

Effects of Eight Weeks of High Intensity Interval Training Program on Gene Expression Factors Involved in Cholesterol Reverse Transport in Liver Tissue of Ischemic Rat

Hesam Parsa¹,
Yaghoob Mehri Alvar²,
Fahimeh Erfani Aadab³

¹ Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Bu Ali Sina University, Hamadan, Iran

² PhD in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Bu Ali Sina University, Hamadan, Iran

³ MSc in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Bu Ali Sina University, Hamadan, Iran

(Received December 13, 2020 : Accepted February 15, 2021)

Abstract

Background and purpose: The present study aimed at exploring the effects of eight-week high intensity interval training (HIIT) program on gene expression factors involved in cholesterol reverse transport in liver tissue of ischemic rats.

Materials and methods: In this study, 28 Wistar Rats (250 ±20 g) were randomly divided into four groups: Ischemia (n=8), Placebo (n=8), Training (n=8), and Ischemia plus Training (n=8). Myocardial infarction was induced by ligation of left anterior descending coronary artery (LAD) for 30 minutes. High intensity interval training program (4 min of running at 85-90% VO₂max and 2 min active recovery at 50-60% VO₂max) was performed using treadmill for 8 weeks (three times a week /40 minutes).

Results: The expression levels of ABCG1 receptor gene and Apolipoprotein A1 significantly increased in high intensity interval training group compared to Ischemia group (P=0.008) and placebo group (P= 0.037). Also, the expression of Apolipoprotein 2 receptor gene showed significant increase in HIIT+ Ischemia group compared to Ischemia group (P=0.041) and placebo group (P=0.04). In addition, the expression of SR-BR receptor gene was found to increase in HIIT+ Ischemia group compared to the placebo group (P=0.028).

Conclusion: High intensity interval training in ischemic rats increases the key factors involved in reverse cholesterol transfer process and ultimately leads to an increase in HDL, which has a positive effect on prevention of atherosclerosis and ischemia.

Keywords: myocardial ischemia, cholesterol reverse transport, high intensity interval training, apolipoprotein

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (196): 11-22 (Persian).

* Corresponding Author: Hesam Parsa - Faculty of Sport Sciences, Bu Ali Sina University, Hamadan, Iran
(E-mail: h.parsa@basu.ac.ir)

تأثیر هشت هفته تمرین اینتروال شدید بر بیان ژن عوامل درگیر در انتقال معکوس کلسترول بافت کبد در رت های صحرایی ایسکمی شده

حسام پارسا¹
یعقوب مهری الوار¹
فهیمه عرفانی آداب¹

چکیده

سابقه و هدف: پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته تمرین ورزشی بر بیان ژن عوامل درگیر در انتقال معکوس کلسترول در رت های صحرایی ایسکمی شده انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی 28 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (200-250 گرم) به صورت تصادفی در 4 گروه شم، ایسکمی، تمرین و تمرین - ایسکمی قرار گرفتند. انفارکتوس میوکارد با بستن شریان کرونری نزولی چپ به مدت 30 دقیقه انجام شد. برنامه تمرینی اینتروال شدید (هر تناوب شامل 4 دقیقه دویدن با شدت خیلی بالا، تقریباً 85 تا 90 درصد VO_2max و 2 دقیقه ریکاوری فعال، تقریباً با شدت 50 تا 60 درصد VO_2max) روی تردمیل به مدت 8 هفته هر هفته 3 روز و هر روز به مدت 40 دقیقه اجرا شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که بیان ژن گیرنده ABCG1 و آپولیپوپروتئین 1 در تمرین تناوبی شدید افزایش معناداری نسبت به گروه ایسکمی ($P=0/008$) و گروه شم داشت ($P=0/037$). بیان ژن گیرنده آپولیپوپروتئین 2 در گروه تمرین تناوبی شدید + ایسکمی به نسبت سایر گروه ها افزایش داشته است اما این افزایش فقط نسبت به گروه های ایسکمی ($P=0/041$) و شم ($P=0/04$) می باشد. در رابطه با بیان ژن گیرنده SR-BI نتایج نشان داد که گروه تمرین تناوبی شدید + ایسکمی به نسبت سایر گروه ها افزایش داشته است اما این افزایش معنادار فقط نسبت به گروه شم ($P=0/028$) می باشد.

استنتاج: تمرین تناوبی شدید در رت های ایسکمی شده سبب افزایش عوامل کلیدی درگیر در روند انتقال معکوس کلسترول می شوند که در نهایت منجر به افزایش HDL شده، که اثر مثبتی بر پیشگیری از آترواسکلروز و ایسکمی دارد.

واژه های کلیدی: ایسکمی میوکارد، انتقال معکوس کلسترول، تمرین تناوبی شدید، آپولیپوپروتئین

مقدمه

عوامل زیادی در بروز و گسترش آترواسکلروز نقش دارد که مهم ترین آن کلسترول در گردش خون است (1). هنگامی که مقدار آن در خون افزایش می یابد، لیپوپروتئین کم چگالی (C-LDL) در ارتباط با گونه های واکنش پذیر

E-mail: h.parsa@basu.ac.ir

مؤلف مسئول: حسام پارسا - همدان: چهارراه پژوهش، دانشگاه بوعلی سینا، گروه فیزیولوژی ورزشی

1. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

2. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

3. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت: 1399/9/23 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/10/25 تاریخ تصویب: 1399/11/27

اکسیژن، آن را تعدیل می‌کند. در نتیجه لیپوپروتئین کم چگالی اکسیداز شده سریعاً به وسیله ماکروفاژهای دیواره عروق برداشت می‌شود. این ماکروفاژهای مملو از لیپید، به عنوان سلول‌های فوم شناخته می‌شوند که عامل اصلی پلاک‌های آترواسکلروز هستند (2). از آنجا که سلول‌های پستانداران نمی‌توانند کلسترول اضافی را کاهش دهند، لذا حذف کلسترول اضافی داخل سلولی ضروری است. ذرات لیپوپروتئین پرچگالی (HDL) قادر به حذف کلسترول اضافی از سلول‌های محیطی از طریق انتقال معکوس کلسترول هستند. انتقال معکوس کلسترول (cholesterol reverse transport) به فرایند جمع‌آوری کلسترول اضافی از بافت‌های پیرامونی از جمله ماکروفاژهای دیواره سرخرگی و بازگرداندن آن‌ها به کبد برای پاکسازی از طریق صفرا و یا دفع آن از طریق مدفوع گفته می‌شود که در این مرحله ABCA1 نقش مهمی ایفا می‌کند. این فرایند، به ویژه برای ماکروفاژها در پلاک‌های آترواسکلروتیک مهم است (۴،۳).

