستقل اتوفازی غیر متعارف افزایش می‌دهد. برخی تحقیقات نشان دادند که فعالیت بدنی سیگنال دهی اتوفازی را از طریق ULK1 در عضله اسکلتی انسان افزایش می‌دهد. همچنین ورزش فسفوریلاسیون ULK1 را در Ser555 افزایش داده و لیپوزنز را کاهش می‌دهد. برخی مطالعات نیز نشان داده‌اند که ورزش جسمانی سیگنال دهی ULK1 را افزایش می‌دهد و این پاسخ در طول روزه‌داری افزایش می‌یابد. در تحقیق ما نیز بیشترین افزایش ULK1 کبدی در گروهی بود که علاوه بر ناشتایی، بیشترین تواتر تمرین در هفته را نیز داشتند.

محدودیت‌های پژوهش

از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری عوامل مرتبط با سیگنال دهی ULK1 مانند AMPK و mTOR و همچنین عدم اندازه‌گیری مولکول‌های سیگنال‌دهی بین ULK1 و آمینوترانسفرازها اشاره کرد.

جریان اسیدهای چرب آزاد را به کبد افزایش می‌دهد و منجر به استئاتوز کبدی می‌شود. تصور بر این است که مصرف بیش از حد اسیدهای چرب اشباع شده باعث ایجاد مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ می‌شود؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که ۴ هفته دویدن تداومی (۳ روز و ۵ روز) و ناشتایی ۱۴ ساعته بر میزان تغییرات آنزیم‌های کبدی رت‌های نر مدل کبد چرب تأثیر معناداری دارد و باعث کاهش ALT و AST کبدی می‌شود. این به این معنی است که انجام فعالیت ورزشی و داشتن رژیم غذایی مناسب می‌تواند بیان آنزیم‌های کبدی را تنظیم نموده و از آسیب بافت کبد جلوگیری نماید. لیو^{۴۴} و همکاران نشان دادند که یک رژیم غذایی کم‌چرب به همراه ورزش می‌تواند کاهش قابل توجهی در چربی کبد به وجود آورد؛ در حالی که در سایر گروه‌های حیوانی، رژیم غذایی پرچرب باعث استئاتوز کبدی و التهاب، مقاومت به انسولین و افزایش فاکتور نکروزدهنده تومور-آلفا^{۴۵} (TNFα) خواهد شد. این تغییرات ممکن است با فعال شدن گیرنده γ فعال شده توسط تکثیرکننده‌های پراکسی زوم^{۴۶} (PPAR γ) مرتبط باشد. همچنین برخی یافته‌ها نشان داد که تمرین هوازی مداوم با تنظیم سرعت و مدت حین مراحل تمرین یکی از اهداف راهبردی تمرینی مناسب برای کاهش غلظت پلاسمایی آمینوترانسفرازهای سرمی هستند. حتی بدون تغییر وزن نیز اثرات مثبت تمرینات ورزشی بر NAFLD گزارش شده است.

کبد با کاتابولیسم گلیکوزن، بسترهای انرژی را به بافت‌های محیطی می‌رساند؛ بنابراین، تمرین هوازی بر متابولیسم گلیکوزن نیز تأثیر دارد و گلوکونئوزن^{۴۷} را با حفظ هموستاز گلوکز در طول ورزش، کاهش و از این راه باعث حفظ گلیکوزن کبد می‌شود. گلیکوزن کبدی در افراد مبتلا به چاقی و دیابت با فعال کردن گلیکوزن سنتاز کیناز-۳ بتای^{۴۸} کبدی کاهش می‌یابد که گلیکوزن سنتاز^{۴۹} را سرکوب می‌کند. علاوه بر این، افزایش سنتز گلیکوزن کبدی، فنوتیپ متابولیک رت‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب را بهبود می‌بخشد. روی هم رفته، افزایش گلیکوزن کبدی ممکن است یکی از مکانیسم‌هایی باشد که با تمرین هوازی، مقاومت به انسولین کبدی و NAFLD را بهبود می‌بخشد. افزایش گلیکوزن به کاهش نسبت AMP/

44. Liu

45. Tumor Necrosis Factor Alpha

46. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

47. Gluconeogenesis

48. Glycogen synthase kinase 3 β

49. Glycogen Synthase

50. Forkhead box protein M1

51. Hepatocellular carcinoma

از تمام کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تضاد منافی وجود ندارد.

