

بررسی تغییرات هپتوکاین ها و آنزیم های کبدی رت های نر چاق شده با رژیم غذایی پرچرب به مدالیت های مختلف تمرینی: یک مطالعه تجربی

مهسا احسانی فر^۱، عارف حبیبی ملکی^۲، اصغر توفیقی^{۳*}، محمدحسن خادم انصاری^۴، جواد طلوعی آذر^۵

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۲/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۴/۲۱

چکیده

پیش زمینه و هدف: تمرین ورزشی با تعدیل هپتوکاین ها، از اختلالات پاتولوژیکی کبد ناشی از تجمع چربی مقابله می کند. لذا، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی با شدت بالا (HIIT)، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین هوازی با شدت متوسط (MICT) بر مقادیر FGF-21، Fetuin-A و آنزیم های کبدی رت های چاق شده با غذای پرچرب بود.

مواد و روش کار: ۲۵ سر رت نر نژاد ویستار در ۵ گروه ۵ تایی: (۱) کنترل سالم، (۲) کنترل رژیم غذایی پرچرب (HFD)، (۳) HICT، (۴) HIIT و (۵) MICT قرار گرفتند. به جز گروه کنترل سالم، همه رت ها به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند و سپس رت های گروه تمرینی به مدت ۱۲ هفته، ۵ جلسه در هفته تمرین کردند. مقادیر FGF-21 و Fetuin-A به روش الایزا اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از آزمون آماری t همبسته و ANOVA یک راه در سطح معنی داری $P \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: نتایج آزمون آماری ANOVA یک راه نشان داد بین مقادیر Fetuin-A ($P=0.001$ و $F=7.670$) و FGF-21 ($P=0.010$ و $F=4.394$) گروه های پژوهش تفاوت معنی داری وجود داشت. همچنین، مشخص شد که روش های مختلف تمرینی تأثیرات متفاوتی بر هپتوکاین ها (MICT: کاهش معنی دار Fetuin-A و HICT: افزایش معنی دار FGF-21) و تأثیر یکسانی بر ALT و AST دارند. گروه کنترل HFD سبب افزایش معنی دار آنزیم های کبدی نسبت به گروه سالم شد ($P=0.001$). با این حال، تمام گروه های ورزشی سبب کاهش معنی دار این آنزیم ها نسبت به گروه کنترل HFD شدند (برای تمام گروه ها، $P=0.001$).

بحث و نتیجه گیری: تمرینات MICT بیشتر قادر به کنترل تخریبات کبدی نظیر کنترل Fetuin-A برای جلوگیری از مقاومت انسولین بوده، در صورتی که تمرینات با شدت بالاتر نظیر HICT قادر به افزایش عوامل مثبت نظیر FGF-21 می باشد که به خوبی فعالیت آنزیم های کبدی را نیز تعدیل می کند. در نتیجه به نظر می رسد افراد چاق برای جلوگیری از کبد چرب بهتر است بیشتر از تمرینات با شدت متوسط به بالاتر استفاده کنند.

واژه های کلیدی: FGF-21، Fetuin-A، تمرین هوازی با شدت متوسط، تمرین هوازی با شدت بالا، تمرین تناوبی با شدت بالا

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی ام، شماره ششم، ص ۵۰۱-۴۸۷، شهریور ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، تلفن: ۰۹۱۴۴۴۶۷۰۷۹

Email: a.tofighi@urmia.ac.ir

مقدمه

به انواعی از بیماری ها همچون د یا بت نوع ۲، دیس لیپیدمی^۶، فشارخون بالا و اختلالات کبدی قرار دارند (۱). به بیان دیگر، افزایش تجمع چربی به شکل تری گلیسرید در مقادیر بالاتر از میزان فیزیولوژیک، در بافت کبد پیامدهایی همچون کبد چرب غیرالکلی

چاقی یکی از مهم ترین اختلالات متابولیکی می باشد که به دلایل مختلف از جمله تغذیه با منابع غنی از چربی، کربوهیدرات و کاهش فعالیت بدنی بروز می کند. افراد چاق در معرض خطر ابتلا

