



مقایسه اثر شدت‌های مختلف تمرين هوازی بر بیان فاکتورهای رونویسی E2F1 و E2F4 در بافت کبد موش‌های صحرایی نژاد ویستار

علی برزگری: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) ali_barzegari@pnu.ac.ir

سودا کازری: کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

محمد شریعت‌زاده جنبیدی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، پژوهشگاه علوم ورزشی، تهران، ایران

زینب سلطنتی نیری: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

محمد رضا علیزاده میراشrafی: کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، اردبیل، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرين با شدت متوسط،

تمرين پرشدت،

تمرين تابوبی پرشدت،

E2F1

E2F4

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۰۹

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۰۱/۱۴

زمینه و هدف: هدف این تحقیق بررسی تأثیر سه شیوه‌ی تمرينات HIT، MIT، HIIT بر بیان ژن‌های E2F1 و E2F4 در بافت کبد رت‌های نر نژاد ویستار بود.

روش کار: بدین منظور ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین سنی ۸ هفته و وزن ۳۳ ± ۲۷ گرم به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل (CO)، تمرين با شدت متوسط (MIT)، تمرين پرشدت (HIT)، تمرين تابوبی پرشدت (HIIT) تقسیم شدند و مقادیر بیان ژن‌های E2F1 و E2F4 در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن E2F1 در بافت کبد رت‌های نر ویستار میان گروه HIT نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد. ضمناً اختلاف معنی‌داری میان گروه های MIT و کنترل مشاهده شد ($P = 0.003$). مقایسه بین گروهی با آزمون تعقیس نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان گروه‌های HIT و گروه‌های MIT و کنترل وجود ندارد (به ترتیب $P = 0.917$ ، $P = 0.977$ و $P = 0.977$). بررسی آزمون تعقیسی در گروه‌های تمرينی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان ژن E2F4 میان گروه‌های MIT و گروه‌های HIT و کنترل وجود ندارد (به ترتیب $P = 0.202$ ، $P = 0.721$ ، $P = 0.777$ و $P = 0.022$). از سویی دیگر تفاوت معنی‌داری بین گروه HIT نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (به ترتیب $P = 0.022$).

نتیجه‌گیری: به طور کلی نتایج نشان داد که بین ۳ شیوه HIT، MIT و HIIT بر بیان ژن E2F1 و E2F4 در بافت کبد رت‌های نر نژاد ویستار تفاوت معناداری وجود ندارد. ولیکن بین گروه‌های تمرينی با کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Barzegari A, Kazari S, Shariatzadeh Joneydi M, Satvati Niri Z, Alizadeh Mirashrafi MR. Comparison of the Effect of Different Intensities of Aerobic Exercise on the Expression of Transcription Factors E2F1 and E2F4 in Liver Tissue of Wistar Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(1):48-59.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

Comparison of the Effect of Different Intensities of Aerobic Exercise on the Expression of Transcription Factors E2F1 and E2F4 in Liver Tissue of Wistar Rats

Ali Barzegari: Assistant Professor, Department of physical education, Payame Noor University, Tehran, Iran
(*Corresponding author) ali_barzegari@pnu.ac.ir

Soda Kazari: MA, Department of physical education, Payame Noor University, Tehran, Iran

Mohammad Shariatzadeh Joneydi: Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Institute of Sport Sciences, Tehran, Iran

Zeinab Satvati Niri: Department of physical education, Payame Noor University, Tehran, Iran

Mohammad Reza Alizadeh Mirashrafi: MA, Department of Exercise Physiology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

Abstract

Background & Aims: The liver is one of the main and major organs of the body, which with the help of various enzymes is of special importance in regulating hormonal activities and metabolism, during rest, training, and returning to the original state of sports activities. Under normal circumstances, the liver and kidneys receive 27% and 22% of circulating blood, respectively, but as a result of heavy training, the blood flow to the liver and kidneys decreases to 5% and 3%, respectively. Prolonged reduction in blood flow to the liver and kidneys may have detrimental consequences, of which fatigue observed as a result of the constant sub-maximal activity is part of it. The liver is also one of the most sensitive tissues targeted by training-induced oxidative stress. Sports science coaches and professionals are working to find ways to reduce the effects of strenuous training and increase the effectiveness of training programs over a limited period. The liver has different functions in the body and different roles are considered for it. Metabolism, control of glycolysis, glycogenesis, and lipogenesis are the main functions of liver tissue. Many factors and proteins play a role in these processes, and two factors have recently been identified called E2F1 and E2F4.

Methods: The present study was approved by the ethics committee of Payame Noor University with the code IR.PNU.REC.1398.059. In terms of purpose, it is fundamental-applied, which was implemented experimentally. In the present study, 32 8-week-old male Wistar rats with an average weight of 237 ± 33 g were purchased from the Pasteur Institute. After being transferred to the animal laboratory environment, these animals are housed in transparent polycarbonate cages in an environment with a temperature of 22 ± 1.4 °C, the humidity of 45 to 55%, four heads in each cage with free access to water and closed. Foods were maintained according to a 12-hour sleep-wake cycle. Animals were randomly divided into 5 groups: control group (Co) (8 heads), moderate intensity training (MIT) (8 heads), high-intensity training (HIT) (8 heads), and high-intensity interval training (HIIT) (8 heads) were divided.

The MIT protocol was performed in such a way that in the first week, 5 minutes of warm-up, 5 minutes of cooling, and 20 minutes of the main body of the exercise, including running at 65% VO₂max at a speed of 20 m/min, was added to the training time every week. In the sixth week, the training time reached 37 minutes and remained constant until the end of the eighth. Also, the training speed was unchanged from the first week to the eighth week and was equal to 20 meters per minute.

