

تأثیر همراهی تمرین تناوبی با شدت بالا و یک دوره رژیم غذایی پرچرب بر بیان ژن *Col6A3* و محصول آن در بافت چربی زیرجلدی و مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی

شادی فیاضی^۱، دکتر رضا قراخانلو^۱، دکتر مهدیه ملانوری^۱، دکتر محمدرضا کردی^۲

۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، ۲) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، نشانی مکاتبه با نویسنده‌ی مسئول: تهران، بزرگراه جلال آل احمد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم انسانی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دکتر رضا قراخانلو؛ e-mail: ghara_re@modares.ac.ir

چکیده

مقدمه: کلاژن ۶ از اجزای مهم شبکه مولکولی خارج سلولی بافت چربی می‌باشد و رسوب آن با اختلالات متابولیک همراه است. هدف این مطالعه بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) هم‌زمان با رژیم غذایی پرچرب بر بیان ژن کلاژن ۶ (*Col6A3*) و مقدار محصول پروتئینی آن (*COL6α3*) در بافت چربی زیرجلدی و هم‌چنین مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی بود. مواد و روش‌ها: ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ به طور تصادفی به چهار گروه تغذیه معمولی (ND)، تغذیه پرچرب (HFD)، HIIT+ND و HIIT+HFD تقسیم شدند. HIIT شامل هشت دوره فعالیت شدید در ۹۰٪ حداکثر ظرفیت دویدن (MRC) به مدت ۲/۵ دقیقه، با دوره‌های استراحت فعال در ۵۰٪ MRC به مدت ۲/۵ دقیقه بود. خون‌گیری از ناحیه قلب ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، انجام گردید و بافت چربی زیرجلدی برداشته شد. میزان گلوکز و انسولین سرمی اندازه‌گیری و مقاومت انسولینی (HOMA-IR) محاسبه شد. برای سنجش بیان ژن و میزان پروتئین بافتی *COL6α3* به ترتیب از روش RT-PCR و الیزا استفاده گردید. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنوا دوطرفه و ضریب همبستگی استفاده شد ($P \leq 0/05$). یافته‌ها: همراهی HIIT و رژیم غذایی پرچرب باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن و میزان پروتئین بافتی *COL6α3* ($P < 0/001$) و کاهش ۲۱ درصدی HOMA-IR گردید ($P < 0/001$). همبستگی مثبت و معنی‌دار بین بیان ژن و میزان پروتئین *COL6α3* با HOMA-IR مشاهده گردید ($P < 0/001$) ($r = 0/794$ ، $r^2 = 0/870$). نتیجه‌گیری: HIIT هم‌زمان با مصرف رژیم غذایی پرچرب از افزایش *COL6α3* در بافت چربی زیرجلدی جلوگیری نموده و می‌تواند اثر پیشگیرانه بر مقاومت انسولینی داشته باشد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، کلاژن ۶ زنجیره ۳ آلفا، مقاومت به انسولین، رژیم غذایی پرچرب، موش صحرایی

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۱۱ - دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۲/۴/۱۰ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۴/۱۰

مقدمه

احتمال وجود دارد که تغییرات ECM با افزایش رسوب کلاژن مخصوصاً کلاژن نوع ۶، با ایجاد یک مانع فیزیکی از بزرگ شدن بیش از اندازه سلول‌های چربی جلوگیری نموده و باعث تجمع نایجابی چربی در بافت‌های دیگر، اختلال در هومئوستاز متابولیک و مقاومت به انسولین شود.^۱ این امر می‌تواند زمینه‌ساز بیماری‌های متابولیک مانند دیابت نوع ۲ باشد.^۲

عدم تعادل در دریافت و مصرف انرژی منجر به تجمع بیش از حد بافت چربی در بدن می‌شود.^۱ مطالعات نشان داده‌اند شبکه مولکولی خارج سلولی (ECM) بافت چربی در شرایط تغذیه با غذای پرچرب تنظیم مجدد می‌گردد.^۲ این

هم‌چنین بررسی عوامل مطالعه در شرایط اضافه وزن و قبل از ورود به درجات بالای چاقی برای درک بازه زمانی آغاز این تغییرات حائز اهمیت است. با توجه به نقش ورزش و رژیم غذایی به عنوان دو مداخله موثر و مقرون به صرفه در کاهش بافت چربی زیرجلدی، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر ۱۰ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا هم‌زمان با مصرف رژیم غذایی پرچرب بر بیان ژن و میزان پروتئین COL6a3 بافت چربی زیر جلدی و مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ سالم نژاد ویستار (۶ هفته‌ای) از انستیتو پاستور (کرج، ایران) خریداری و به صورت ۳ تایی و در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 4 درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. پژوهش حاضر با عمل به کلیه ملاحظات اخلاقی در تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها و دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته و شناسه اخلاق در پژوهش IR.MODARES.AEC.1401.006 و برای آن تصویب شده است. حیوانات پس از دو هفته آشنایی با محیط جدید با میانگین وزنی 190 ± 15 گرم (برای ۲۴ سر موش صحرایی) به صورت تصادفی، به ۴ گروه تغذیه معمولی (ND)^{vii}، تغذیه پرچرب (HFD)، تغذیه معمولی و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT+ND) و تغذیه پرچرب و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT+HFD) تقسیم شدند. گروه تغذیه پرچرب به مدت ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب و گروه تغذیه معمولی، غذای استاندارد (هر دو مطابق با دستورالعمل پلت تهیه غذای حیوانات انستیتو سرم‌سازی رازی) مصرف نمودند. مداخلات رژیم غذایی و ورزش هم‌زمان شروع گردید و به مدت ۱۰ هفته ادامه یافت. کالری دریافتی از رژیم غذایی پرچرب شامل ۶۰ درصد کل انرژی (کیلوکالری) از چربی مشتق شده از روغن حیوانی (چربی گوسفندی)، ۲۰ درصد از کربوهیدرات و ۲۰ درصد از پروتئین بود.^{۱۱} هر ۱۰۰ گرم از ماده غذایی این گروه را $34/9$ گرم چربی، $26/3$ گرم کربوهیدرات و $26/2$ گرم پروتئین تشکیل می‌داد. در طول پژوهش، موش‌های صحرایی گروه ND و HIIT+ND در

کلاژن ۶ از سه زنجیره اصلی پلی‌پپتیدی شامل $\alpha 1$ ، $\alpha 2$ و $\alpha 3$ تشکیل شده است که توسط ژن‌های مجزا (به ترتیب COL6A1، COL6A2 و COL6A3) کدگذاری می‌شوند.^۹ براساس مطالعات انجام یافته کاهش بیان ژن COL6A3 باعث افزایش فسفوریلاسیون^۱ Akt ناشی از عملکرد انسولین و بیان ژن‌های انتقال‌دهنده گلوکز می‌گردد.^۱ حذف ژن کلاژن ۶ در موش‌های چاق ژنتیکی که از نظر وضعیت متابولیک در معرض خطر بودند باعث افزایش حساسیت به انسولین علی‌رغم وجود سلول‌های چربی هیپرتروفیک^۷ و بهبود هیپرپلازی پانکراس، تحمل گلوکز و حساسیت به انسولین به میزان متوسط و کاهش فیبروز بافت چربی شد.^۹