ناشتایی اثرات مثبتی بر کاهش چربی احشایی، آنزیم‌های کبدی در موش‌های مبتلا به NAFLD داشت، همچنین بیشترین تغییرات در ULK1 در گروه‌های تمرین در حالت ناشتایی مشاهده شد. به نظر می‌رسد که ناشتایی و ناشتایی همراه با تمرین موجب افزایش لیپوفازی به‌واسطه افزایش فعالیت ژن ULK1 می‌شود.

منابع

- Mohammadi F, Ghalavand A, Delaramnasab M. Effect of circuit resistance training and L-carnitine supplementation on body composition and liver function in men with non-alcoholic fatty liver disease. *Jundishapur Journal of Chronic Disease Care*. 2019;8(4).
- Davoodi M, Moosavi H, Nikbakht M. The effect of eight weeks selected aerobic exercise on liver parenchyma and liver enzymes (AST, ALT) of fat liver patients. 2012.
- Sveinbjornsson G, Ulfarsson MO, Thorolfsson RB, Jonsson BA, Einarsson E, Gunnlaugsson G, et al. Multiomics study of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2022;54(11):1652-63.
- Stefan N, Cusi K. A global view of the interplay between non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10(4):284-96.
- Smith GI, Shankaran M, Yoshino M, Schweitzer GG, Chondronikola M, Beals JW, et al. Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2020;130(3):1453-60.
- Wallace M, Metallo CM. Tracing insights into de novo lipogenesis in liver and adipose tissues. *Semin Cell Dev Biol*. 2020;108:65-71.
- Carotti S, Aquilano K, Zalfa F, Ruggiero S, Valentini F, Zingariello M, et al. Lipophagy Impairment Is Associated With Disease Progression in NAFLD. *Front Physiol*. 2020;11:850.
- Cingolani F, Czaja MJ. Regulation and Functions of Autophagic Lipolysis. *Trends Endocrinol Metab*. 2016;27(10):696-705.
- Rong Z, Zheng K, Chen J, Jin X. Function and regulation of ULK1: From physiology to pathology. *Gene*. 2022;840:146772.
- Zhang S, Peng X, Yang S, Li X, Huang M, Wei S, et al. The regulation, function, and role of lipophagy, a form of selective autophagy, in metabolic disorders. *Cell Death Dis*. 2022;13(2):132.
- Zachari M, Ganley IG. The mammalian ULK1 complex and autophagy initiation. *Essays Biochem*. 2017;61(6):585-96.
- Zhang Z, Yao Z, Chen Y, Qian L, Jiang S, Zhou J, et al. Lipophagy and liver disease: New perspectives to better understanding and therapy. *Biomed Pharmacother*. 2018;97:339-48.
- Grumati P, Bonaldo P. Autophagy in skeletal muscle homeostasis and in muscular dystrophies. *Cells*. 2012;1(3):325-45.
- Yao J, Meng M, Yang S, Li F, Anderson RM, Liu C, et al. Effect of aerobic and resistance exercise on liver enzyme and blood lipids in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Int J Clin Exp Med*. 2018;11(5):4867-74.
- Su P, Chen JG, Tang DH. Exercise against nonalcoholic fatty liver disease: Possible role and mechanism of lipophagy. *Life Sci*. 2023;327:121837.
- Gao Y, Zhang W, Zeng LQ, Bai H, Li J, Zhou J, et al. Exercise and dietary intervention ameliorate high-fat diet-induced NAFLD and liver aging by inducing lipophagy. *Redox Biol*. 2020;36:101635.
- Eng JM, Estall JL. Diet-Induced Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Food for Thought on Sugar, Fat, and Cholesterol. *Cells*. 2021;10(7).
- Alex S, Boss A, Heerschap A, Kersten S. Exercise training improves liver steatosis in mice. *Nutr Metab (Lond)*. 2015;12:29.
- Moller AB, Vendelbo MH, Christensen B, Clasen BF, Bak AM, Jorgensen JO, et al. Physical exercise increases autophagic signaling through ULK1 in human

- skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2015;118(8):971-9.
20. Laker RC, Drake JC, Wilson RJ, Lira VA, Lewellen BM, Ryall KA, et al. Ampk phosphorylation of Ulk1 is required for targeting of mitochondria to lysosomes in exercise-induced mitophagy. *Nat Commun*. 2017;8(1):548.
 21. Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol*. 2011;13(2):132-41.
 22. Ruderman NB, Park H, Kaushik VK, Dean D, Constant S, Prentki M, et al. AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. *Acta Physiol Scand*. 2003;178(4):435-42.
 23. Ismail I, Keating SE, Baker MK, Johnson NA. A systematic review and meta-analysis of the effect of aerobic vs. resistance exercise training on visceral fat. *Obes Rev*. 2012;13(1):68-91.
 24. Ross R, Soni S, Houle SA. Negative Energy Balance Induced by Exercise or Diet: Effects on Visceral Adipose Tissue and Liver Fat. *Nutrients*. 2020;12(4).
 25. Bansal S, Vachher M, Arora T, Kumar B, Burman A. Visceral fat: A key mediator of NAFLD development and progression. *Human Nutrition & Metabolism*. 2023:200210.
 26. Casagrande BP, de Souza DV, Ribeiro DA, Medeiros A, Pisani LP, Estadella D. Hepatic inflammation precedes steatosis and is mediated by visceral fat accumulation. *J Endocrinol*. 2020;245(3):369-80.
 27. Ismaiel A, Jaaouani A, Leucuta DC, Popa SL, Dumitrascu DL. The Visceral Adiposity Index in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fibrosis-Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomedicines*. 2021;9(12).
 28. Luo Q, Wei R, Cai Y, Zhao Q, Liu Y, Liu WJ. Efficacy of Off-Label Therapy for Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Improving Non-invasive and Invasive Biomarkers: A Systematic Review and Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:793203.
 29. Perdomo CM, Fruhbeck G, Escalada J. Impact of Nutritional Changes on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients*. 2019;11(3).
 30. Jokar M, Ghalavand A. The effect of twelve weeks of aerobic interval training on liver complications and cardiovascular risk factors in men with type 2 diabetes. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2022;29(3):26-36.
 31. Liu GY, Sabatini DM. Author Correction: mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020;21(4):246.
 32. Abdelbasset WK, Elsayed SH, Nambi G, Alrawaili SM, Elnegamy TE, Khalil MA, et al. Effect of Moderate-Intensity Aerobic Exercise on Hepatic Fat Content and Visceral Lipids in Hepatic Patients with Diabetes: A Single-Blinded Randomised Controlled Trial. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2020;2020:1923575.
 33. Babu AF, Csader S, Lok J, Gomez-Gallego C, Hanhineva K, El-Nezami H, et al. Positive Effects of Exercise Intervention without Weight Loss and Dietary Changes in NAFLD-Related Clinical Parameters: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2021;13(9).
 34. Nozaki Y, Petersen MC, Zhang D, Vatner DF, Perry RJ, Abulizi A, et al. Metabolic control analysis of hepatic glycogen synthesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(14):8166-76.
 35. Xia Q, Huang X, Huang J, Zheng Y, March ME, Li J, et al. The Role of Autophagy in Skeletal Muscle Diseases. *Front Physiol*. 2021;12:638983.
 36. Takahashi H, Kotani K, Tanaka K, Egucih Y, Anzai K. Therapeutic Approaches to Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Exercise Intervention and Related Mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:588.
 37. Medrano M, Labayen I, Ruiz JR, Rodriguez G, Breidenassel C, Castillo M, et al. Cardiorespiratory fitness, waist circumference and liver enzyme levels in European adolescents: The HELENA cross-sectional study. *J Sci Med Sport*. 2017;20(10):932-6.
 38. Lu Q, Wang PS, Yang L. Golgi-associated Rab GTPases implicated in autophagy. *Cell Biosci*. 2021;11(1):35.
 39. da Rocha AL, Pinto AP, Bedo BLS, Morais GP, Oliveira LC, Carolino ROG, et al. Exercise alters the circadian rhythm of REV-ERB-alpha and downregulates autophagy-related genes in peripheral and central tissues. *Sci Rep*. 2022;12(1):20006.
 40. Zou L, Liao M, Zhen Y, Zhu S, Chen X,

Zhang J, et al. Autophagy and beyond: Unraveling the complexity of UNC-51-like kinase 1 (ULK1) from biological functions to therapeutic implications. *Acta Pharm Sin*

B. 2022;12(10):3743-82.

41. Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr Opin Cell Biol.* 2010;22(2):132-9.