The HIT protocol in the first week included: 5 minutes of warm-up, 5 minutes of cooling, and 20 minutes of running training with 65% VO₂max at a speed of 20 m/min and an increasing slope of the treadmill. The training time was increased every week, so that in the

Keywords

Moderate-Intensity

Training,

High-Intensity Training,

High-Intensity Interval

Training,

E2F1,

E2F4

Received: 29/01/2022

Published: 03/04/2022

sixth week the training time reached 30 minutes and remained constant until the end of the eighth. On the other hand, the slope of the strip was 2% in the first and second weeks and 2% was added to the slope every 2 weeks to reach 8% in the seventh and eighth weeks. Also, the training speed from the first week to the eighth week was 20 meters per minute and was kept constant.

The HIIT protocol also included 10 minutes of warm-up before the workout, in the first to fourth weeks including 3 intense intermittent runs with an intensity of 90 to 100% VO₂max and a speed of 30 meters per minute in 4 minutes and 3 low-intensity intermittent runs. With 50 to 60% VO₂max and at a speed of 20 meters per minute in 3 minutes. From the fifth to the eighth week, it also includes 4 intense intermittent runs with an intensity of 90 to 100% VO₂max at a speed of 30 meters per minute in 4 minutes and 3 low-intensity intermittent runs with 50 to 60% VO₂max at a speed of 20 meters per minute. It took 3 minutes. The main body time of the exercise was 28 minutes per repetition. Mice in the control group did not participate in any exercise program but were placed on a stationary treadmill for 10 to 15 minutes per session to adapt to the environment to create the same conditions.

After *in vitro* analysis of the samples, descriptive statistics including standard mean and standard deviation and inferential statistics were used to quantitatively describe the data. First, the Shapiro-vilk test was used to determine the normality of data distribution, and the Leven test was used to determine the homogeneity of variance. Due to the normal distribution of data, parametric tests including one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used at a significance level of $p \geq 0.05$.

Results: The results showed that there was a significant difference in the expression of the E2F1 gene in the liver tissue of male Wistar rats between the HIT group compared to the control group. There was also a significant difference between MIT and control groups ($P = 0.003$). Comparison between groups with post hoc test showed that there was no significant difference between HIT groups and MIT, HIIT, and control groups ($P = 0.977$, $P = 0.917$, $P = 0.093$, respectively). Post hoc tests in training groups showed that there was no significant difference in E2F4 gene expression between MIT and HIT, HIIT, and control groups ($P = 0.977$, $P = 0.721$, $P = 0.202$, respectively). On the other hand, a significant difference was observed between the HIIT group and the control group ($P = 0.022$, respectively).

Conclusion: In general, the results showed that there was no significant difference between IT MIT, HIT, and HIIT methods on E2F1 and E2F4 gene expression in liver tissue of male Wistar rats. However, there is a significant difference between training groups with control of differences.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Barzegari A, Kazari S, Shariatzadeh Joneydi M, Satvati Niri Z, Alizadeh Mirashrafi MR. Comparison of the Effect of Different Intensities of Aerobic Exercise on the Expression of Transcription Factors E2F1 and E2F4 in Liver Tissue of Wistar Rats. *Razi J Med Sci*. 2022;29(1):48-59.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

بيان اين پروتئين در پاسخ به تغذيه و تحريك انسولين از طريق فعال سازی مسیر CDK4/PRB افزایش می يابد (۱۲). حذف اين زن در بيماران کبدی مدل های مختلف بيماري در کبد را کاهش داده است. مطالعات ديگر نشان داد که اين فاكتور در تنظيم سنتز ليبيدها و گلیکوليزي کمک می کند و در نتيجه به پاتولوژي کبد نيز کمک می کند. به تازگی يکی از نقش های E2F1 را در تنظيم ترشح انسولين ناشی از گلوکز در سلول های بتای پانکراس مشخص کرده اند (۱۳). همچنین در تنظيم مقادير متابوليسم بافت چربی از طريق رونويسی از عامل اصلی PPAR در مراحل اولیه آديپوزنر نقش ايفا می کند. اين فاكتور در توالي متابوليک سایر بافت ها مثل بافت عضلانی و بافت چربی قهقهه ای مؤثر است (۱۴). مطالعات ديگری به نقش اين فاكتور در کنترل هموستاز گلوکز اشاره می کند. اين زن در تکثیر سلولی آنزيم های مسیر گلیکوليزي مثل فروکتوز ۱ و ۶ دی فسفاتاز به عنوان يك زن هدف نقش دارد. اين زن در هموستاز کلسترون و گلوکز هم نقش ايفا می کند. عملکرد اين فاكتور در متابوليسم کبد چند سالی است مورد بررسی و تحقيق قرار گرفته است (۱۵). در زمان ناشتاپي کبد به عنوان يك منبع پايدار، انرژي را برای بدن از طريق فعال کردن مسیر های گلیکورونوليزي و گلیكونوزنر نقش اساسی بازي می کند. در صورتی که در زمان مصرف غذا، گلوکز وارد کبد شده و به سرعت به بازسازی گلیکوژن های مصرفی اقدام می کند (۱۶). افزایش غلظت گلوکز در کبد باعث تبدیل ان به تری گلیسرید از طريق مسیر های لیپوزنیک در کبد می شود. زن E2F1 جهت کنترل هموميopoاتي متابوليک در کبد از طريق مسیر های گلیکوزنیک و لیپوزنیک ضروري است و کمبود اين عامل باعث کاهش عوارض در بيماران کبدی ناشی از چاقی و ديابت می شود و بيان E2F1 در کبد افراد چاق به طور قابل توجه افزایش می يابد (۱۷). از سوی ديگر افزایش E2F4 ممکن است به بهبود حساسیت به انسولین در بيماران ديابتی نوع ۲ منجر شود (۱۸). اين فاكتور در کنترل چرخه سلولی و همچنین آديپوزنر نقش ايفا می کند (۱۹). در مطالعاتي به نقش اين فاكتور در فرآيند رونويسی اشاره شده است. بيان بيش از حد اين پروتئين می تواند در بدن اثرات نکتين را خنثی کند. نکتين پروتئينی است که در