از طرفی به کار گرفتن تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)ⁱⁱ علاوه بر تاثیر مثبت بر متابولیسم چربی و ذخایر آن،^۸ منجر به بهبود حساسیت انسولین نیز می‌گردد.^۹ در اندک مطالعات انجام یافته در این زمینه ماهارجانⁱⁱⁱ و همکاران (۲۰۲۱) تاثیر مفید تمرین HIIT را در جلوگیری از زوال متابولیک و رسوب کلاژن ۶ در ذخایر بافت چربی نشان دادند که منجر به بهبود حساسیت به انسولین کل بدن (۲۲٪) در موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب (HFD)^{iv} گردید.^{۱۰} یافته‌های نایگرو^v و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر تمرین ورزشی را بر سازگاری‌های ایجاد شده در ژنوم بافت چربی سفید ناحیه کشاله ران تایید کرد.^{۱۱} در مطالعه مارتینز^{vi} و همکاران (۲۰۱۹) HIIT باعث افزایش ۳ برابری mRNA کلاژن ۶ (نوع یک آلفا) و افزایش ۲ برابری میزان پروتئین آن در مقایسه با HFD بدون تمرین در بافت‌های حساس به انسولین در موش‌ها گردید.^{۱۲} اما در هیچ‌یک از تحقیقات مذکور COL6a3 مورد بررسی قرار نگرفته است. هم‌چنین مطالعه‌ای که نقش فعالیت ورزشی را در ارتباط با فاکتور مذکور بررسی نموده باشند یافت نگردید.

اخیرا سایتوکاین مشتق شده از COL6a3 (کلاژن ۶ زنجیره ۳ آلفا) به نام اندوتروفین مورد توجه قرار گرفته که نقش کلیدی در فیبروز و التهاب و دیابت نوع ۲ دارد.^{۱۳-۱۵} بنابراین مطالعه بر روی COL6a3 بافت چربی به عنوان منشاء اصلی اندوتروفین ضروری به نظر می‌رسد.

i-Protein Kinase B

ii-High-intensity Interval Training

iii-Maharjan

iv-High Fat Diet

v-Nigro

vi-Martinez

vii-Normal Diet

و تطابق با تردمیل (۶ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) روی تردمیل (تجهیز گستر امید ایرانیان) قرار گرفتند. پس از آن، آزمون MRC انجام شد. این تست با سرعت ۶ متر در دقیقه شروع شد و سرعت هر ۳ دقیقه، تا زمان رسیدن به خستگی، به میزان ۳ متر در دقیقه افزایش یافت. این سرعت به عنوان ناتوانی حیوان در رسیدن به انتهای خط تردمیل؛ پس از تحریک با ۵ محرک مکانیکی (برس نرم) در عرض ۱ دقیقه تعریف شد. صد درصد MRC، به عنوان حداکثر سرعت بدست آمده در طول آزمون تعریف شد و بر اساس مسافت طی شده عملکرد هوازی حیوان مورد ارزیابی قرار گرفت. تمرین ورزشی هر جلسه صبح، سه بار در هفته و به مدت ۱۰ هفته اجرا گردید. آزمون MRC در پایان برنامه‌های آموزشی دوباره اعمال شد.^{۱۹}

نمونه‌برداری

چهل و هشت ساعت بعد از آخرین جلسه ی تمرین و پس از اندازه‌گیری وزن، حیوانات با استفاده از ترکیبی از زایلانین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند.^{۲۰} پس از اطمینان از بیهوشی قفسه سینه حیوانات شکافته شده و خون به‌طور مستقیم از قلب گرفته شد. سپس با رعایت اصول اخلاقی آسان‌کشی شده^{vi} (با قراردادن حیوانات در محفظه گاز CO₂ به مدت ۲ تا ۳ دقیقه و اطمینان از ایست تنفسی)،^{۲۱} حیوانات از محفظه خارج گردیده و بلافاصله بافت چربی زیرجلدی از ناحیه کشاله ران برداشته شد.

نمونه‌های خونی گرفته شده از حیوانات با سرعت ۲۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شده سرم جدا شده برای انجام مراحل بعدی تحقیق در فریزر -۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های بافت چربی زیرجلدی نیز از ناحیه کشاله ران جمع‌آوری شده و با محلول کلرور سدیم ۹ درصد شستشو و سپس به ظروف حاوی محلول نمکی بافر فسفات^{vii} (PBS) انتقال داده شد. سپس بلافاصله با نسبت حجمی ۱:۱۰ در PBS همگن گردیده و به مخزن نیتروژن مایع انتقال یافت. نمونه‌های بافتی برای انجام مراحل بعدی در فریزر -۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

مدت زمان اجرای تمرین ورزشی، رژیم غذایی استاندارد را که شامل ۱۰ درصد انرژی دریافتی از چربی، ۷۰ درصد از کربوهیدرات و ۲۰ درصد از پروتئین بود را مصرف نمودند.^{۱۱} هر ۱۰۰ گرم از ماده غذایی این گروه را ۴/۳ گرم چربی، ۶۷/۳ گرم کربوهیدرات و ۱۹/۲ گرم پروتئین تشکیل می‌داد. کازئینⁱ، آل سیستینⁱⁱ، نشاسته ذرت، مالتودکسترین، ساکارز، سلولز، روغن سویا و کربنات کلسیم و انواع مواد معدنی و ویتامین‌ها از دیگر ترکیبات به کار رفته در تهیه غذای مطابق با دستور العمل تهیه غذای حیوانات انستیتو رازی بود.

برآورد ترکیب بدنی

وزن حیوانات به صورت هفتگی و قد آن‌ها در ابتدا، هفته هشتم و انتهای تحقیق اندازه‌گیری شد. برای کنترل چاقی حیوانات از شاخص لیⁱⁱⁱ استفاده گردید.^{۱۷} این شاخص با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

شاخص لی = ریشه مکعب وزن بدن (گرم) / قد (سانتی‌متر)

مقادیر شاخص لی بالاتر از ۳۱۰ به عنوان معیاری برای چاقی موش‌های صحرایی در نظر گرفته می‌شود.^{۱۷،۱۸} در تحقیق حاضر این شاخص در ابتدای کار و قبل از اعمال مداخلات تغذیه‌ای و تمرین ورزشی به منظور کنترل همسانی تقریبی وزنی - قدی گروه‌های مطالعه، همچنین در هفته هشتم و پس از اتمام ۱۰ هفته در هر چهار گروه به منظور کنترل عدم ورود به مراحل چاقی با درجات بالا، اندازه‌گیری و محاسبه شد. خاطر نشان می‌سازد با توجه به هدف مطالعه که ایجاد اضافه وزن در حیوانات بود، حیواناتی که پس از ۱۰ هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب و تمرین ورزشی در محدوده شاخص مذکور و یا زیر آن قرار داشتند در تحقیق شرکت کردند.