رابطه معکوس بین مقادیر HDL پلاسما و خطر آترواسکلروز نشان‌دهنده نقش HDL و گیرنده‌های آن در پذیرش انتقال کلسترول است. برداشت کلسترول‌های اضافی از سلول‌های فوم ماکروفاژ به وسیله HDL و آپولیپروتئین‌های اساسی اش (Apolipoprotein A-I) یکی از کلیدی‌ترین مکانیسم‌های محافظتی HDL در مقابل آترواسکلروز است (5). تحقیقات زیادی به بررسی نقش لیپوپروتئین‌ها در خروج کلسترول از سلول پرداخته‌اند و مشخص شده است که پذیرنده ترجیحی کلسترول و فسفولیپید از پروتئین ناقل جعبه‌ای وابسته به آدنوزین تری‌فسفات (ATP-binding cassette protein A1)، APO A-I می‌باشد که آپولیپروتئین اصلی در HDL است. APO A-I بیش از 70 درصد پروتئین HDL و 30 درصد توده HDL را تشکیل می‌دهد (6) در ماکروفاژها، جذب لیپوپروتئین‌های اکسید شده از طریق گیرنده‌های نظافت چپی (scavenger receptor class B type I) به

اختصار (SR-BI)، منجر به فعال شدن رونویسی LXRها و القای ژن‌هایی مثل ABCA1 و آپولیپروتئین E شده که حذف کلسترول را از سلول تسهیل می‌کنند. علاوه بر این، پروتئین ترانسفر فسفولیپید که تعدیل‌گری در متابولیسم لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا بوده و در انتقال معکوس کلسترول نقش دارد، یک ژن هدف مستقیم برای LXR در ماکروفاژهاست و فعال شدن LXR التهاب را مهار می‌کند (7). در نهایت LXRها از دو طریق انتقال معکوس کلسترول را تحریک می‌کنند که عبارت‌اند از: 1- افزایش بیان ژن ABCA1 و 2- افزایش پذیرنده‌های کلسترول خارج سلولی در دسترس (8). اما ساز و کارها و مداخلاتی بر انتقال معکوس کلسترول اثرگذار است. یکی از این ساز و کارها و مداخلات، فعالیت‌های ورزشی می‌باشد. فعالیت بدنی از عواملی است که موجب تغییر در پروفایل‌های چربی خون به ویژه تغییر در HDL-C می‌شود (9). فعالیت بدنی با افزایش HDL و احتمالاً تغییرات در ژن‌های درگیر در فرایند انتقال معکوس کلسترول نقش خود را در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی اعمال می‌کند (10). تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت بدنی می‌تواند به تغییرات مفیدی در نیمرخ لیپوپروتئین‌های خون از جمله کاهش تری‌گلیسیرید، LDL، VIDL، و افزایش HDL با زیرمجموعه‌های آن منجر شود. در رابطه با ارتباط فعالیت ورزشی و انتقال معکوس کلسترول تحقیقات اندکی انجام شده است. خبازیان و همکاران (2011) نشان دادند که تمرین استقامتی باعث افزایش بیان ژن ABCA1 می‌شود که عامل کلیدی در خروج کلسترول از سلول است (11). همچنین Pinto و همکاران (2015) نشان دادند که 12 هفته فعالیت هوازی می‌تواند منجر به تسریع انتقال کلسترول به کبد و پیشگیری از تصلب شراین شود (12). در خصوص پاسخ و سازگاری اجزای اصلی مراحل انتقال معکوس کلسترول مطالعات اندکی وجود دارد و پژوهش‌های انجام شده در کشورمان بیش‌تر به بررسی بیان ژن‌های ABCA1 و ABCG1

مواد و روش‌ها

روش پژوهش حاضر از نظر اجرا تجربی و از نظر هدف یک مطالعه کاربردی می باشد. این مطالعه تجربی در کمیته اخلاق پژوهش پژوهشگاه علوم ورزشی ایران، طبق منشور و موازین اخلاق پژوهش وزارت علوم، پژوهش و فناوری بررسی و با کد IR.SSRI.REC.1396.134 تصویب و بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در این مطالعه 28 سر موش صحرایی نر ویستار (250-200 گرم، خریداری شده از دانشگاه علوم پزشکی ایران) مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات (4 گروه 7 تایی: کنترل جراحی (شم)، ایسکمی میوکاردا، تمرین و تمرین-ایسکمی) در آزمایشگاه استاندارد جوندگان (چرخه 12 ساعت روشنایی-تاریکی و میانگین درجه حرارت 22 ± 2 درجه سلسیوس) با دسترسی آزادانه به آب و غذا در بیمارستان قلب و عروق شهید رجایی نگهداری شدند.

مدل ایسکمی - ریبریوژن و داروهای تزریقی: موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم (50mg/kg) بیهوش شدند. پس از تراشیدن ناحیه قفسه سینه موش‌های صحرایی نر ویستار، برای انتوبه کردن بر روی تخت جراحی قرار گرفتند. بعد از انتوبه کردن به ونتیلاتور (Small Animal Ventilator, Harvard Model 683-USA) (با تواتر تنفسی 60 تا 70 تنفس در دقیقه و حجم جاری 15 ml/kg) وصل شد. برای حفظ دمای بدن موش‌های صحرایی در شرایط فیزیولوژیک (دمای 37 سانتی‌گراد) یک پد و لامپ حرارتی در زیر آنها قرار داده شد (17).