مقدمه

کبد مهم ترین بافت بدنی در متابوليسم و دفع سوموم است. تجمع چربی در کبد موجب ايجاد بيماري کبد چرب می شود و بيماري های مزمن کبدی می تواند عامل اصلی کبد چرب باشد (۱). بسياری از محققان تلاش می کنند تعداد زيادي از بيماركرهای جديد را شناسايي و معرفی کنند، زيرا پيش بینی خطر کبد چرب می تواند به ارزیابی و استراتژی های درمانی کمک کند (۲). تكنیک های بالینی مختلفی برای تشخيص کبد چرب غير الكلی وجود دارد که اغلب گران بوده و در دسترس نمی باشند (۳). کبد حاوي هزاران آنزيم است که وظایف مختلفی بر عهده دارند. نقش کبد به منزله يك اندام در زمان ورزش، در درجه اول شامل افزایش در تولید گلوکز و به حرکت درآمدن آن به طرف داخل خون است (۴). همچنین کبد دارای مسیر های شيميايی برای متابوليسم اسيدهای آمينه و چربی است، که در جريان کار عضلانی افزایش می يابند (۵). تولید گلوکز کبد در زمان ورزش سبک تا متوسط، برون ده گلوکز دو تا سه برابر افزایش می يابد و اين مقدار هنگام ورزش شديد به هفت تا ده برابر بيشتر از ارزش های استراحتی می رسد (۶). بيماري کبد چرب، نوعی تجمع چربی در سلول های کبدی است که در صورت عدم کنترل، روندی بد خيم را به سمت فيبروز شدن بافت کبد و تخريب سلولی آن طی می کند (۷).

کبد در بدن اعمال متفاوتی دارد و نقش های مختلفی را برای آن در نظر می گيرند. متابوليسم مواد، کنترل فرآيندهای گلیکوليزي، گلیکورونوليزي و لیپوزنر از عملکردهای اصلی بافت کبد به شمار می رود (۸). در اين فرآيندها عوامل و پروتئين های زيادي نقش بازي می کنند که به تازگی دو فاكتور به نام های E2F1 و E4 شناسايي شده اند (۹). فاكتور E2F1 تنظيم کننده چرخه سلولی، تکثیر، آپوبتوز و تمایز سلولی است. اين فاكتور نقش مهمی در فيزيولوژي کبد از طريق تنظيم گلیکوليزي و لیپوزنر دارد (۱۰). مطالعات نشان داده اند کمبود اين فاكتور منجر به کاهش گلیکوليزي و سنتز اسيدهای چرب در کبد می شود. E2F1 به طور مستقيم به زن های ملکول اصلی مسیر لیپوزنیک متصل و به طور غير مستقيم به زن های مولکول های مسیر گلیکوليزي متصل و آن ها را رمزگذاري می کند (۱۱). در سلول های حيواني

ویستار تفاوتی وجود دارد؟

روش کار

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود، بدین منظور ۳۲ سرموش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۳۷ ± ۳۳ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. این حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه جانوری، به صورت گروه‌های ۴ سرموش در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای $۱/۴ \pm ۲/۲$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ تا ۴۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه شامل: گروه کنترل (Co) (۸ سر)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MIT: Moderate-intensity training) (۸ سر)، تمرین تداومی شدید (HIT: High-intensity training) (۸ سر) و تمرین تناوبی شدید (HIIT) (۸ سر) تقسیم شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی (Helsinki) و ضوابط اخلاق پژوهشی انجام شد. همچنین این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه پیامنور با کد IR.PNU.REC.1398.059 تأیید گردید.

طی دوره تحقیق، غذای ساخت شرکت بهپرور به صورت پلت و با توجه به وزن‌کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوانات قرار داده شد. آب موردنیاز حیوانات نیز به صورت آزاد در دسترس قرار داده شد.

پروتکل‌های تمرین: به منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوار گردان، حیوانات به مدت ۲ هفته، ۵ روز در هر هفته و در هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان دویدند. حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوار گردان و به طور غیرمستقیم ارزیابی شد (۲۳). جزئیات نحوه اجرای پروتکل‌های تمرینی در جدول ۱ آورده شده است.

پروتکل MIT بدین صورت اجرا شد که در هفته اول ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه بدنی اصلی تمرین شامل دویدن با شدت ۶۵ درصد

تمایز سلولی سلول‌های آدیپوسیت نقش بازی می‌کند. کاهش E2F4 و افزایش بیان نکتین در انسان به احتمال زیاد نشان‌دهنده عوارض بیماری دیابت نوع ۲ است (Zhou, ۲۰۲۰). همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه خود بیان کردند که مولکول E2F1 به عنوان یک تنظیم‌کننده فعالیت‌های متابولیکی بدن بعد از ورزش عمل می‌کند (Hsu, ۲۰۱۸). همکاران (Denechaud, ۲۰۱۴) در مطالعه خود اظهار داشتند که E2F4 نقش مهمی در رونویسی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و کنترل میزان این فاکتور می‌تواند در کاهش شرایط التهابی مؤثر باشد (Denechaud, ۲۰۱۴). در مطالعه دنچاد (Denechaud, ۲۰۱۴) با عنوان نقش E2F1 در پاسخ‌های اینمی سیستم‌های رونویسی به این نتایج رسید که مولکول E2F1 در پاسخ‌های التهابی از طریق اعمال اثر بر مولکول‌های نسخه‌برداری مسیر سیگنالینگ التهابی مؤثر است (Saito, ۲۰۱۷). تجمع چربی هم از دیگر نشانه‌های کاهش این فاکتور است. مطالعات اندکی بیان می‌کند بیماران دیابتی که در معرض درمان قرار گرفته‌اند از طریق اثرات در کنترل چرخه سلولی و تمایز آدیپوسیت باعث افزایش تعداد آدیپوسیت‌های کوچک و منفاوت می‌شود که حساسیت بیشتری به انسولین دارند؛ علاوه بر این خانواده این پروتئین‌ها ممکن است فرست جدیدی برای درمان مقاومت به انسولین در بیماران دیابت نوع ۲ را فراهم کند (Denechaud, ۲۰۱۴). نقش فعالیت بدنی منظم در کنترل چاقی و دیابت سال‌ها مورد توجه پزشکان و متخصصان فیزیولوژی ورزش بوده است و به عنوان یک مداخله مؤثر در تنظیم فرآیندهای متابولیکی به اثبات رسیده است. با توجه به اینکه فعالیت‌های ورزشی بر مسیرهای متابولیکی تأثیرات مستقیم داشته و همچنین در بهبود روند بیماری‌های سندروم متابولیک مؤثر است لذا به احتمال زیاد می‌تواند در بیان پروتئین‌های دخیل در این جریان مؤثر باشد. از آنجایی که مطالعات مربوط به تأثیر تمرین‌های تناوبی بر سازگاری ژن‌های E2F1 و E2F4 محدود است و همچنین طبق بررسی مشخص می‌شود که اثر این ژن‌ها با رویکرد تمرینی تناوبی با شدت‌های مختلف بررسی نشده است. لذا سؤال تحقیق حاضر این می‌باشد که آیا بین تأثیر سه شیوه تمرینی با شدت مختلف بر بیان ژنی دو فاکتور E2F1 و E2F4 بافت کبد رت‌های نر نژاد

میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و بعد از عمل جراحی قفسه سینه، بافت چربی زیرپوستی جدا شده و در میکروتیوب‌های مخصوص در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس برای نگهداری به فریزر دمای ۷۰-درجه سانتی‌گراد منتقل شد. کیت سنتز cDNA توسط Thermo Scientific K1622 که با شماره کاتالوگ ۱۶۲۲ تولید شده است، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج RNA و cDNA، حدود ۵۰ میلی‌گرم میلی‌گرم از بافت کبد رت‌ها به صورت جداگانه جهت استخراج RNA به نسبت ۱ به ۱۲ در

QIAzol Reagent Lysis

تعیین بیان ژن‌های E2F1 و E2F4 به روش-real time PCR واکنش Real-Time PCR در دستگاه ای‌بی‌آی (ABA) ساخت کشور آمریکا انجام شد. درون هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای، مخلوطی به حجم ۲۵ میکرولیتر متشكل از ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط اصلی سایبرگرین مستر میکس (SYBR green master mix)، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن، ۴ میکرولیتر از DNA ژنومی و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطّر تهیه شد. برنامه زمانی و دمایی واکنش انجام شده در دستگاه real-time PCR مدل ABI در سه مرحله عبارت بود از: مرحله اول در یک چرخه به منظور فعال سازی آنزیم پلیمراز و دنا توره اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه؛ مرحله دوم به ۹۵ درجه متناوب در طول ۴۰ چرخه با دمای ۱۵ ثانیه و درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد. در مرحله سوم به منظور رسم منحنی تفکیک، برنامه دمایی مورد استفاده شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه بود. در این مرحله، کاهش دما از ۹۵ درجه سانتی‌گراد به ۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۰/۰۳ درجه سانتی-گراد بر ثانیه انجام شد و حدوداً ۲۰ دقیقه طول کشید. پس از اتمام مرحله سوم، منحنی‌های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم‌افزار ABI SDS تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت $\Delta\Delta Ct$ برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر مورد، $2^{-\Delta\Delta Ct}$ به

VO_{2max} با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه انجام شد و به صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد، به طوری که در هفته ششم زمان تمرین به ۳۷ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم بدون تغییر بوده و معادل ۲۰ متر بر دقیقه بود (۲۴).

پروتکل HIT در هفته اول، شامل: ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه تمرین دویدن با ۶۵ درصد VO_{2max} با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و با شبی فرازینده نوارگردان بود. به صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد، به طوری که در هفته ششم زمان تمرین به ۳۰ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. از سوی دیگر، شبی نوارگردان در هفته اول و دوم ۲ درصد بود و هر ۲ هفته ۲ درصد به شبی افزوده شد تا در هفته هفتم و هشتم به ۸ درصد برسد. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم نیز ۲۰ متر بر دقیقه بود و ثابت نگه داشته شد (۲۴).

پروتکل HIIT نیز شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن قبل از انجام تمرین بود، در هفته اول تا چهارم شامل ۳ وله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_{2max} و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وله دویدن تناوبی کم شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود. از هفته پنجم تا هشتم نیز شامل ۴ وله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_{2max} و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وله دویدن تناوبی کم شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود (۲۴).

زمان بدنه اصلی تمرین در هر تکرار به مدت ۲۸ دقیقه بود. موشهای گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی‌حرکت قرار داده شدند.

نحوه نمونه‌برداری-بافتی: جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتابمین (۵۰-۳۰)

جدول ۱ - جزئیات پروتکل برنامه تمرین ۸ هفته‌ای برای گروههای مختلف تحقیق

| گروه MIT | | | گروه HIT | | | گروه HIIT | | | هفت | |
|----------|-------------|-----|----------|-------------|-----|-----------|-------------------|-------------------|-------|---|
| زمان | سرعت | شیب | زمان | سرعت | شیب | زمان | سرعت در تناوب دوم | سرعت در تناوب اول | تکرار | |
| (دقیقه) | (متر/دقیقه) | (%) | (دقیقه) | (متر/دقیقه) | (%) | (دقیقه) | (متر/دقیقه) | (متر/دقیقه) | | |
| ۲۰ | ۲۰ | %۲ | ۲۰ | ۲۰ | %۲ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳ | ۱ |
| ۲۲ | ۲۰ | %۲ | ۲۲ | ۲۰ | %۴ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳ | ۲ |
| ۲۵ | ۲۰ | %۴ | ۲۵ | ۲۰ | %۴ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳ | ۳ |
| ۲۵ | ۲۰ | %۴ | ۲۵ | ۲۰ | %۶ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳ | ۴ |
| ۳۰ | ۲۰ | %۶ | ۲۵ | ۲۰ | %۶ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۴ | ۵ |
| ۳۷ | ۲۰ | %۶ | ۳۰ | ۲۰ | %۸ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۴ | ۶ |
| ۳۷ | ۲۰ | %۸ | ۳۰ | ۲۰ | %۸ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۴ | ۷ |
| ۳۷ | ۲۰ | %۸ | ۳۰ | ۲۰ | %۸ | ۲۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۴ | ۸ |

صرای گروههای مختلف تحقیق را نشان می‌دهد. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت معناداری در وزن موش‌های گروههای مختلف تحقیق وجود ندارد ($p=0.91$).