برنامه تمرین ورزشی

برنامه تمرین HIIT مطابق با دستورالعمل مارتینز^{iv} و همکاران (۲۰۱۹) شامل هشت دوره فعالیت شدید در ۹۰٪ حداکثر ظرفیت دوییدن^v (MRC) به مدت ۲/۵ دقیقه، با دوره‌های استراحت فعال در ۵۰٪ MRC به مدت ۲/۵ دقیقه، بود. بدین‌منظور همه حیوانات به مدت یک هفته جهت آشنایی

i-Casein
ii-L-cysteine
iii-Lee Index
iv-Martinez
v-Maximal Running Capacity

vi-Euthanasia
vii-Phosphate Buffered Saline

ix (مای بایوسورس Alpha 3 chain (COL6A3) ELISA Kit ساخت کشور آمریکا) و Rat Insulin ELISA Kit (مای بایوسورس، ساخت کشور آمریکا) هر دو با حساسیت ۰/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی کمتر از ۱۰ درصد مطابق با روش درج شده در بروشور کیت استفاده شد. هم‌چنین گلوکز سرمی با استفاده از کیت گلوکز (شرکت پارس آزمون، ساخت ایران) به روش گلوکز اکسیداز با حساسیت ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی ۱/۸ درصد اندازه‌گیری شد. شاخص مقاومت به انسولین^x (HOMA-IR) از حاصل ضرب مقدار گلوکز (میلی‌مول بر لیتر) در انسولین ناشتا (میلی‌واحد بین‌المللی بر لیتر) تقسیم بر ۲۲/۵ محاسبه شد.^{۲۳}

روش آماری

از آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها و رسم نمودار (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. پس از بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها و بررسی تجانس واریانس‌ها جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت میانگین متغیرهای اندازه‌گیری شده بین گروه‌های تحقیق، از آزمون آنوا دوطرفه^{xi} و در ادامه از آزمون تعقیبی توکی^{xii} استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین متغیرها از ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید. هم‌چنین به منظور مقایسه وزن موش‌های صحرایی در انتهای ۱۰ هفته رژیم غذایی و انتهای برنامه‌تیرینی از آزمون آنکوا^{xiii} و تست تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نسخه ۲۴ نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار پریم^{xiv} استفاده گردید.

یافته‌ها

اثر مصرف غذای پرچرب و تمرین HIIT بر وزن حیوانات: مقدار افزایش وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف؛ در طی ۱۰ هفته مطالعه، در نمودار ۱ و میانگین و انحراف استاندارد آن‌ها در جدول ۲ آمده است.

برای ارزیابی تغییرات بیان ژن‌ها؛ از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرازⁱ (PCR) استفاده گردید. بدین‌منظور پس از استخراج کل RNA با استفاده از ترايزول (شرکت کبازیسیت، ساخت ایران)، تعیین خلوص RNA (در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر) و غلظت آن (در طول موج ۲۶۰ نانومتر) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپⁱⁱ (ND2000، ساخت کشور آمریکا) از طرق فرایند جذب نوری اندازه‌گیری شد. غلظت RNA استخراج شده به دلیل رقیق نمودن رسوب RNA قبل از قرارگیری در دستگاه با آب DEPC (ترمو فیشر، ساخت کشور آمریکا)، پس از اعمال ضریب رقت، برحسب نانوگرم بر میکرولیتر محاسبه شد. به منظور جلوگیری از تکثیر احتمالی مربوط به DNA ژنومی که همراه با RNA استخراج می‌شود، نمونه‌های استخراج شده با Dnase I (ترمو فیشر، ساخت کشور آمریکا)ⁱⁱⁱ تیمار شدند. ساخت cDNA در دو مرحله با استفاده از (کیت پارس توس، ساخت ایران) انجام شد. توالی پرایمرها از پایگاه داده‌ای مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی^{iv} (NCBI) تهیه گردید (جدول ۱). سپس طراحی پرایمرهای ژن COL6A3 با استفاده از برنامه جین رانر^v انجام شد. واکنش زنجیره پلیمراز با استفاده از دستگاه ABI^{vi} (ساخت کشور آمریکا) و با توالی پرایمر ارائه شده در جدول ۱ انجام گرفت. هر واکنش RT-PCR^{vii} شامل ۲ میکرولیتر cDNA رقیق شده، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ میکرومولار، ۵ میکرولیتر مسترمیکس^{viii} و ۲ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز بود. اختصاصی بودن تکثیر PCR با ارزیابی منحنی تکثیر و پیک ذوب ارزیابی گردید. از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. جهت بررسی کمی-نسبی ژن COL6A3 از فرمول محاسباتی $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل‌ها به طور جداگانه برای گروه‌های نمونه انجام شد.

تجزیه و تحلیل بافتی و سرمی

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین بافتی COL6a3 در بافت چربی زیر جلدی و میزان انسولین سرمی از روش الایزای ساندریجی با استفاده از کیت‌های Rat Collagen (VI)

i-Polymerase Chain Reaction

ii-Nanodrop

iii-Thermo Fisher

iv-National Center for Biotechnology Information

v-Generunner

vi-Applied Biosystems

vii-Real Time PCR

viii-Master Mix

ix-MyBioSource

x-Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance

xi-Two-way ANOVA

xii-Tukey Post Hoc Test

xiii-ANCOVA

xiv- Prism

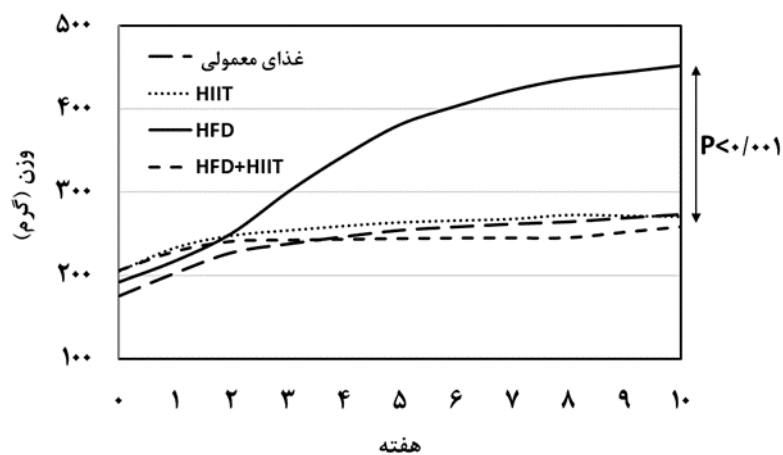
جدول ۱ - اطلاعات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

نام ژن	شماره (Accession)	توالی رفت (Forward)	توالی معکوس (Reverse)	دمای ذوب (Tm)	طول قطعه محصول
Col6a3	039084729.1-XM	ATTCTCTTGGAGTGTCTGGG	CTCAGTATGTGGGTTCCGTTG	۸۰/۶۹	۱۳۷
GAPDH	NM-017008.4	AGGTCGGTGTGAACGGATTG	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	۸۳/۵۲	۱۲۳