توراکتومی چپ در بین ناحیه بین دنده‌ای چهارم انجام شد، عضلات بین دنده‌ای و پری‌کارد جدا شدند تا قلب در معرض دید کامل قرار گیرد. انفارکتوس میوکاردا با بستن شریان کرونری نزولی قدامی چپ (ligation of the left anterior descending coronary artery) به وسیله نخ بخیه پلی پروپیلن 0/6 در ناحیه 2 میلی‌متر پائین‌تر از منشأ LAD انجام شد. انسداد موفق LAD با

پرداخته‌اند. رشیدلمیر و همکاران (1390) نشان دادند که تمرین‌های مقاومتی و هوازی می‌تواند با افزایش در بیان ژن ABCG1 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون زنان ورزشکار منجر به بهبود عملکرد انتقال معکوس کلسترول و در نتیجه فواید قلبی عروقی برای ورزشکاران گردد (13).

توفیقی و همکاران (2015) به این نتیجه رسیدند که تمرین هوازی می‌تواند با افزایش در بیان mRNA ژن عوامل درگیر در انتقال معکوس کلسترول زنان چاق، نقش مؤثری در پیشگیری از بیماری‌های قلب و عروق داشته باشد (14). همچنین حاجی قاسمی و همکاران (2018) به این نتیجه رسیدند که تمرینات مقاومتی سبک، احتمالاً می‌تواند در بیان ژن ABCA1 مؤثر و در نتیجه در بهبود انتقال معکوس کلسترول و پیشگیری از وقوع ایسکمی‌های بعدی مؤثر باشد (15).

تمرینات ورزشی، کیفیت زندگی، ظرفیت‌های عملکردی، التهاب و در کل سلامتی قلب را بهبود می‌بخشد، ولی ساز و کارهای درگیر در این رویدادها هنوز به طور کامل ناشناخته‌اند. در سال‌های اخیر علاقه به تحقیق در حوزه ایسکمی، سکت، ژنتیک و پاسخ بدن به فعالیت ورزشی افزایش یافته است و شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند سازگاری‌های فیزیولوژیکی ناشی از فعالیت‌های ورزشی با بیان ژن همراه هستند (16). نشان دادن بیان یا عدم بیان ژن‌های مرتبط با انتقال معکوس ناشی از تمرین ورزشی در بیماران ایسکمی جهت بهبود عملکرد و یا پیشگیری از آسیب‌های احتمالی قلبی عروقی ضروری به نظر می‌رسد. در خصوص مکانیسم‌ها و نقش فعالیت بدنی به دنبال ایسکمی میوکاردا بر مکانیسم‌های مرتبط با متابولیسم کلسترول و انتقال معکوس کلسترول به طور خاص پژوهشی صورت نگرفته است. بنابراین هدف این مقاله، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین ورزشی تناوبی شدید بر بیان ژن عوامل درگیر در انتقال معکوس کلسترول بافت کبد در رت‌های صحرایی ایسکمی شده می‌باشد.

تغییرات الکتروکاردیوگرام (ECG) شامل بالا رفتن قطعه ST، تغییر رنگ و کینسیس اپکس و دیواره قدامی - جانبی تأیید شد. 30 دقیقه بعد از بسته بودن LAD، ریبریفیوژن انجام شد و جریان خون دوباره به میوکارد تأیید شد. سپس قفسه سینه و لایه‌های عضلانی با بخیه‌زدن بسته شدند. حیوانات بوپروپرفین (0/05 mg.kg ip) و پماد موضعی تتراسایکلین دریافت کردند. بعد از خارج کردن تراشه، حیوانات در زیر اکسیژن خالص قرار گرفته و گرم نگهداشته شدند تا زمانی که به شکل کامل به هوش بیایند. عمل جراحی شم نیز اجرا شد که حیوانات اتوبه شده و تنها تحت عمل توراکتومی قرار گرفته و هیچ‌گونه عمل بسته شدن LAD صورت نگرفت.

تمرین ورزشی و روش اجرای آزمون ورزشی

برنامه تمرینی روی تردمیل طراحی شده ویژه حیوان (ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان. ایران. تهران)، 3 روز در هفته به مدت 40 دقیقه بود که شامل 5 دقیقه گرم کردن و سرد کردن با شدت 40 تا 50 درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO₂max) و 30 دقیقه دویدن تناوبی بود. هر تناوب شامل 4 دقیقه دویدن با شدت خیلی بالا (تقریباً 85 تا 90 درصد VO₂max) و 2 دقیقه ریکاوری فعال (تقریباً با شدت 50 تا 60 درصد VO₂max) بود. شدت تمرین در طی هفته‌ها بر اساس پژوهش‌های گذشته (18) و ارتباط بین سرعت دویدن و VO₂max تنظیم شد. بنابراین، شدت تمرینی در هر هفته 0/02 m/sec افزایش می‌یافت (19). در گروه تمرین تداوم زیر بیشینه نیز براساس درصدی از حداکثر اکسیژن مصرفی (که به متر بر دقیقه تبدیل گردید) سه جلسه در هفته در هشت هفته (شدت فعالیت معادل 50 تا 55 درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) به تمرین پرداختند. کلیه جلسات تمرین ساعت 8 تا 13 انجام شد. زمان تمرین (علاوه بر سرعت تردمیل که هر هفته 0/02 m/sec افزایش می‌یافت) در هفته‌های اول 30 دقیقه و در هفته‌های پایانی به 60 دقیقه رسید (۲۰، ۱۸).

روش اندازه‌گیری VO₂max در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار: بر اساس مطالعه هویدال و همکاران، هر رت ابتدا به مدت 10 دقیقه با شدت 10 متر در دقیقه مرحله گرم کردن را سپری می‌کردند، سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز شد، هر دو دقیقه سرعت تردمیل 0/03 m/sec به صورت خودکار افزایش می‌یافت تا زمانی که رت‌ها قادر به ادامه فعالیت ورزشی نبودند. با توجه به سرعت نهایی به دست آمده در انتهای آزمون بیشینه و بر اساس مطالعه Høydal و همکاران سرعت مورد نظر در شدت‌های برنامه تمرینی به دست آمد (۱۹، ۱۸). 48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرین رت‌ها پس از 14 ساعت ناشتایی، شبانه نمونه برداری بافت کبدی انجام شد و برای جمع‌آوری نمونه‌ها ابتدا حیوان با ترکیبی از داروی زایلازین (10 میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (75 میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش می‌شد، سپس کبد رت‌ها از بدن آن‌ها جدا و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شد تا خون موجود در آن همراه با کمی فشار دادن به طور کامل خالی گردد و سپس روی کاغذ فیلتر گذاشته شدند تا رطوبت آن گرفته شود و آماده وزن‌کشی شوند. کبد رت در ترازوی دیجیتالی با دقت 0/001 گرم وزن‌کشی شده سپس بلافاصله با استفاده از ازت مایع منجمد شده برای تلخیص RNA به فریزر با دمای -80 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