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بیان ژن E2F1 در بافت کبد رت‌های گروههای تحقیق، تفاوت آماری معناداری وجود دارد ($P<0.01$). نتایج آزمون توکی در شکل شماره ۱ نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن E2F1 در بافت کبد رت‌های نر ویستار میان گروه HIT نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P=0.01$ ، به طوری که در گروه HIT به میزان 439 ± 0.000391 در گروه HIT به میزان 400 ± 0.000391 واحد نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است. با این حال میان گروه HIT و گروههای MIT و HIIT تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (به ترتیب $P=0.962$ و $P=0.962$ ، $P=0.962$ و $P=0.962$). ضمناً اختلاف معنی‌داری میان گروه‌های MIT و کنترل مشاهده شد ($P=0.003$ ، به طوری که در گروه MIT به میزان 400 ± 0.000391 واحد نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است. در حالی که تفاوت معنی‌داری میان گروه MIT نسبت به گروههای HIT و HIIT مشاهده نشد (به ترتیب $P=0.962$ و $P=0.962$ ، $P=0.962$ و $P=0.962$). بررسی آزمون تعقیبی در گروههای تمرینی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان ژن E2F1 میان گروه HIT نسبت به گروههای HIT و MIT وجود ندارد (به ترتیب $P=0.504$ و $P=0.504$ ، $P=0.504$ و $P=0.504$).

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بیان ژن E2F4 در بافت کبد رت‌های گروههای

دست آمد. علاوه بر این، در این آزمایش تجزیه و تحلیل منحنی ذوب جهت اطمینان از ویژگی محصول PCR انجام شد. در ابتدا توالی mRNA مربوط به ژن‌های E2F1 و E2F4 از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرهای با استفاده از نرم‌افزار AllelID و توسط شرکت CinnaGen ساخته شده و پس از آن هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST مورد ارزیابی قرار گرفت تا از قرارگیری جفتی پرایمرهای اطمینان حاصل شود. در این تحقیق، ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه منظور گردید، به طوری که دمای هر چرخه برای ۱۵ ثانیه تا 94°C درجه سانتی‌گراد و برای ۳۰ ثانیه تا 60°C درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

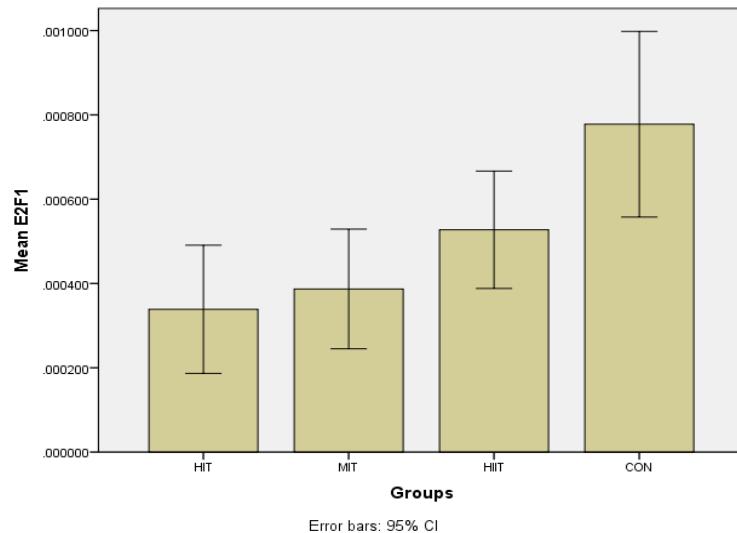
روش‌های آماری: بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها، از آزمون های پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری 0.05 استفاده شد. انجام کلیه امور آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و EXCEL انجام شد.

یافته‌ها

جدول ۲ میانگین و انحراف معیار وزن موش‌های

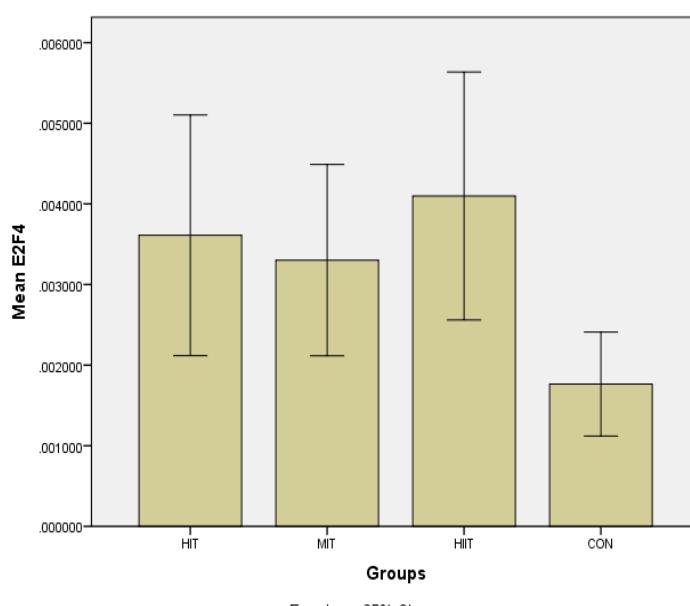
جدول ۲- میانگین و انحراف معیار وزن در گروههای مختلف تحقیق

| گروهها | CO | MIT | HIT | HIIT |
|--------------------|------------|------------|------------|------------|
| میانگین وزنی (گرم) | ۳۱۲/۸±۲۵/۸ | ۳۱۳/۷±۲۸/۶ | ۳۱۰/۳±۳۱/۴ | ۲۹۵/۶±۲۷/۲ |



شکل ۱- تغییرات بیان ژن E2F1 در بافت کبد رت‌های نر ویستار در گروههای پژوهش

گروه HIIT: تمرین هوایی تناوبی شدید، گروه HIT: تمرین هوایی تداومی شدید، گروه MIT: تمرین هوایی تداومی با شدت متوسط، گروه CO: کنترل.