جدول ۲ - جدول وزن و شاخص لی گروه‌های مطالعه

متغیر	غذای معمولی	غذای پرچرب	غذای معمولی + HIIT	غذای پرچرب + HIIT
وزن هفته اول (گرم)	۱۷۶/۰ ± ۴/۳	۱۹۲/۰ ± ۲	۲۰۵/۳ ± ۱۰/۲	۲۰۶/۰ ± ۱۰/۵
وزن هفته هشتم (گرم)	۲۶۴/۲ ± ۱۳/۶	۴۳۵/۸ ± ۴۹/۳	۲۷۲/۳ ± ۱۰/۱	۲۴۵/۳ ± ۱۱/۹
وزن هفته دهم (گرم)	۲۷۳/۰ ± ۱۱/۰	۴۵۱/۵ ± ۴۹/۳	۲۷۰/۳ ± ۹/۴	۲۵۸/۵ ± ۱۰/۱
قد هفته اول (سانتی‌متر)	۱۹/۸ ± ۰/۳	۱۹/۸ ± ۰/۵	۱۹/۸ ± ۰/۳	۲۰/۰ ± ۰/۵
قد هفته هشتم (سانتی‌متر)	۲۱/۳ ± ۰/۳	۲۴/۴ ± ۱/۰	۲۱/۳ ± ۰/۳	۲۱/۱ ± ۰/۳
قد هفته دهم (سانتی‌متر)	۲۱/۴ ± ۰/۲	۲۴/۷ ± ۰/۱	۲۱/۶ ± ۰/۴	۲۱/۱ ± ۰/۴
شاخص لی (هفته اول)	۲۸۳/۷ ± ۲/۷	۲۸۱/۵ ± ۰/۶	۲۸۱/۸ ± ۰/۸	۲۸۲/۲ ± ۰/۱
شاخص لی (هفته هشتم)	۳۰۱/۸ ± ۵/۴	۳۱۰/۰ ± ۱/۸	۳۰۲/۷ ± ۱/۴	۲۹۷/۰ ± ۲/۵
شاخص لی (هفته دهم)	۳۰۲/۸ ± ۳/۱	۳۱۰/۵ ± ۱/۶	۲۹۹/۷ ± ۳/۳	۳۱۰/۵ ± ۱/۶

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۱- افزایش وزن موش‌های صحرایی در طی ۱۰ هفته (سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$)

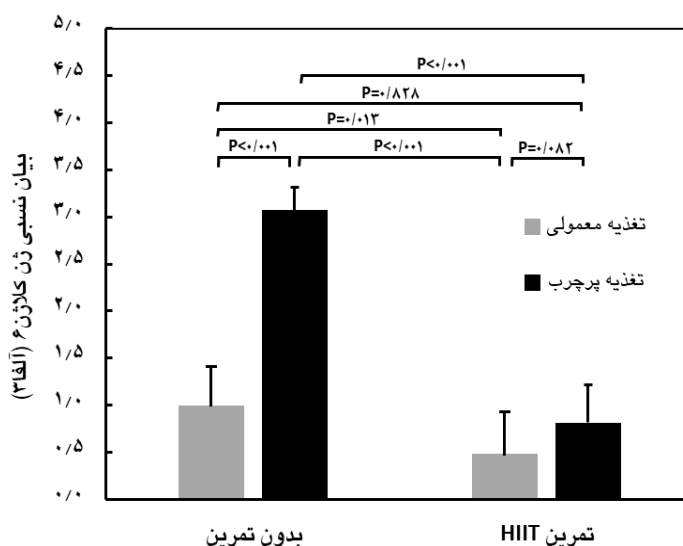
وزن ($F=121/48, P<0/001$) و رژیم پرچرب باعث افزایش معنی‌دار وزن ($F=58/54, P<0/001$) گردید. اثر همراهی تمرین HIIT و غذای پرچرب نیز معنی‌دار بود ($P<0/001$), ($F=87/55$). تمرین باعث کاهش وزن به میزان ۱۵ درصد در گروه غذای معمولی و ۴۶ درصد در گروه غذای چرب گردید.

نتایج نشان داد که وزن حیوانات به طور پیوسته در همه گروه‌ها افزایش می‌یابد، به طوری که مقدار افزایش وزن در گروه رژیم غذایی معمولی ۵۵ درصد، در گروه HIIT+ND ۳۲ درصد، در گروه HFD ۱۳۵ درصد و در گروه HIIT+HFD ۲۵ درصد بود. تمرین باعث کاهش معنی‌دار

هم‌چنین بیشترین مقدار افزایش شاخص لی در موش‌های صحرایی در گروه رژیم غذایی پرچرب مشاهده گردید. متوسط مقادیر شاخص لی موش‌های صحرایی در گروه HFD از $281/5 \pm 0/6$ به $310/5 \pm 1/6$ رسید و شاهد افزایش ۹/۵ درصد در پایان هفته دهم مطالعه بودیم. بدین ترتیب بر اساس این شاخص؛ حیوانات در مرحله انتهایی اضافه وزن بوده و به چاقی با درجات بالا مبتلا نشده بودند (جدول ۲).

تاثیر همراهی غذای پرچرب و تمرین HIIT بر بیان ژن *Col6A3* در بافت چربی زیر جلدی: بر اساس آزمون تحلیل واریانس دوطرفه غذای پرچرب باعث افزایش معنی‌دار ($F=77/09, P<0/001$)، تمرین HIIT باعث کاهش معنی‌دار

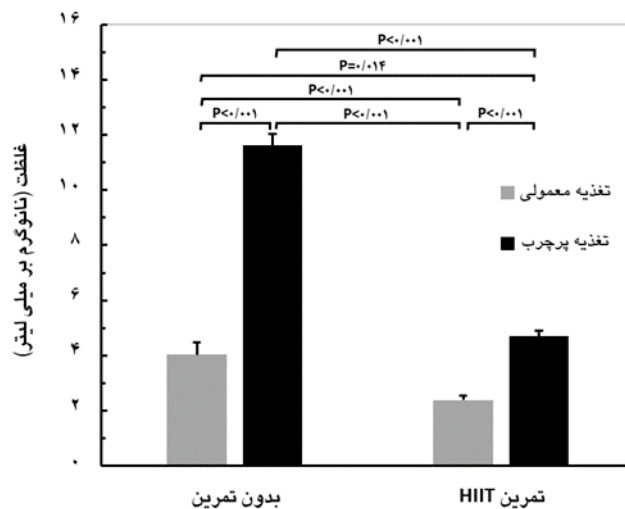
نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه ND با HFD، گروه HIIT+ND با HFD و گروه HFD در مقایسه با HIIT+ND بود ($P<0/001$). هم‌چنین بین گروه ND با HIIT+ND نیز تفاوت معنی‌دار ($P=0/013$) مشاهده شد ولی در مقایسه بین گروه ND با HIIT+HFD ($P=0/828$) و گروه HIIT+ND با HIIT+HFD ($P=0/082$) تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید (نمودار ۲).



نمودار ۲- تغییرات نسبی بیان ژن *Col6A3* در بافت چربی زیر جلدی گروه‌های مطالعه (سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$)

تاثیر همراهی غذای پرچرب و تمرین HIIT بر مقدار پروتئین بافتی *COL6a3* در بافت چربی زیر جلدی: بر اساس آزمون تحلیل واریانس دوطرفه افزایش معنی‌دار در مقدار پروتئین *COL6a3* در اثر تغذیه با غذای پرچرب مشاهده گردید ($F=1327, P<0/001$)، تمرین HIIT باعث کاهش معنی‌دار مقدار پروتئین *COL6a3* گردید ($P<0/001$)،

و همراهی غذای پرچرب و تمرین HIIT بر کاهش مقدار پروتئین *COL6a3* نیز معنی‌دار بود ($F=999, P<0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد در بین تمام گروه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<0/001$). با این حال کمترین اختلاف بین گروه ND و HIIT+HFD ملاحظه شد ($P=0/014$) (نمودار ۳).