در این مطالعه به منظور بررسی تغییرات بیان ژن متغیر وابسته تحقیق از تکنیک qRT-PCR استفاده شد. بدین منظور ابتدا RNA سلول‌ها استخراج شد و سپس طی مراحل حل به نام DNase I treatment، با DNaseI تیمار شد. در این روش در صورت وجود DNA اضافی در نمونه، DNA حذف می‌شود. در نهایت cDNA ساخته شد و واکنش‌های qRT-PCR انجام شد. استخراج RNA از بافت نمونه با استفاده از Qiazol (کیت Qiagen، آلمان) با توجه به توصیه سازنده استخراج شد. به منظور از بین بردن احتمالی آلودگی RNA با DNA از آنزیم DNase عاری از RNase استفاده شد. مقادیر لازم برحسب غلظت

استفاده شد. توالی پرایمرهای موردنظر در جدول شماره یک نوشته شده است (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: توالی پرایمرهای موردنظر

Name	متغیر	Seq. (5-3)
ژن ApoA1	Rat -ApoA1-F: Rat -ApoA1-R:	5'-CTGACAGGTTGCCAAGC-3' 5'-CAGGAGATTGAGGTTTCAGC-3'
ژن ApoA2	Rat -ApoA2-F: Rat ApoA2-R:	5'-GTCACCATCTGTAGCCT-3' 5'-GCCTTCTCCATCAAACTCT-3'
ژن ABCG1	Rat -ApoA2-F: Rat ApoA2-R:	5'-GGAGGAAGAAAGGATACAAG-3' 5'-GGCATACCATGATAAGGA-3'
ژن SR-BI	Rat -SR-BI -F: Rat -SR-BI -R:	5'-CCTGTTGTTGGGATGAA-3' 5'-TGTTACTGCTCTGAATG-3'

هر واکنش PCR با استفاده از (PCR master mix (Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه (Applied Biosystems, Sequence) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. 40 سیکل برای هر چرخه Real-time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل 94 درجه سانتی گراد برای 15 ثانیه، 60 درجه سانتی گراد برای 30 ثانیه تنظیم شدند. برای تمامی ژن‌های مورد مطالعه نیز ژن رفرنس یعنی بتا اکتینین جهت به دست آوردن دمای مناسب Anneling گردید. دمای انجام شد. همچنین جهت بررسی efficiency پرایمرها، منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن (سری‌های رقیق شده DNA) رسم گردید. نمودار Melting نیز جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. ژن مرجع تقریباً برابر بود. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول‌های $\Delta\Delta Ct$ و $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمال‌سازی شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و توصیف داده‌ها استفاده شد. از آزمون شاپیرو-ویلک برای بررسی نرمال بودن داده‌ها در گروه‌های مورد

RNA استخراج شده تعیین شد. بدین ترتیب به ازای یک میکروگرم RNA استخراج شده یک میکرولیتر DNase (Fermentase, 1μl) و یک میکرولیتر بافر 10x اضافه شد و حجم محلول با آب تیمار شده با DEPC به 10 میکرو لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت 15 دقیقه در 37 درجه سانتی گراد انکوبه شد، سپس به مدت 15 دقیقه در 65 درجه سانتی گراد قرار داده شد تا آنزیم غیرفعال شود. غلظت RNA به روش اسپکتروفتومتری UV (Eppendorf، آلمان) تعیین شد. جهت ساخت cDNA به 1-0/2 میکروگرم RNA استخراج شده 1 میکرولیتر Oligo dt اضافه شد. حجم نهایی این مرحله باید 12 میکرولیتر باشد. بدین ترتیب اگر RNA غلیظ تر بود مقدار کم‌تری از آن برداشته شد و با آب تیمار شده با DEPC به حجم نهایی 12 میکرولیتر رسانده شد. واکنش به مدت 5 دقیقه در 70 درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس بلافاصله درون یخ گذاشته شد. به میکرو فیوژن، 4 میکرو لیتر بافر X5، 2 میکرو لیتر dNTP و 1 میکرو لیتر RNasin اضافه شد تا حجم نهایی به 19 میکرولیتر برسد. محلول واکنش به مدت 5 دقیقه در 37 درجه سانتی گراد انکوبه شد. یک میکرو لیتر آنزیم RT به واکنش اضافه شد و به مدت یک ساعت در 42 درجه سانتی گراد انکوبه شد. برای متوقف کردن واکنش، میکرو تیوب به مدت 10 دقیقه در دمای 70 درجه سانتی گراد قرار داده شد. cDNA حاصل روی یخ قرار داده شد و تا زمان انجام واکنش PCR در فریزر -20 درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای طراحی پرایمرها ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن ApoA1، ABCG1، SR-BI با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم‌افزار کامپیوتری Allel ID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت.

پرایمرها توسط شرکت سیناکولن ساخته شد. در این تحقیق از ژن بتا اکتینین به عنوان کنترل داخلی

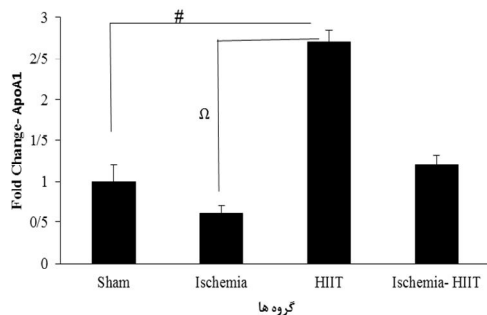
بیان ژن نسبت به گروه شم کاهش جزئی داشته است که از نظر آماری معنی دار نیست ($P=0/9$).