شکل ۲- تغییرات بیان ژن E2F4 در بافت کبد رت‌های نر ویستار

تحقیقی در گروههای تمرینی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان ژن E2F4 میان گروههای MIT و گروههای HIT، HIT و کنترل وجود ندارد (به ترتیب نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان گروههای HIT و گروههای MIT، HIT و کنترل وجود ندارد (به ترتیب از سویی دیگر اختلاف معنی‌داری در بیان ژن E2F4 میان گروه HIT و

تحقيق، تفاوت آماری معناداری وجود دارد ($P < 0.001$). مقایسه بین گروهی با آزمون تعقیبی در شکل شماره ۲ نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان گروههای HIT و گروههای MIT، HIT و کنترل وجود ندارد (به ترتیب از سویی دیگر اختلاف معنی‌داری در بیان ژن E2F4 میان گروه HIT و

E2F1 گردد (۲۷). گیرنده‌های ER- α زیر خانواده گیرنده‌های استروئیدی هستند که بر روی هسته قرار دارند. B17 استرادیول به عنوان مناسب ترین لیگاند این گیرنده‌ها به حساب می‌رود. این در حالی است که سایر ترکیبات که از لحاظ ساختاری شبیه به B17 استروژن هستند نیز می‌توانند با استروژن رقابت نموده و به این گیرنده‌ها متصل شوند. این گیرنده‌ها در غیاب ترکیبات استروژنیک به فرم غیر فعال دیده می‌شوند و در صورت اتصال لیگاند به این گیرنده‌ها فرایнд همودیمریزه شدن در آنها ایجاد می‌شود که در نهایت از چاپرون‌های خود جدا شده و بر روی DNA ای ژنوم سلول هدف بیان ژن مشخصی را القاء می‌نمایند (۲۸). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که استرادیول طبیعی می‌تواند سیکل تقسیم سلولی را تنظیم نماید. زیرا که سنتر پروتئین‌های تنظیم‌کننده میتوز در سلول بالاخص در فازهای G1 و S به میزان زیادی به سطح استرادیول سرمی وابسته می‌باشد. اولین ژنی که با تحریک استرادیول بیان می‌شود پروتاونکوزن C-myc می‌باشد که بیان پروتئین‌های وابسته به Cyclin را افزایش می‌دهد. این فاز به نوبه خود فازهای مختلف تقسیم میتوزی را کنترل می‌نماید. ترکیبات آگونیست گیرنده‌های استروژنی می‌تواند بیان E2F1 را افزایش دهد که به نوبه خود قادر خواهد بود تا فازهای تقسیم سلولی را تحت شعاع قرار دهدند (۲۵). نکته اخیر از این لحاظ مهم می‌باشد که افزایش تقسیم سلولی در سلول‌های ژرمینال قادر خواهد بود تا روند تقسیم طبیعی را به سمت توموری شدن هدایت نماید. مکانیسمی که E2F1 می‌تواند با کاهش بیان مهارکننده‌های تولید Cyclin D1 مانند P21 و P27 القا نماید (۲۸). E2F1 به عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های سیکل سلولی که در کنترل آپوپتوز نقش دارد. این نکته به خوبی مشخص گردیده است که بیان E2F1 بیش از حد E2F1 سبب افزایش آپوپتوز سلول‌ها می‌شود. این در حالی است که کاهش در بیان ژن E2F1 قادر است تا روند آپوپتوز را با بالا بردن میزان بیان تحریک کننده‌های آپوپتوزی و یا با القاء تغییر در فعالیت تنظیم‌کننده فازهای تقسیم سلولی افزایش دهد (۱۷). با توجه به اینکه آپوپتوز وابسته به E2F1 اغلب بعد از آسیب غیر قابل جبران DNA آغاز می‌شود، می‌توان گفت افزایش قابل توجه در آسیب واردہ به DNA در

گروه‌های HIT و MIT وجود ندارد (به ترتیب ۰/۹۱۷، P=۰/۷۲۱) با این حال تفاوت معنی‌داری بین گروه HIIT نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (به ترتیب ۰/۰۲۲، P=۰/۰۲۰). به طوری که در گروه HIT به میزان ۰/۰۰۲۳۴ واحد نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است.

بحث

براساس یافته‌های حاصل از تحقیق ما مشخص شد که که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن E2F1 در بافت HIT و MIT گروه‌های نر ویستار میان گروه‌های HIT و MIT نسبت به گروه HIIT وجود ندارد. در حالی که میان گروه‌های HIIT و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۰۱). فاکتور رونویسی E2F1 یک پروتئین است که در انسان توسط ژن «E2F1» گُددگاری می‌شود و عضوی از خانواده بزرگ پروتئین‌های E2F است. این پروتئین‌ها، فاکتورهای رونویسی هستند و نقش مهم و حساسی در کنترل چرخه سلول و عملکرد ژن سرکوب‌گر تومور دارند. پروتئین E2F1 ترجیحاً به شیوه وابسته به چرخه سلول، به پروتئین رتینوبلاستوما متصل می‌شود (۲۵). علاوه بر آن، این پروتئین رشد سلولی و همچنین به عنوان یکی دیگر از ژن‌های کنترل کننده تقسیم سلولی به حساب می‌آید. بدین صورت که با تغییرات مربوط به بیان این ژن در بافت‌های مختلف از قبیل کبد، بیضه، در سطح وسیعی تقسیمات سلولی سلول‌ها دچار تغییر می‌گردد (۱۷). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که می‌تواند روند آپوپتوز سلولی را در سلول‌های بافت‌های مختلفی را کنترل و مهار کند. با افزایش بیان این ژن در بافت کبد و حتی ریه و یا بیضه بدلیل آسیب‌های وارد شده بر DNA می‌سلولی ممکن است بتواند با همکاری و واسطه با پروتئین کینازهای وابسته به Cyclin روند آپوپتوز را القاء کند (۲۶). البته قبل ذکر است که میزان بیان این ژن به تحریک گیرنده‌های استروژنی ارتباط دارد و اثرات بیان ژن E2F1 به همراه پروتئین‌های کینازی وابسته به Cyclin‌ها در سلول‌ها اتفاق می‌افتد لذا فعالیت بدنی با توجه به خاصیت تحریک استرژن‌ها در بدن می‌تواند در سطح قابل توجهی گیرنده‌های استروژنی را تحریک کرده و به نوبه‌ی خود منجر به تغییر میزان بیان ژن