نمودار ۳- تغییرات میزان پروتئین بافتی COL6a3 در بافت چربی زیر جلدی گروه‌های مطالعه (سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$)

معنی‌دار ($F=20.7/1, P<0.001$) و همراهی آن‌ها به طور معنی‌داری میزان انسولین سرمی را کاهش داد ($P<0.001$ ، $F=21/47$). بر اساس آزمون تعقیبی توکی فقط در بین گروه تغذیه معمولی (ND) و گروه (HIIT+ND) تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ($P=0/846$).

تغییرات شاخص مقاومت به انسولین- رژیم پرچرب
باعث افزایش ($F=27/55, P<0.001$) و تمرین باعث کاهش شاخص HOMA-IR گردید ($F=276/20, P<0.001$). همچنین همراهی رژیم پرچرب و تمرین باعث کاهش معنی‌دار شاخص HOMA-IR گردید ($F=18/28, P<0.001$). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی فقط در بین گروه تغذیه معمولی (ND) و گروه (HIIT+ND) تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ($P=0/090$). تغییرات میزان گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین در جدول ۳ نشان داده شده است.

تأثیر همراهی مصرف غذای پرچرب و تمرین HIIT بر سطوح گلوکز و انسولین سرمی و شاخص مقاومت به انسولین

تغییرات گلوکز - بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس
دوطرفه افزایش معنی‌دار در میزان گلوکز سرمی در اثر مصرف غذای پرچرب مشاهده گردید ($F=166/1, P<0.001$). اجرای تمرین باعث کاهش معنی‌دار آن شد ($P=0/024$ ، $F=5/92$). ولی همراهی رژیم پرچرب و تمرین ورزشی تغییر معنی‌داری در مقدار آن ایجاد نکرد ($F=3/06, P<0/956$). در ادامه بر اساس آزمون تعقیبی توکی فقط در بین گروه تغذیه معمولی (ND) و گروه (HIIT+ND) تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ($P=0/961$).

تغییرات انسولین - نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه نشان داد که اعمال رژیم پرچرب باعث افزایش معنی‌دار انجام تمرین ورزشی باعث کاهش ($F=33/50, P<0.001$)

جدول ۳- تغییرات میزان گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین در گروه‌های مطالعه

مقدار P (اثر تعاملی تمرین و رژیم غذایی)	مقدار P (اثر رژیم غذایی)	مقدار P (اثر تمرین)	غذای پرچرب+HIIT	غذای معمولی+HIIT	غذای پرچرب	غذای معمولی	متغیرها
0/956	0/024	<0/001	110/5±2/1	85/0±6/0	119/8±6/4	87/2±6/2	گلوکز سرمی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
<0/001	<0/001	<0/001	13/0±0/4	11/0±0/6	15/2±0/3	11/3±0/6	انسولین (میلی واحد بر لیتر)
<0/001	<0/001	<0/001	3/6±0/1	2/3±0/2	4/5±0/3	2/4±0/3	HOMA-IR

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ می‌باشد.

بررسی همبستگی بین متغیرها- نتایج آزمون آماری ضریب همبستگی پیرسون نشان داد بین بیان ژن COL6A3 و شاخص HOMA-IR همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.001$, $r = 0.794$). بین میزان پروتئین بافتی COL6A3 و شاخص HOMA-IR نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده گردید ($P < 0.001$, $r = 0.870$). همچنین بین بیان ژن COL6A3 و میزان پروتئین بافتی آن نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.001$, $r = 0.926$).

بحث

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، اعمال رژیم غذایی پرچرب به مدت ۱۰ هفته باعث افزایش بیان نسبی ژن COL6A3 (۳۳۷ درصد) و مقدار پروتئین بافتی آن (۱۸۸ درصد) گردید. تمرین HIIT توانست ۷۶ درصد کاهش در بیان نسبی ژن COL6A3 و ۴۱ درصد کاهش در میزان پروتئین بافتی آن ایجاد کند. تعامل تمرین HIIT هم‌زمان با رژیم غذایی پرچرب توانست ۶۶ درصد کاهش در بیان نسبی ژن COL6A3 و ۱۶ درصد کاهش در میزان پروتئین بافتی آن ایجاد نماید. از دیگر یافته مهم این تحقیق مشاهده همبستگی مثبت و معنی‌دار بین بیان نسبی ژن COL6A3 و میزان پروتئین بافتی آن و مقاومت به انسولین در بافت چربی زیرجلدی، پس از ۱۰ هفته مصرف غذای پرچرب و تمرین HIIT بود. همچنین بر اساس نتایج این تحقیق پس از ۱۰ هفته ورزش، حیوانات گروه HFD+HIIT کاهش ۲۱ درصدی شاخص HOMA-IR در مقایسه با گروه HFD داشتند که نشان‌دهنده تاثیر تمرین HIIT در درمان اختلال فراگیر متابولیسم گلوکز ناشی از HFD است.

یکی از مهم‌ترین یافته‌های تحقیق حاضر این بود که علی‌رغم افزایش زیاد میزان پروتئین COL6A3 پس از ۱۰ هفته مصرف غذای پرچرب، انجام تمرین HIIT همراه با مصرف غذای پرچرب، باعث کاهش میزان ۶۶ درصدی COL6A3 در بافت چربی و کاهش ۲۱ درصدی در مقاومت به انسولین گردید که نقش تمرین HIIT و تاثیر آن را در این تحقیق برجسته می‌سازد. قبلاً چندین مطالعه همسو و ناهمسو با تحقیق حاضر اثرات ورزش را بر برخی عوامل فیبروتیک و مقاومت به انسولین در بافت چربی نشان داده‌اند.^{۲۰-۲۲} لی^۱ و همکاران^{۲۱} (۲۰۲۱) و جاویدⁱⁱ و همکاران^{۲۷}