نتایج مربوط به آزمون تعقیبی در میزان بیان ژن گیرنده ABCG1 و SR-BI در گروه‌های مورد مداخله نسبت به گروه شم در نمودار شماره 2 نشان داده شده است.

جدول شماره 2: بیان ژن متغیرهای پژوهش در چهار گروه شم، ایسکمی، تناوبی و ایسکمی+تناوبی در انتهای پروتکل

متغیرها	مجدور میانگین	درجه آزادی	ارزش F	سطح معنی داری
ABCG1	484/6	3	5/9	*0/004
ApoA1	417/6	3	5/3	*0/006
ApoA2	87/6	3	4/4	*0/014
SR-BI	61/2	3	3/8	*0/023

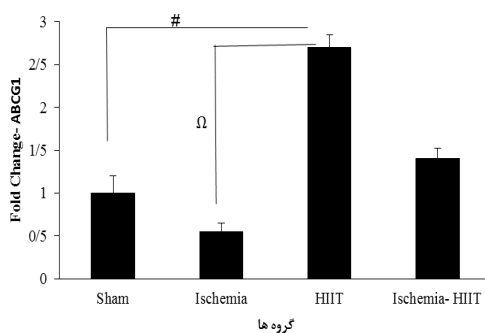
*: فاوت معنی دار در $P<0/05$



نمودار شماره 1: تفاوت میزان بیان ژن گیرنده ApoA1 و ApoA2 در گروه‌های مورد مداخله نسبت به گروه شم پس از 8 هفته و سطح معناداری برابر 0/001 بود.

علائم مربوط به معنی داری بین گروه‌ها در سطح $P<0/05$

تمرین تناوبی - شم
Ω تمرین تناوبی - ایسکمی
Ψ تمرین تناوبی / ایسکمی - شم
≠ تمرین تناوبی / ایسکمی - ایسکمی



مطالعه و آزمون‌های آنالیز واریانس یک راهه و تعقیبی بونفرونی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. سطح معنی داری برای کلیه آزمون‌های آماری $\alpha \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 انجام گرفت.

یافته‌ها

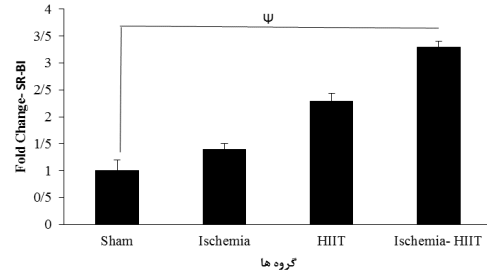
بیان ژن

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه، برای تغییرات بیان ژن متغیرهای پژوهش در جدول شماره 2 آورده شده است. با توجه به مقدار F محاسبه شده و معنی دار بودن آن در سطح $P \leq 0/05$ ، تفاوت معناداری بین بیان ژن گیرنده آپولیپوپروتئین 1 و 2، ABCG1 و SR-BI در گروه‌های مختلف پژوهش با 95 درصد اطمینان تایید شد.

برای بررسی اختلاف بین گروهی موردنظر از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد که نتایج آن در نمودار شماره 1 نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که بیان ژن گیرنده آپولیپوپروتئین 1 در تمرین تناوبی شدید افزایش معنی داری نسبت به گروه ایسکمی ($P=0/008$) و گروه شم داشت ($P=0/037$). همچنین نتایج نشان داد که میزان بیان ژن گروه ایسکمی به نسبت سایر گروه‌ها کاهش داشت اما این کاهش نسبت به گروه شم معنادار نبود ($P=0/9$). همچنین گروه تمرین تناوبی شدید+ایسکمی منجر به ایجاد تفاوت معنی دار نسبت به سایر گروه‌ها نشده است، هرچند نسبت به گروه شم افزایش اندکی داشته است اما این افزایش از نظر آماری معنادار نیست ($P=0/9$).

در رابطه با بیان ژن گیرنده آپولیپوپروتئین 2 نتایج نشان داد که گروه تمرین تناوبی شدید+ایسکمی به نسبت سایر گروه‌ها افزایش داشته است اما این افزایش فقط نسبت به گروه‌های ایسکمی ($P=0/041$) و شم ($P=0/04$) می‌باشد. در رابطه با گروه ایسکمی میزان



نمودار شماره 2: تفاوت میزان بیان ژن گیرنده ABCG1 و SR-BI در گروه های مورد مداخله نسبت به گروه شام پس از 8 هفته و سطح معناداری برابر 0/001 بود.

علائم مربوط به معناداری بین گروه ها در سطح $P < 0/05$

تمرین تناوبی - شام Ω تمرین تناوبی - ایسکمی

Ψ تمرین تناوبی/ایسکمی - شام \neq تمرین تناوبی/ایسکمی - ایسکمی

نتایج نشان داد که بیان ژن گیرنده ABCG1 در تمرین تناوبی شدید افزایش معنی داری نسبت به گروه ایسکمی ($P=0/004$) و گروه شام داشت ($P=0/019$). همچنین نتایج نشان داد که میزان بیان ژن گروه ایسکمی به نسبت سایر گروه ها کاهش داشت اما این کاهش نسبت به گروه شام معنی دار نبود ($P=0/09$). همچنین گروه تمرین تناوبی شدید+ ایسکمی منجر به ایجاد تفاوت معنی دار نسبت به سایر گروه ها نشده است، هرچند نسبت به گروه شام افزایش اندکی داشته است اما این افزایش از نظر آماری معنی دار نیست ($P=0/9$). در رابطه با بیان ژن گیرنده SR-BI نتایج نشان داد که گروه تمرین تناوبی شدید+ایسکمی به نسبت سایر گروه ها افزایش داشته است اما این افزایش فقط نسبت به گروه شام ($P=0/028$) می باشد. افزایش های مشاهده شده در گروه های ایسکمی ($P=0/9$) و تمرین تناوبی شدید نسبت به گروه شام جزئی می باشد که از نظر آماری معنی دار نیست ($P=0/5$).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اختلاف معناداری بین چهار گروه در میزان بیان ژن ABCA1، SR-BI، APO A-II و APO A-I وجود دارد ($P=0/001$). به نظر می رسد تمرینات ورزشی تناوبی شدید در بیماران