توانایی اتصال به DNA به توالی حفاظت شده TTTCCCCGC متصل می‌شود. رونوشت این پروتئین بعد از خروج از هسته و ترجمه در سیتوپلاسم دچار فسفوریلیشن و متیلیشن می‌شود و دوباره به هسته بر می‌گردد و در آنجا تغییرات صورت گرفته باعث پایداری این ملکول در هسته می‌شود تا اتصال پایداری که باعث تنظیم حدود ۳۰ درصد از زن‌های بدن می‌شود که در نهایت توقف چرخه سلولی و تغییرات تمایزی را شامل می‌شود. طی تیمارهایی که در آن تنفس زیادی به سلول وارد می‌شود چرخه سلولی مهار شده و مسیرهای ژنتیکی در جهت عکس استراحت عمل می‌کنند (۲۹). این تغییرات بر روی زن E2F4 باعث افزایش آن نسبت به کنترل می‌شود که در نتیجه باعث مهار چرخه سلولی و ورود به فاز آرامش می‌شود (۲۵).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مشاهده شده در این تحقیق مشخص شده است که اجرای فعالیت بدنی منظم به خصوص تمرینات تناوبی با شدت‌های مختلف باعث عملکرد بهتر بافت کبد و رشد عضله اسکلتی می‌شود لذا توصیه می‌شود که ین تحقیق بر روی نمونه انسانی صورت گیرد تا از نتایج حاصل از آن بتوان برای بهبود عملکرد بافت کبد استفاده نمود. به طور کلی نتایج نشان داد که بین ۳ شیوه MIT، HIT و HIIT بر بیان زن E2F1 و E2F4 در بافت کبد رت‌های نر نژاد و بستار تفاوت معناداری وجود ندارد. ولیکن بین گروه‌های تمرینی با کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه پیام‌نور مرکز کرج حاصل شده است و بدین وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه که ما را در اجرای این طرح یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- Aamann L, Dam G, Borre M, Driljevic-Nielsen A, Overgaard K, Andersen H, et al. Resistance training increases muscle strength and muscle size in

گروه‌هایی که تمرینی را دریافت کرده بودند منجر به افزایش بیان E2F1 می‌شود. با تکیه بر این مطالب می‌توان نتیجه گرفت که تمرین در با شدت شدید باعث افزایش آسیب وارد به DNA می‌شود که آن نیز به نوبه خود منجر به افزایش بیان E2F1 می‌شود (۱۵). این اثر مشابه حالتی است که B17 استرادیول نشان می‌دهد. بنابراین بیان بیش از حد E2F1 باعث افزایش آپوپتوز می‌شود، در حالی که در بالا و پایین تمرین، کاهش بیان E2F1 منجر به آپوپتوز شدید می‌شود. بنابراین تمرین می‌تواند در شدت‌های متفاوت اثرات ضد و نقیضی داشته باشد. E2F1 بعد از ترجمه می‌تواند از طریق فسفریلاسیون و استیلاسیون دچار تغییر شده و پایدارتر شود. در این راستا، می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که افزایش بیان E2F1 و تغییر در ساختار آن افزایش پایداری آن متعاقب افزایش آسیب در گروه‌های دریافت‌کننده فعالیت بدنی با شدت بالاتر است (۱۹).

همچنین نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان گروه‌های HIT و گروه‌های MIT و کنترل وجود ندارد. بررسی آزمون تعقیبی در گروه‌های تمرینی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بیان زن E2F4 میان گروه‌های HIT و گروه‌های MIT و کنترل وجود ندارد از سویی دیگر اختلاف معنی‌داری در بیان زن E2F4 میان گروه HIIT و گروه‌های HIT و MIT وجود ندارد. با این حال تفاوت معنی‌داری بین گروه HIT نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. E2F4 یکی دیگر از اعضای خانواده فاکتورهای رونویسی E2F است که نقش مهار عملکرد ژن‌های محرك رشد مثل هم‌خانواده‌های ژنتیکی ژن‌هایی را بر عهده دارد (۲۲). ژن‌های این پروتئین بر روی کروموزوم ۸ موش واقع شده است. پروتئین این ژن با اتصال به DNA باعث مهار چرخه سلولی می‌شود که با اتصال به پروتئین‌های سایکلین باعث تنظیم چرخه سلولی می‌شود یکی از پروتئین‌های مهمی که در عملکرد مهار سلولی با این پروتئین همکاری می‌کند RB پروتئین رتینوبلاستوم است که نقش مهمی در حفاظت از چکنچینت‌های چرخه سلولی را به سلول‌های بدن می‌دهد (۲۱). این پروتئین شامل چندین زیرزنجیره حفظ شده طی تکامل می‌باشد که