(۲۰۲۱) همسو با تحقیق حاضر، کاهش در بیان ژن‌های مرتبط با فیروز و میزان کلاژن در پی تمرین هوازی و پیشگیری از اختلالات متابولیسم گلوکز ناشی از مصرف غذای چرب را گزارش کردند. در ارتباط با سازوکار احتمالی این رویداد در بهبود مقاومت به انسولین چندین فرضیه مطرح است. اول این که مصرف غذای پرچرب می‌تواند موجب کاهش فعالیت پروتئین کیناز فعال شده با AMPⁱⁱⁱ، یا AMPK^{iv} شود، اما HIIT با افزایش فعالیت AMPK^v و احتمالاً با کاهش سنتز تری‌گلیسرید و یا افزایش ظرفیت اکسیداسیون چربی و افزایش لیپولیز بافت چربی می‌تواند موجب کاهش سلول‌های چربی گردد.^{۲۸} همچنین تمرین HIIT باعث افزایش بیشتر نسبت AMP به ADP^v و ATP^{vi} می‌گردد که احتمالاً با افزایش بیشتر AMPK به عنوان یک حسگر متابولیک داخل سلولی و عامل بالادستی همراه است. فعالیت AMPK هنگام انجام تمرین شدید و هنگام کمبود ذخیره انرژی افزایش می‌یابد. در موش‌های مبتلا به چاقی ژنتیکی و چاقی ناشی از مصرف غذای پرچرب نیز نشان داده شد که استفاده از داروی متفورمین در سازوکاری مشابه با تمرین HIIT، AMPK را تحریک می‌کند و فیروز پری آدیپوسیت را کاهش می‌دهد و مقاومت موضعی و سیستمیک به انسولین را بهبود می‌بخشد.^{۲۹} اگرچه در مطالعه حاضر، میزان فعالیت AMPK در بافت چربی اندازه‌گیری نشد؛ اما گمان می‌رود تمرین ورزشی با شدت بالا با افزایش فعالیت AMPK موجب کاهش در عوامل فیبروتیک در بافت چربی شده باشد. در اینجا نقش ورزش به عنوان یک جایگزین برای دارو مطرح می‌گردد و بر این اساس تمرین HIIT را شاید بتوان در مواردی به عنوان جایگزین و یا مکملی برای داروی متفورمین در کنترل مقاومت به انسولین معرفی کرد.

دیگر این که در تحقیق حاضر، کاهش سطح گلوکز خون، انسولین سرم و مقاومت انسولینی در پاسخ به فعالیت ورزشی پرشدت تناوبی ممکن است ناشی از پاسخ متابولیسمی افزایش یافته به واسطه شدت تمرین باشد. انجام تمرین با شدت بالا منجر به افزایش سطح لاکتات و اپی‌نفرین خون و همچنین تخلیه ذخایر انرژی از جمله فسفو کراتین و ATP و افزایش رهایش کلسیم از شبکه سارکو پلاسمی

iii-Adenosine Monophosphate

iv-AMP- activated Protein Kinase

v-Denosine Diphosphate

vi-Adenosine Triphosphate

i-Li

ii-Javid

گرديده که این پیام‌ها با تحریک و افزایش فعالیت PGC1 α ⁱ و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز در بافت چربی در نهایت باعث افزایش چگالی مویرگ و بهبود هموستاز گلوکز خون می‌شوند. قبلاً نشان داده شده است که افزایش چگالی مویرگی با کاهش عوامل فیبروتیک از افزایش حجم سلول‌های چربی جلوگیری کرده و می‌تواند یک راه درمانی برای مبارزه با چاقی نیز در نظر گرفته شود.^{۲۰} لذا این احتمال وجود دارد که تمرین تناوبی در تحقیق حاضر با افزایش چگالی مویرگی و به واسطه کاهش کلاژن ۶ منجر به استفاده بهتر سلول‌های چربی از گلوکز و کاهش مقاومت به انسولین شده باشد. اندازه‌گیری لاکتات و چگالی مویرگی در محدوده تحقیق حاضر نبوده و مطالعات بیشتری را در این زمینه مورد نیاز است.

هم‌چنین این احتمال وجود دارد که فرآیند رسوب کلاژن در پی یک دوره مصرف غذای پرچرب با ایجاد اختلال در هایپرتروفی بافت چربی سفید، عدم انعطاف‌پذیری و عدم توانایی در نخیره چربی در بافت مذکور و تجمع نابجای آن در بافت‌های دیگر از جمله کبد و عضله اسکلتی و پانکراس، به اختلال عملکرد انسولین کمک کند. تمرین HIIT با تأثیر بر فعل و انفعالات بین ECM و غشای سلول‌های چربی نیز می‌تواند مسیر پیام‌رسانی کیناز تنظیم شده با پیام خارج سلولی و در نتیجه پیروپتوزⁱⁱ را تحریک کند و با تغییر آرایش غشایی سلولی بافت‌هایی که در آن‌ها گیرنده‌های انسولین موضعی وجود دارند مانند بافت چربی، به طور مستقیم بر حساسیت انسولین تأثیر بگذارد.^{۲۱}

در مطالعه ماهاراجان و همکاران در سال ۲۰۲۱، تمرین HIIT از افزایش وزن بدن به میزان ۲۰ درصد جلوگیری کرد و حساسیت به انسولین را ۲۲٪ بهبود بخشید ولی تغییر در میزان بیان پروتئین کلاژن ۶ دیده نشد. این امر می‌تواند نشان‌دهنده کاهش تخریب کلاژن علی‌رغم سنتز کلاژن بالاتر باشد که نقش متالو پروتینازهاⁱⁱⁱ (MMPs) را در این زمینه برجسته می‌نماید. بنابراین مقدار کلاژن ممکن است بسته به عملکرد متالو پروتینازها و مهارکننده‌های آن تغییر یابد.^{۲۲} در این راستا پینکو^{iv} و همکاران نشان دادند که HFD باعث تجمع کلاژن شده و بیان ژن پروتئین‌های ECM از جمله

در مطالعه حاضر، مشاهده کردیم که ۱۰ هفته ورزش به طور قابل توجهی وزن بدن را در گروه HFD کاهش داد. این سوال مطرح است که آیا کاهش COL6a3 در بافت چربی زیر جلدی نتیجه‌ی کاهش وزن ایجاد شده به دلیل مصرف انرژی بیشتر در حین ورزش است یا ممکن است مربوط به عوامل دیگر باشد. نتایج یک مطالعه که به تازگی انجام شده نشان داد که ورزش با کاهش تمایل به مصرف غذای پرچرب باعث کاهش افزایش وزن می‌شود.^{۲۴} کاهش وزن ممکن است به دلیل اثر ضد فیبروز ناشی از ورزش نیز باشد. همان‌طور که قبلاً ذکر شد، ۱۰ هفته ورزش سطوح عوامل مرتبط با فیبروز را به سطوحی حتی کمتر از آنچه در مداخله قبل از HFD به همراه ورزش کاهش داد، در حالی‌که ورزش به تنهایی وزن بدن را به سطوحی تقریباً برابر با مداخله قبل از HFD به همراه ورزش کاهش داد. به عبارت دیگر، به نظر می‌رسد که اثر ضد فیبروز ناشی از ورزش قوی‌تر از اثر کاهش وزن آن است و نشان می‌دهد که مهار فیبروز ناشی از ورزش کاملاً به اثر کاهش وزن بستگی ندارد.^{۲۶} در گروه تمرین HIIT و غذای پرچرب ما شاهد کاهش وزن ۴۷ درصدی و تمرین HIIT با مصرف غذای معمولی ما شاهد ۱۵ درصدی وزن در انتهای ۱۰ هفته بودیم. این امر نشان‌دهنده اثر بیشتر تمرین در گروهی که در معرض اضافه وزن قرار دارند می‌باشد و اثر تمرین HIIT را در این گروه برجسته می‌نماید. دلایل احتمالی دیگری نیز ممکن است در کاهش بافت چربی و کاهش عوامل رسوب در شبکه مولکولی خارج سلولی مانند کلاژن‌ها و کاهش مقاومت انسولینی در پی تمرین HIIT نقش