ایسکمی شده در انتقال معکوس کلسترول نقش مشهود و مشخصی داشته باشند. فعالیت های بدنی و ورزشی از طریق کاهش عوامل خطر سکت قلبی نقش مهمی در محافظت در برابر سکت قلبی ایسکمیک ایفا می کنند. با توجه به اثرات مفید فعالیت های بدنی و ورزشی بر کنترل وزن، فشار خون بالا، پروفایل لیپیدی و دیابت، گزارش شده است که فعالیت ورزشی می تواند به کاهش بروز سکت قلبی ایسکمیک و نتایج بهتر، پس از بروز سکت قلبی (بهبود در پروفایل لیپیدی و انتقال معکوس کلسترول) منجر شود (21). پژوهش حاضر نشان داد بیان ژن گیرنده آپولیپوپروتئین 1 در گروه تمرین تناوبی شدید افزایش معنی داری نسبت به گروه ایسکمی ($P=0/008$) و گروه شام داشت ($P=0/037$). همچنین نتایج نشان داد که میزان بیان ژن گروه ایسکمی به نسبت سایر گروه ها کاهش داشت اما این کاهش (نسبت به گروه شام) معنی دار نبود ($P=0/9$). در رابطه با بیان ژن گیرنده آپولیپوپروتئین 2، نتایج نشان داد که گروه تمرین تناوبی شدید+ایسکمی به نسبت سایر گروه ها افزایش داشته است اما این افزایش فقط نسبت به گروه های ایسکمی ($P=0/041$) و شام ($P=0/04$) می باشد. افزایش گیرنده های آپولیپوپروتئینی نوع 1 و 2 در کبد رت های ایسکمی شده به دنبال هشت هفته تمرینات ورزشی مشهود و مشخص می باشد. نتایج پژوهش حاضر در متغیر آپولیپوپروتئین نوع 1 و 2 با نتایج تحقیق صفرزاده و همکاران (1387) و قربانیان و همکاران (1392) موافق و همسو است. صفرزاده و همکارانش در سال 1387 به بررسی تاثیر 12 هفته تمرین هوازی روی نوار گردان، بر بیان ژن ABCA1 و سطح A-I APO در بافت های (کبد، عضله دوقلو و قلب) موش ویستار پرداخته و نشان دادند که بیان ژن ABCA1 و سطح A-I APO در کبد و عضله دوقلو گروه تجربی، به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود (13).

همچنین قربانیان و همکاران در سال 1392 در تحقیقی به بررسی تاثیر تمرین با طناب بر بیان ژن ABCA1،

میزان پلاسمای APO A-I و HDL-C در پسران نوجوان پرداختند و گزارش کردند که تمرین با طناب باعث افزایش بیان ژن ABCA1 و افزایش میزان APO A-I در لنفوسیت پسران نوجوان می‌شود (22). البته لازم به ذکر است در تحقیقات ذکر شده میزان بیان ژن این متغیرها به صورت تغییرات بیان ژن در سلول‌های لنفوسیتی ارزیابی شده است. یافته‌های مطالعه حاضر نیز نشان دادند که آپولیپروتئین‌ها در گروه‌های تمرینی (مخصوصاً آپولیپروتئین 1) افزایش داشته اما در گروه ایسکمی تغییر نداشته است و حتی کاهش غیرمعنی‌دار نیز داشته است.

یک ساز و کار برای تحلیل عدم افزایش آپولیپروتئین‌ها در گروه ایسکمی، به عملکرد این لیپوپروتئین برمی‌گردد و به تعداد آن بستگی ندارد. بیان ژن ABCA1 که مسئول اصلی انتقال کلسترول و فسفولیپید به آپولیپروتئین A-I است، از یک سو و افزایش غلظت پری بتا HDL که اولین محصول لیپیدی شدن آن است از سوی دیگر، بر این امر دلالت دارند که آپولیپروتئین‌های A-I بیش‌تری در گروه ایسکمی لیپیددار شده‌اند. احتمالاً مکانیسمی برای این موضوع وجود داشته باشد که نیاز به تحقیق و بررسی بیش‌تری در آینده دارد. نتایج مربوط به بیان ژن گیرنده ABCG1 نشان داد که تمرین تناوبی شدید افزایش معنی‌داری نسبت به گروه ایسکمی ($P=0/004$) و گروه شم داشت ($P=0/019$). همچنین نتایج نشان داد که میزان بیان ژن گروه ایسکمی به نسبت سایر گروه‌ها کاهش داشت اما این کاهش نسبت به گروه شم معنی‌دار نبود ($P=0/9$). در رابطه با این که تمرینات ورزشی با چه مکانیسمی باعث افزایش بیان ژن ABCG1 و کاهش مقادیر آن‌ها در گروه ایسکمی می‌شود مکانیسم‌های احتمالی وجود دارند که در ادامه به آن‌ها اشاره خواهد شد. یافته‌های چند مطالعه نشان داده که مکانیزم اصلی افزایش بیان ژن ABCG1 ها فعال شدن گیرنده هسته‌ای LXR است (23). همچنین مطالعات نشان می‌دهند القای LXR به موش باعث افزایش بیان ژن ABCG5 و ABCG8 می‌شود و از این طریق دفع کلسترول