- patients with liver cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020 May;18(5):1179-1187. e6.
2. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. *Eur J Sport Sci.* 2019 Aug;19(7):994-1003.
 3. Morkane CM, Kearney O, Bruce DA, Melikian CN, Martin DS. An outpatient hospital-based exercise training program for patients with cirrhotic liver disease awaiting transplantation: a feasibility trial. *Transplantation.* 2020;104(1):97-103.
 4. Draz RS, Serry ZM, Rahmy AF, El Bardesi Ms, Taha MM. Electroacupuncture Versus Aerobic Interval Training on Liver Functions in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver. *J Altern Complement Med.* 2020 Jan;26(1):51-57.
 5. Smart NA, King N, McFarlane JR, Graham PL, Dieberg G. Effect of exercise training on liver function in adults who are overweight or exhibit fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med.* 2018 Jul;52(13):834-843.
 6. Guilbaud T, Birnbaum DJ, Berdah S, Farges O, Berjot LB. Learning curve in laparoscopic liver resection, educational value of simulation and training programmes: a systematic review. *World J Surg.* 2019 Nov;43(11):2710-2719.
 7. Holstege A. Erhöhte Leberwerte [Elevated liver enzymes]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2016 Oct;141(22):1640-1646.
 8. Iwanaga S, Hashida R, Takano Y, Bekki M, Nakano D, Omoto M, et al. Hybrid Training System Improves Insulin Resistance in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Controlled Pilot Study. *Tohoku J Exp Med.* 2020 Sep;252(1):23-32.
 9. Wang H, Wang X, Xu L, Zhang J, Cao H. Integrated analysis of the E2F transcription factors across cancer types. *Oncol Rep.* 2020 Apr;43(4):1133-1146.
 10. Cheng F, Su S, Zhu X, Jia X, Tian H, Zhai X, et al. Leptin promotes methionine adenosyltransferase 2A expression in hepatic stellate cells by the downregulation of E2F-4 via the β -catenin pathway. *FASEB J.* 2020 Apr;34(4):5578-5589.
 11. Lai Q, Giralt A, Le May C, Zhang L, Cariou B, Denechaud P-D, et al. E2F1 inhibits circulating cholesterol clearance by regulating Pcsk9 expression in the liver. *JCI insight.* 2017;2(10).
 12. Pan T-J, Li L-X, Zhang J-W, Yang Z-S, Shi D-M, Yang Y-K, et al. Antimetastatic effect of fucoidan-sargassum against liver cancer cell invadopodia formation via targeting integrin $\alpha v\beta 3$ and mediating $\alpha V\beta 3/Src/E2F1$ signaling. *J Cancer.* 2019 Aug 27;10(20):4777-4792.
 13. Giralt A, Denechaud P-D, Lopez-Mejia IC, Delacuisine B, Blanchet E, Bonner C, et al. E2F1 promotes hepatic gluconeogenesis and contributes to hyperglycemia during diabetes. *Mol Metab.* 2018 May;11:104-112.
 14. Yang W, Hao Y, Hou W, Fang X, Fang P, Jiang T, et al. Jieduan-Niwan Formula Reduces Liver Apoptosis in a Rat Model of Acute-on-Chronic Liver Failure by Regulating the E2F1-Mediated Intrinsic Apoptosis Pathway. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2019 Nov 11;2019:8108503.
 15. Denechaud P-D, Lopez-Mejia IC, Giralt A, Lai Q, Blanchet E, Delacuisine B, et al. E2F1 mediates sustained lipogenesis and contributes to hepatic steatosis. *J Clin Invest.* 2016 Jan;126(1):137-50.
 16. Choiniere J, Wu J, Wang L. Pyruvate Dehydrogenase Kinase 4 Deficiency Results in Expedited Cellular Proliferation through E2F1-Mediated Increase of Cyclins. *Mol Pharmacol.* 2017 Mar;91(3):189-196.
 17. Denechaud PD, Fajas L, Giralt A. E2F1, a Novel Regulator of Metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017 Nov 10;8:311.
 18. Liu Y, Song JW, Lin JY, Miao R, Zhong JC. Roles of MicroRNA-122 in Cardiovascular Fibrosis and Related Diseases. *Cardiovasc Toxicol.* 2020 Oct;20(5):463-473.
 19. Hsu J, Sage J. Novel functions for the transcription factor E2F4 in development and disease. *Cell Cycle.* 2016 Dec;15(23):3183-3190.
 20. Long X, Song K, Hu H, Tian Q, Wang W, Dong Q, et al. Long non-coding RNA GAS5 inhibits DDP-resistance and tumor progression of epithelial ovarian cancer via GAS5-E2F4-PARP1-MAPK axis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019 Aug 7;38(1):345.
 21. Zhou C, Liu H-s, Wang F-w, Hu T, Liang Z-x, Lan N, et al. circCAMSAP1 promotes tumor growth in colorectal cancer via the miR-328-5p/E2F1 axis. *Mol Ther.* 2020 Mar 4;28(3):914-928.
 22. Hsu J, Arand J, Chaikovsky A, Mooney NA, Demeter J, Brison CM, et al. E2F4 regulates transcriptional activation in mouse embryonic stem cells independently of the RB family. *Nat Commun.* 2019 Jul 3;10(1):2939.
 23. Durstine JL, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, DuBose KD. Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. *Sports Med.* 2001;31(15):1033-62.
 24. Shahmohammadi HA, Hosseini SA, Hajiani E, Malehi AS, Alipour M. Effects of green coffee bean extract supplementation on patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial. *Hepat Mon.* 2017;17(4):e12299.
 25. Burdova K, Yang H, Faedda R, Hume S, Chauhan J, Ebner D, et al. E2F1 proteolysis via SCF-cyclin F underlies synthetic lethality between cyclin F loss and Chk1 inhibition. *EMBO J.* 2019 Oct 15;38(20):e101443.
 26. Dassanayaka S, Brittan KR, Jurkovic A,

Higgins LA, Audam TN, Long BW, et al. E2f1 deletion attenuates infarct-induced ventricular remodeling without affecting O-GlcNAcylation. *Basic Res Cardiol.* 2019 May 31;114(4):28.

27. Wang T, Chen X, Qiao W, Kong L, Sun D, Li Z. Transcription factor E2F1 promotes EMT by regulating ZEB2 in small cell lung cancer. *BMC cancer.* 2017;17(1):719.

28. Rodriguez-Bravo V, Pippa R, Song W-M, Carceles-Cordon M, Dominguez-Andres A, Fujiwara N, et al. Nuclear pores promote lethal prostate cancer by increasing POM121-driven E2F1, MYC, and AR nuclear import. *Cell.* 2018;174(5):1200-15. e20.

29. Mori M, Hazan R, Danielian PS, Mahoney JE, Li H, Lu J, et al. Cytoplasmic E2f4 forms organizing centres for initiation of centriole amplification during multiciliogenesis. *Nat Commun.* 2017 Jul 4;8:15857.