در مطالعه ماهااراجان و همکاران در سال ۲۰۲۱، تمرین HIIT از افزایش وزن بدن به میزان ۲۰ درصد جلوگیری کرد و حساسیت به انسولین را ۲۲٪ بهبود بخشید ولی تغییر در میزان بیان پروتئین کلاژن ۶ دیده نشد. این امر می‌تواند نشان‌دهنده کاهش تخریب کلاژن علی‌رغم سنتز کلاژن بالاتر باشد که نقش متالو پروتینازهاⁱⁱⁱ (MMPs) را در این زمینه برجسته می‌نماید. بنابراین مقدار کلاژن ممکن است بسته به عملکرد متالو پروتینازها و مهارکننده‌های آن تغییر یابد.^{۲۲} در این راستا پینکو^{iv} و همکاران نشان دادند که HFD باعث تجمع کلاژن شده و بیان ژن پروتئین‌های ECM از جمله

در مطالعه ماهااراجان و همکاران در سال ۲۰۲۱، تمرین HIIT از افزایش وزن بدن به میزان ۲۰ درصد جلوگیری کرد و حساسیت به انسولین را ۲۲٪ بهبود بخشید ولی تغییر در میزان بیان پروتئین کلاژن ۶ دیده نشد. این امر می‌تواند نشان‌دهنده کاهش تخریب کلاژن علی‌رغم سنتز کلاژن بالاتر باشد که نقش متالو پروتینازهاⁱⁱⁱ (MMPs) را در این زمینه برجسته می‌نماید. بنابراین مقدار کلاژن ممکن است بسته به عملکرد متالو پروتینازها و مهارکننده‌های آن تغییر یابد.^{۲۲} در این راستا پینکو^{iv} و همکاران نشان دادند که HFD باعث تجمع کلاژن شده و بیان ژن پروتئین‌های ECM از جمله

i-Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha

ii-Pyoptosis

iii-Matrix Metalloproteinases

iv-Pincu

v-Tissue Inhibitors of Metalloproteinases

vi-Collagen Type VI Alpha 1 Chain

برای سلامت متابولیک افراد توصیه نمی‌گردد، با این حال با توجه به سبک زندگی امروزی در صورت مصرف غذای پرچرب مانند غذاهای آماده، پرداختن به تمرین تناوبی با شدت بالا در روزهایی از هفته می‌تواند یک راهکار موثر از طریق تاثیر بر شبکه مولکولی خارج سلولی بافت چربی به واسطه کاهش COL6a3 و بهبود هومئوستاز گلوکز جهت ارتقاء سلامت متابولیک مطرح گردد. شایان ذکر است که تا به امروز، بیشتر دانش ما در این زمینه از تحقیقات حیوانی به دست آمده است و این که تنظیم متابولیک به واسطه کلاژن‌ها در انسان‌ها نیز از مدل‌های حیوانی تبعیت می‌کند یا خیر، نیاز به بررسی بیشتری دارد. ایجاد مدل‌های بهینه‌ی ورزشی و تغذیه‌ای برای مطالعه درمان‌های بالقوه برای مبارزه با اثرات مضر رسوب شبکه مولکولی خارج سلولی و پیشگیری از افزایش وزن در مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری: این مقاله برگرفته از طرح رساله دکتری مصوبه دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد و فاقد حامی مالی می‌باشد. بدین‌وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند قدردانی می‌نمایم.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

i-Elastin

ii-Integrin

References

- Escobedo-de la Peña J, Ramírez-Hernández JA, Fernández-Ramos MT, González-Figueroa E, Champagne B. Body fat percentage rather than body mass index related to the high occurrence of type 2 diabetes. *Arch Med Res* 2020; 51: 564-71.
- de Sousa Neto IV, Durigan JLQ, da Silva ASR, de Cássia Marqueti R. Adipose Tissue Extracellular Matrix Remodeling in Response to Dietary Patterns and Exercise: Molecular Landscape, Mechanistic Insights, and Therapeutic Approaches. *Biology* 2022; 11: 765.
- Pastel E, Price E, Sjöholm K, McCulloch LJ, Rittig N, Liversedge N, et al. Lysyl oxidase and adipose tissue dysfunction. *Metabolism* 2018; 78: 118-27.
- Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest* 2011; 121: 2094-101.
- Yoldemir ŞA, Arman Y, Akarsu M, Altun Ö, Dikler O, Toprak ID, et al. The relationship between insulin resistance, obesity, and endotrophin. *International Journal of Diabetes in Developing Countries* 2020: 1-5.
- Gesta S, Guntur K, Majumdar ID, Akella S, Vishnudas VK, Sarangarajan R, et al. Reduced expression of collagen VI alpha 3 (COL6A3) confers resistance to inflammation-induced MCP1 expression in adipocytes. *Obesity* 2016; 24: 1695-703.
- Khan T, Muişe ES, Iyengar P, Wang ZV, Chandalia M, Abate N, et al. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 1575-91.
- Martland R, Mondelli V, Gaughran F, Stubbs B. Can high-intensity interval training improve physical and mental health outcomes? A meta-review of 33 systematic reviews across the lifespan. *J Sports Sci* 2020; 38: 430-69.
- da Silva DE, Grande AJ, Roeber L, Tse G, Liu T, Biondi-Zoccai G, et al. High-intensity interval training in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Curr Atheroscler Rep* 2019; 21: 8.
- Maharjan BR, Martinez-Huenchullan SF, McLennan SV, Twigg SM, Williams PF. Exercise induces favorable metabolic changes in white adipose tissue preventing high-fat diet obesity. *Physiol Rep* 2021; 9: e14929.
- Nigro P, Vamvini M, Yang JJ, Caputo T, Ho LL, Papadopoulos D, Carbone NP, Colin R, He J, Michael HF, White JD. Exercise Training Remodels Adipocyte-Specific Extracellular Matrix Proteins and Alters Innervation and Vascularization in Inguinal White Adipose Tissue (iWAT). *bioRxiv* 2022: 2022-08.
- Martinez-Huenchullan SF, Ban LA, Olaya-Agudo LF, Maharjan BR, Williams PF, Tam CS, et al. Constant-moderate and high-intensity interval training have differential benefits on insulin sensitive tissues in high-fat fed mice. *Front Physiol* 2019; 10: 459.
- Yoldemir SA, Arman Y, Akarsu M, Altun O, Ozcan M, Tupek T. Correlation of glycemic regulation and end-