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۳ دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

^۴ استاد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۵ استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۶ Dyslipidemia

تمرین هوازی منجر به کاهش بیشتر ALT و AST نسبت به تمرین مقاومتی شد (۱۱). از طرفی، با استفاده از آنالیز گسترده بیان ژن در کبد، انواع هپتوکاین‌های^۹ (سایتوکین‌ها یا پپتیدهایی که از کبد ترشح می‌شوند) درگیر در متابولیسم گلوکز همچون FGF-21^{۱۰}، سلنوپروتئین — P^{۱۱} و فتوئین — A^{۱۲} شناسایی شده‌اند. که می‌توانند در پاتوژنز سندرم متابولیک، دیابت نوع ۲ و همچنین NAFLD درگیر باشند (۱۵-۱۹).

FGF-21 هورمون ۱۸۱ آمینواسیدی پپتیدی به‌عنوان یک هپتوکاین تنظیم‌کننده متابولیسمی بدن عمل می‌کند و عمدتاً توسط کبد ترشح می‌شود (۲۰). این فاکتور در پاسخ به عوامل استرس‌زای متنوع فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی مانند گرسنگی، مصرف بیش‌ازحد مواد غذایی، اختلال میتوکندریایی، فعالیت‌های ورزشی و مسمومیت‌های دارویی از بافت کبد رها می‌شود (۲۱). مقادیر این هپتوکاین در NAFLD افزایش می‌یابد که با مقدار تری‌گلیسرید کبد مرتبط است. از طرفی، می‌تواند یک پاسخ محافظتی در برابر اختلالات متابولیسم گلوکز و چربی باشد (۵). گزارش شده است که بیان mRNA FGF-21 در موش‌هایی که با HFD تغذیه شده بودند، کاهش می‌یابد (۲۲). همچنین تمرینات ورزشی طولانی‌مدت و محدودیت کالری مقاومت به FGF-21 را کاهش می‌دهد. بنابر این، این احتمال وجود دارد که تأثیرات کوتاه‌مدت اصلاح شیوه زندگی منجر به تحریک بیان FGF-21 و اقدامات بلندمدت می‌تواند مقاومت به FGF-21 کبدی را بهبود بخشد (۵). در مقابل، اخیراً در پژوهشی نشان داده شد که هشت هفته تمرینات HIIT مقادیر FGF-21 در گردش را افزایش می‌دهد (۲۳). در پژوهش دیگری گزارش داده شد که پنج هفته تمرین تناوبی با ۹۰ درصد $\dot{V}O_2$ پیک و تمرین تداومی شدت متوسط با ۶۵ درصد $\dot{V}O_2$ پیک بر روی FGF-21 تأثیر معنی‌داری ندارد (۲۴) و اخیراً در پژوهش دیگری نیز نشان داده شد که هشت هفته تمرینات HIIT مقادیر FGF-21 در گردش را به‌واسطه بهبود مقاومت به FGF-21 کاهش می‌دهد (۲۵). با توجه به نتایج ضدونقیض مطالعات پیشین، نقش دقیق تمرینات ورزشی بر روی این هپتوکاین هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است.