از بدن را زیاد می‌نماید (24). از نظر فیزیولوژیکی، دلیل افزایش مقدار HDL-C پلاسمایی، افزایش تولید HDL کبدی و تغییر فعالیت آنزیم‌های مختلف مانند افزایش فعالیت LCAT، LPL و کاهش فعالیت لیپاز کبدی، به دنبال انجام فعالیت ورزشی است (25). در واقع فعالیت ورزشی با افزایش این آنزیم‌ها می‌تواند منجر به افزایش گیرنده‌های کبدی کلسترول (ABCG1) می‌شوند. البته نتایج نشان داد زمانی که ایسکمی ایجاد می‌شود میزان این گیرنده‌ها کاهش می‌یابد و (در صورت زنده ماندن فرد از سکت یا ایسکمی) این مساله می‌تواند اثرات زیانباری برای فرد داشته باشد. همچنین تمرینات ورزشی شدید احتمالاً از طریق تغییر در سوخت و ساز چربی و متابولیسم فسفولیپیدها، بایوژنز میتوکندریایی و... بر انتقال معکوس کلسترول موثر هستند. به نظر می‌رسد که فعالیت ورزشی تناوبی شدید می‌تواند از طریق اثر مستقیمی که بر تولید گلوکز کبدی دارد و با افزایش اکسیداسیون چربی کبد و عضله که منجر به کاهش ذخایر چربی می‌شود، حساسیت به انسولین را افزایش دهد و از طرف دیگر منجر به بهبود روند انتقال معکوس کلسترول در کبد شود (26). در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد که تمرین تناوبی شدید تاثیر معناداری بر تغییرات عوامل درگیر در انتقال معکوس کلسترول دارد. در رابطه با بیان ژن گیرنده SR-BI نتایج نشان داد که گروه تمرین تناوبی شدید + ایسکمی به نسبت سایر گروه‌ها افزایش داشته است اما این افزایش معنادار فقط نسبت به گروه شم ($P=0/028$) می‌باشد. افزایش‌های مشاهده شده در گروه‌های ایسکمی ($P=0/9$) و تمرین تناوبی شدید نسبت به گروه شم جزئی می‌باشد که از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P=0/5$). نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش رحمت‌آبادی (1396) و حسوند و همکاران (1396) موافق و همسوست (27، 10) و با نتایج عباسعلی‌زاده و همکاران (1396) مخالف و ناهمسوست (28)، عباسعلی‌زاده و همکاران (1396) در پژوهش خود به این جمع‌بندی رسیدند که نتایج حاصل از وسترن بلات بیانگر کاهش

را افزایش می‌دهد (29). در واقع نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که تمرینات ورزشی به افزایش بیان ژن عوامل درگیر در بایوژنز میتوکندریایی منجر می‌شود (30). تغییرات سطح کلسترول می‌تواند در پی دریافت داروهای کاهنده چربی ایجاد شود که در نتیجه می‌تواند به کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی - عروقی بیانجامد. علاوه بر درمان دارویی، اصلاح الگوی زندگی، رژیم غذایی و استفاده از تمرینات و ورزش‌های منظم نیز می‌تواند تأثیرات بسزایی در کاهش عوامل مرگ و میر داشته باشد. تمرینات ورزشی از طریق افزایش بیان ژن گیرنده‌های کبدی و همچنین عامل اصلی خروج کلسترول از کبد و در نهایت گیرنده HDL می‌تواند نقش مهمی در کاهش بیماری‌های قلبی - عروقی مانند آترواسکلروزیس داشته باشد. یافته‌های این مطالعه به روشنی نشان دادند که تمرین تناوبی شدید در رت‌های ایسکمی شده سبب افزایش معنی‌دار در مراحل کلیدی روند انتقال معکوس کلسترول و در نهایت، افزایش HDL می‌شود که اثر مثبتی بر پیشگیری از بیماری تصلب شراین (آترواسکلروز) و ایسکمی دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت محترم، تمامی مسئولین و کارشناسان آزمایشگاه مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه ایران و سایر کسانی که ما را در انجام مطلوب این پژوهش یاری دادند، سپاسگزاری می‌نماییم.

بیان پروتئین SR-B1 در افراد بیمار در مقایسه با نمونه‌های کنترل بود. از دلایل احتمالی این نتایج مغایر می‌توان به نوع مداخلات مربوطه اشاره کرد. در پژوهش حاضر از مداخله فعالیت ورزشی و ایسکمی با نمونه‌های حیوانی استفاده شده است اما در پژوهش ذکر شده به بررسی بیماران قلب و عروقی پرداخته است. البته لازم به توضیح می‌باشد نتایج پژوهش حاضر در گروه ایسکمی شده، با نتایج پژوهش عباسعلی زاده و همکاران (1396) موافق و همسوست. SR-B1 می‌تواند منجر به فعال‌سازی آبشار کینازی شود. افزایش تولید مولکول‌های سیگنالینگ محافظت‌کننده آترواسکلروز، که این عمل از طریق تنظیم مجدد بیان ژن نیتریک اکساید (NOS) سنتز اندوتلیالی انجام می‌گیرد و تحریک تولید این آنزیم توسط HDL، در نتیجه فعال‌سازی آبشار کینازی به واسطه افزایش تمایل به گیرنده جاروبگر کلاس B نوع I (SR-B1) اتفاق می‌افتد (26). در پژوهش حاضر نیز در گروهی که آسیب سلولی و همزمان مداخله ورزشی دریافت داشته‌اند میزان بیان این ژن به نسبت سایر گروه‌ها افزایش داشته است. البته لازم به توضیح است که سایر مداخلات نیز منجر به افزایش گیرنده SR-B1 شده‌اند اما زمانی که مداخلات به صورت ترکیبی (ایسکمی + فعالیت ورزشی) انجام شده است منجر به بیان ژن بیش‌تر این متغیر شده است. فعالیت ورزشی با فعال‌سازی مسیر پروتئین کیناز فعال‌کننده آدنوزین مونوفسفات اکسیداسیون اسید چرب در سلول‌های عضلانی

References

- Shokrallahia AR, Sadeghi H, Shirani S, Nejatian M. Effects of Strength Training and Cardiac Rehabilitation Programs on the Biomechanical Parameters of Blood Flow Velocity and Blood Flow Rate and Its Relation With Arterial Stiffness Index in Brachial and Femoral Arteries with Coronary Artery Bypass Grafting Patients (CABG). *Journal of Rehabilitation* 2013; 14(2): 38-45 (Persian).
- Poznyak AV, Wu WK, Melnichenko AA, Wetzker R, Sukhorukov V, Markin AM. Signaling pathways and key genes involved in regulation of foam cell formation in atherosclerosis. *Cells* 2020; 9(3): 584.
- Rotllan N, Price N, Pati P, Goedeke L,