- otrophin in patients with type 2 Diabetes; pilot study. *Diabetol Metab Syndr* 2021; 13: 9.
14. Ruiz-Ojeda FJ, Méndez-Gutiérrez A, Aguilera CM, Pi-aza-Díaz J. Extracellular Matrix Remodeling of Adipose Tissue in Obesity and Metabolic Diseases. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 4888.
 15. DeBari MK, Abbott RD. Adipose Tissue Fibrosis: Mechanisms, Models, and Importance. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 6030.
 16. Khalafi M, Mohebbi H, Karimi P, Faridnia M, Tabari E. The Effect of High Intensity Interval training and Moderate Intensity Continuous Training on Mitochondrial Content and PGC-1 α of Subcutaneous Adipose Tissue in Male Rats with High Fat Diet Induced Obesity. *Sport Biosciences* 2018; 10: 297-315. [Farsi]
 17. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 1929; 89: 24-33.
 18. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev* 2010; 23: 270-99.
 19. Martinez-Huenchullan SF, Ban LA, Olaya-Agudo LF, Maharjan BR, Williams PF, Tam CS, et al. Constant-moderate and high-intensity interval training have differential benefits on insulin sensitive tissues in high-fat fed mice. *Front Physiol* 2019; 10: 459.
 20. Hubrecht RC, Kirkwood J. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals*: John Wiley & Sons; 2010.
 21. Shomer NH, Allen-Worthington KH, Hickman DL, Jonnalagadda M, Newsome JT, Slate AR, et al. Review of rodent euthanasia methods. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2020; 59: 242-53.
 22. Antunes LC, Elkfury JL, Jornada MN, Foletto KC, Bertoluci MC. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab* 2016; 60: 138-42.
 23. Yang W, Liu L, Wei Y, Fang C, Zhou F, Chen J, et al. Exercise ameliorates the FGF21-adiponectin axis impairment in diet-induced obese mice. *Endocr Connect* 2019; 8: 596-604.
 24. Zhang Y, Wan J, Xu Z, Hua T, Sun Q. Exercise ameliorates insulin resistance via regulating TGF β -activated kinase 1 (TAK1)-mediated insulin signaling in liver of high-fat diet-induced obese rats. *J Cell Physiol* 2019; 234: 7467-74.
 25. Reidy PT, Mahmassani ZS, McKenzie AI, Petrocelli JJ, Summers SA, Drummond MJ. Influence of Exercise Training on Skeletal Muscle Insulin Resistance in Aging: Spotlight on Muscle Ceramides. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 1514.
 26. Li L, Wei Y, Fang C, Liu S, Zhou F, Zhao G, et al. Exercise retards ongoing adipose tissue fibrosis in diet-induced obese mice. *Endocr Connect* 2021; 10: 325-35.
 27. Javaid HMA, Sahar NE, ZhuGe DL, Huh JY. Exercise Inhibits NLRP3 Inflammatory Activation in Obese Mice via the Anti-Inflammatory Effect of Meteorin-like. *Cells* 2021; 10: 3480.
 28. Higa TS, Spinola AV, Fonseca-Alaniz MH, Evangelista FS. Remodeling of white adipose tissue metabolism by physical training prevents insulin resistance. *Life Sci* 2014; 103: 41-8.
 29. Luo T, Nocon A, Fry J, Sherban A, Rui X, Jiang B, et al. AMPK activation by metformin suppresses abnormal extracellular matrix remodeling in adipose tissue and ameliorates insulin resistance in obesity. *Diabetes* 2016; 65: 2295-310.
 30. Ahn C, Ryan BJ, Schleh MW, Varshney P, Ludzki AC, Gillen JB, Van Pelt DW, Pitchford LM, Howton SM, Rode T, Hummel SL. Exercise training remodels subcutaneous adipose tissue in adults with obesity even without weight loss. *The Journal of Physiology* 2022; 600: 2127-46.
 31. Guglielmi V, Cardellini M, Cinti F, Corgosinho F, Cardolini I, D'adamo M, et al. Omental adipose tissue fibrosis and insulin resistance in severe obesity. *Nutr Diabetes* 2015; 5: e175-e.
 32. Lindholm M, Godskesen LE, Manon-Jensen T, Kjeldsen J, Krag A, Karsdal MA, et al. Endotrophin and C6Ma3, serological biomarkers of type VI collagen remodelling, reflect endoscopic and clinical disease activity in IBD. *Sci Rep* 2021; 11: 14713.
 33. Pincu Y, Huntsman HD, Zou K, De Lisio M, Mahmassani ZS, Munroe MR, et al. Diet-induced obesity regulates adipose-resident stromal cell quantity and extracellular matrix gene expression. *Stem Cell Res* 2016; 17: 181-90.
 34. Cordeira J, Monahan D. Voluntary wheel running reduces weight gain in mice by decreasing high-fat food consumption. *Physiol Behav* 2019; 207: 1-6.
 35. Andreato L, Esteves J, Coimbra D, Moraes A, De Carvalho T. The influence of high-intensity interval training on anthropometric variables of adults with overweight or obesity: a systematic review and network meta-analysis. *Obes Rev* 2019; 20: 142-55.
 36. Nobari H, Saedmocheshi S, Murawska-Ciałowicz E, Clemente FM, Suzuki K, Silva AF. Exploring the Effects of Energy Constraints on Performance, Body Composition, Endocrinological/Hematological Biomarkers, and Immune System among Athletes: An Overview of the Fasting State. *Nutrients* 2022; 14: 3197.

Original Article

Effect of Concurrent High-intensity Interval Training and a Period of High-fat Diet on Col6A3 Gene Expression and Its Protein Product in Subcutaneous Adipose Tissue and Rats

Fayyazi S¹ , Gharakhanlou R¹ , Molanouri M¹ , Kordi M² 

¹Department of Sport Physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. ²Department of Sport Physiology, Faculty of Sports and Health Sciences, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran

e-mail: ghara_re@modares.ac.ir

Received: 31/04/2023 Accepted: 01/07/2023

Abstract

Introduction: Collagen 6 is one of the important components of the adipose tissue extracellular matrix, and its deposition is associated with metabolic disorders. This study aimed to investigate the effect of High-intensity Interval Training (HIIT) simultaneously with a high-fat diet on the expression of collagen 6 chain 3 alpha gene (Col6A3) and the amount of its protein product (COL6 α 3) in subcutaneous adipose tissue, as well as insulin resistance in rats. **Materials and Methods:** Twenty-four adult male rats were randomly divided into four groups: normal diet (ND), high-fat diet (HFD), HIIT+ND, and HIIT+HFD. The HIIT consisted of eight periods of intense activity at 90% of Maximum Running Capacity (MRC) for 2.5 minutes, with periods of active rest at 50% MRC for 2.5 minutes. Blood samples were collected from the heart 48 hours after the last training session, and the subcutaneous adipose tissue was removed. Serum glucose and insulin levels were measured, and insulin resistance (HOMA-IR) was calculated. The RT-PCR and ELISA methods were used to measure gene expression and COL6 α 3 tissue protein levels, respectively. Two-way ANOVA and correlation coefficient were used to analyze the data ($P \leq 0.05$). **Results:** The combination of HIIT and a high-fat diet caused a significant decrease in COL6 α 3 gene expression and tissue protein levels ($P < 0.001$) and a 21% decrease in HOMA-IR ($P < 0.001$). A significant positive correlation was observed between gene expression and COL6 α 3 protein level and HOMA-IR ($P < 0.001$) ($r=0.794$, $r=0.870$). **Conclusion:** HIIT, simultaneously with consuming a high-fat diet, prevents the increase of COL6 α 3 in subcutaneous fat tissue and can have a preventive effect on insulin resistance.

Keywords: HIIT, COL6 α 3, Insulin Resistance, High-fat diet, Rat