(NAFLD)^۱، سیروز^۲ و فیبروز^۳ کبدی را به دنبال خواهد داشت. NAFLD، یک بیماری هیستوپاتولوژیکی بافت کبد می‌باشد و به‌عنوان معضل جهانی گریبان‌گیر بشر بوده است که معمولاً با چاقی مفرط، هایپرلیپیدمی^۴ و دیابت نوع ۲ همراه بوده و با تجمع تری‌گلیسرید در هپاتوسیت‌ها^۵ (سلول‌های کبدی) که در اثر استریفیکاسیون^۶ اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول شکل می‌گیرند، مشخص می‌شود (۲). امروزه، نقش NAFLD به‌دلیل ارتباط قوی آن با چاقی و دیابت نوع ۲ در ایجاد سندرم متابولیک از طریق مقاومت انسولینی به‌طور وسیعی موردتوجه قرار گرفته است (۳). به‌بیان دیگر، شیوع NAFLD با اپیدمیولوژی و پاتوفیزیولوژی دیابت نوع ۲ و چاقی مرتبط است. شیوع این بیماری در بیش از ۷۰ درصد افراد چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ گزارش شده است (۴). باوجود شیوع NAFLD هنوز درمان قطعی برای آن وجود ندارد. از درمان‌های مؤثر برای این عارضه می‌توان به کنترل عواملی همچون وزن بدن، استرس اکسیداتیو و مقاومت انسولین اشاره کرد (۳). همچنین، تغییر در شیوه زندگی ازجمله رژیم غذایی با کالری محدود و فعالیت ورزشی منظم به‌عنوان خط اول درمان NAFLD محسوب می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی و کالری محدود مقادیر آنزیم‌های کبدی و استئاتوز^۷ کبدی را می‌دهد (۵). در مطالعه‌ای از این فرضیه حمایت شده است که افزایش فعالیت بدنی از طریق تمرینات ورزشی می‌تواند NAFLD را بهبود بخشد. در کبد، فعالیت ورزشی اکسیداسیون اسیدهای چرب را افزایش، سنتز اسیدهای چرب را کاهش و از آسیب‌های میتوکندریایی و سلول‌های کبدی از طریق کاهش انتشار مولکول‌های مرتبط با آسیب جلوگیری می‌کند (۶). یکی از نشانگرهایی که به کمک آن می‌توان وضعیت کبد را در شرایط مختلف پایش کرد، تغییرات مقادیر آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) (۷) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) می‌باشد (۸). درواقع، افزایش مقادیر ALT و AST به‌عنوان نشانگرهای آسیب هپاتوسیتی، همبستگی مثبتی با شدت NASH^۸ دارد (۹). در پژوهش‌های مختلفی نشان داده شده است که شیوه‌های مختلف فعالیت ورزشی مقادیر سرمی ALT و AST را کاهش می‌دهد (۱۰-۱۴). در یک کارآزمایی بالینی، ۱۲ هفته

⁷ Steatosis

⁸ Nonalcoholic steatohepatitis

⁹ Hepatokines

¹⁰ Fibroblast growth factor 21

¹¹ Selenoprotein- P

¹² Fetuin- A

¹ Non-alcoholic fatty liver disease

² Cirrhosis

³ Fibrosis

⁴ Hyperlipidemia

⁵ Hepatocyte

⁶ Esterification

مانده است (۴۵، ۴۶). بنابر این، با توجه به نتایج متناقض و فقدان مطالعاتی — با توجه به بررسی ما — که به بررسی مقادیر بافتی FGF-21 و Fetuin-A بعد از ایجاد چاقی با دریافت غذای پرچرب و متعاقب آن انجام تمرینات ورزشی پرداخته باشد، در مطالعه حاضر به دنبال پاسخ به این پرسش هستیم که ۱۲ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین تناوبی با شدت متوسط (MICT) بر مقادیر Fetuin-A و FGF-21 و آنزیم‌های کبدی رت‌های چاق شده با غذای پرچرب چه تأثیری دارد؟

مواد و روش کار

۲۵ سر رت نر نژاد ویستار ۶ هفته‌ای (دامنه وزنی: $13/81 \pm$ گرم) از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در قفس‌های پلی‌کربنات، با شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای 25 ± 3 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ الی ۶۰ درصد و چرخه روشنایی — تاریکی (۱۲:۱۲ ساعت) در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی نگهداری شدند (کد اخلاق: IR.UMSU.REC.1397.485).