- Fernández-Hernando C. microRNAs in lipoprotein metabolism and cardiometabolic disorders. *Atherosclerosis* 2016; 246: 352-360.
4. Ono K, Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Kimura T. MicroRNAs and high-density lipoprotein cholesterol metabolism. *Int Heart J* 2015; 56(4): 365-371.
 5. Lee RB, Thomas A, Backx K, Roberts A, Webb R, Morris K. Low-intensity exercise exerts beneficial effects on plasma lipids via PPARgamma. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2008; 40(7): 1263-1270.
 6. Rosenson RS, Brewer BH, Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, et al. "Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation* 2012; 125(15): 1905-1919.
 7. Hao Y, Wang X, Zhang F, Wang M, Wang Y, Wang H, et al. Inhibition of notch enhances the anti-atherosclerotic effects of LXR agonists while reducing fatty liver development in ApoE-deficient mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2020; 406: 115211.
 8. Sato M, Kawata Y, Erami K, Ikeda I, Imaizumi K. LXR agonist increases the lymph HDL transport in rats by promoting reciprocally intestinal ABCA1 and apo AI mRNA levels. *Lipids* 2008; 43(2): 125-131.
 9. Alipour Z, Moghadasi M. Effect of eight weeks aerobic training on renal function and cardiovascular risk factors in renal transplant recipients' women. *Journal of Applied Exercise Physiology* 2018; 13(26): 105-114 (Persian).
 10. Rahmati Ahmadabad S, Shirvani H, Sobhani V. The long-term effects of intense periodic exercises and supplementation of flax seed oil on expression of genes involved in reverse cholesterol transmission in male rats. *J Med Plants* 2018; 4(64): 59-75 (Persian).
 11. Khabazian BM, Ghanbari Niaki A, Rahbarizadeh F, Hosseini Kakhak SA, Jabari noughabi M. The Effect of 6 Weeks of Endurance Training on the Expression of Hepatic ABCA1 in Male Wistar Rats. *Journal on Sport Sciences* 2008; 6:101-114 (Persian).
 12. Pinto PR, Moura Rocco DDF, Okuda LS, Machado Lima A, Castilho G, da Silva KS, et al. Aerobic exercise training enhances the in vivo cholesterol trafficking from macrophages to the liver independently of changes in the expression of genes involved in lipid flux in macrophages and aorta. *Lipids in Health and Disease* 2015; 14(1): 109.
 13. Rashidlamir A. Investigation of the Effect of Aerobic and Resistance Exercises on Peripheral Blood Mononuclear Cells ABCG1 Gene Expression in Female Athletes. *JSSU* 2012; 20(1): 1-9 (Persian).
 14. Tofighi A, Rahmani F, Jamali Qarakanlou B, Babaei S. The effect of regular aerobic exercise on reverse cholesterol transport A1 and apo lipoprotein aI gene expression in inactive women. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 2015; 17(4): 26321 (Persian).
 15. Hajighasemi A, Ravasi A, Kordi M, Rashidlamir A, Ghorghi A. Investigation of the effect of cardiac rehabilitation program on peripheral blood mononuclear cells abca1 gene expression in myocardial infarctions patient. *Journal of Knowledge & Health* 2017; 11(4): 23-29 (Persian).
 16. Boden WE. High-density lipoprotein cholesterol as an independent risk factor in cardiovascular disease: assessing the data from Framingham to the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. *Am J Cardiol* 2000; 86(12 A): 19L-22L.
 17. Crosby JR, Kaminski WE, Schatteman G, Martin PJ, Raines EW, Seifert RA, et al.

- Endothelial cells of hematopoietic origin make a significant contribution to adult blood vessel formation. *Circ Res* 2000; 87(9): 728-730.
18. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 2007; 14(6): 753-760.
 19. Wisløff U, Støylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognmo Ø, Haram PM, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. *Circulation* 2007; 115(24): 3086-3094.
 20. Zhao W, Zhao T, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y. Reactive oxygen species promote angiogenesis in the infarcted rat heart. *Int J Expe Pathol* 2009; 90(6): 621-629.
 21. Wright D, Sutherland L. Exercise increases apelin expression in white adipose tissue: 646: May 27 3: 15 PM-3: 30 PM. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2009; 41(5): 38.
 22. Ghorbanian B, Ravassi A, Kordi M R, Hedayati M. The Effects of Rope Training on Lymphocyte ABCA1 Expression, Plasma ApoA-I and HDL-c in Boy Adolescents. *Int J Endocrinol Metab* 2013; 11(2):76-81 (Persian).
 23. Sabeva NS. Regulation of abcg5 and abcg8 sterol trasporters in biliary cholesterol elimination, reverse cholesterol trasport and dyslipidemia. University of Kentucky Doctoral Dissertations; 2011.
 24. Mohammadi A, Mirzaei F, Moradi MN, Jamshidi M, Yari R, Ghasvand T, Rezaei A, Oshaghi EA. Effect of flaxseed on serum lipid profile and expression of NPC1L1, ABCG5 and ABCG8 genes in the intestine of diabetic rat. *Avicenna J Med Biochem* 2013; 1(1): 1-6 (Persian).
 25. Wood PD, Stefanick ML, Williams PT, Haskell WL. The effects on plasma lipoproteins of a prudent weight-reducing diet, with or without exercise, in overweight men and women. *N Engl J Med* 1991; 325(7): 461-466.
 26. Lee WJ, Kim M, Park HS, Sik Kim H, Jeon MJ, Oh KS, et al. AMPK activation increases fatty acid oxidation in skeletal muscle by activating PPAR α and PGC-1. *Biochemical and biophysical research communications* 2006; 340(1): 291-295.
 27. Hasanvand B, Soori R, Choobine S, Akbarnejed A. The effect of eight weeks of high intensity interval training on gene expression of liver X receptors (LXR) in Wistar male rats. *Yafte* 2017; 19(4): 11-21 (Persian).
 28. Abasalizadeh M, Nehzati P, Allahbakhshian M, Hamidpour M, Khadem Mabudi AA, Tabatabaie MR. The detection of Scavenger Receptor-B1 expression and its role on the function of platelets in patients with atherosclerotic disease. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2017; 14(2): 92-100 (Persian).
 29. Cantó C, Auwerx J. PGC-1 α , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Current Opinion in Lipidology* 2009; 20(2): 98-105.
 30. Gibala MJ, Little PJ, Essen MV, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *The Journal of Physiology* 2006; 575(3): 901-911.