رژیم غذایی و گروه‌بندی رت‌ها:

۲۵ سر رت نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به پنج گروه ۵ تایی زیر تقسیم شدند:

- (۱) کنترل سالم (Co-S)^۱
- (۲) کنترل تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (Co-HFD)^۴
- (۳) موش چاق با تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)
- (۴) موش چاق با تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)
- (۵) موش چاق با تمرین تناوبی با شدت متوسط (MICT)

تعداد ۵ سر رت در گروه کنترل سالم در طول مدت مداخله فقط از رژیم غذایی استاندارد تغذیه داشتند. رت‌های گروه کنترل تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (CoHFD)^۵ و مداخله‌های تمرینی (HIIT، HICT و MICT) برای چاق شدن، ابتدا به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی در دسترس پرچرب قرار گرفتند که شامل ۶۰ درصد انرژی دریافتی از چربی (مشتق از روغن سویا)، ۱۶ درصد انرژی دریافتی از پروتئین و ۲۴ درصد انرژی دریافتی از

Fetuin-A به‌عنوان یک هپتوکاین تولیدشده از بافت کبد، به‌طور معنی‌داری با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ مرتبط است و نیز عمدتاً از کبد بیماران مبتلا به NAFLD ترشح می‌شود (۲۶-۲۸). همچنین، Fetuin-A یک مهارگر گیرنده انسولین (IRS) در سطح تیروزین‌کیناز است (۲۹). ارتباط مستقیمی بین مقادیر Fetuin-A در گردش و خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ مشاهده شده است (۳۰-۳۳). اگرچه، تنظیم سنتز Fetuin-A به‌طور کامل شناخته نشده است، اما ارتباط قوی آن در بیماری‌های متابولیکی، آن را به‌عنوان یک هدف جالب برای توسعه رویکردهای جدید تحقیقاتی مرتبط با سلامت متابولیکی، مانند حساسیت انسولینی، تحمل گلوکز یا در مان‌های میزان لیپید در گردش تبدیل کرده است (۳۴). به‌خصوص، Fetuin-A نقش مهمی در اختلال دو حسگر متابولیکی، سیرتوئین-۱^۱ و پروتئین کیناز فعال‌شده با AMP^۲، در آدیپوسیت‌های دارای التهاب در موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب دارد (۳۵). همچنین، Fetuin-A با تجمع چربی کبد مرتبط است (۳۶). نقش دقیق فعالیت ورزشی در تنظیم مقادیر Fetuin-A هنوز به‌طور کامل درک نشده است (۳۷-۳۹). به‌عنوان یک ارتباط بیولوژیکی احتمالی بین فعالیت ورزشی بدنی و مقادیر Fetuin-A، آمادگی قلبی — تنفسی و قدرت عضلانی ارتباط معکوسی با چربی کبد و چاقی شکمی دارد (۳۸، ۳۹). مطالعات اندکی به تأثیرات مداخلات سبک زندگی مانند رژیم غذایی کم‌کالری (۴۰)، فعالیت ورزشی (۴۱، ۴۲) یا ترکیبی از مداخلات (۴۳) بر روی Fetuin-A پرداخته‌اند، اما نتایج آن‌ها متناقض گزارش شده است (۳۴). لی و همکاران (۲۰۱۷)، به بررسی تأثیر تعاملی Fetuin-A با چربی‌های جریان خون و تغییرات مقاومت به انسولین با تمرین ورزشی هوازی طولانی‌مدت پرداخته و نشان دادند که برخی از تغییرات بیولوژیکی، تأثیرات محافظتی تمرینات ورزشی را بر روی حساسیت انسولینی تقویت می‌کنند که ممکن است با تغییرات مقادیر Fetuin-A در گردش و اسیدهای چرب آزاد توجیه شود (۴۴). نشان داده شده است که فعالیت ورزشی Fetuin-A را کاهش می‌دهد، اما اثرات متابولیکی خاص آن در ارتباط با تنظیم مقاومت به انسولین ناشناخته باقی مانده است (۲۸).

به‌طور کلی، اعمال فیزیولوژیکی FGF-21 و Fetuin-A پس از دریافت غذای پرچرب و تأثیرات تمرینات ورزشی بر مقادیر این هپتوکاین‌ها (FGF-21 و Fetuin-A)، هنوز بحث‌برانگیز باقی

⁴ Control- High Fat Diet

⁵. Control High Fat Diet

¹ Sirtuin-1

² AMP-activated protein kinase

³ Control- sedentary

به مدت دو هفته، ۳ جلسه در هفته، هر جلسه ۱۰ تا ۱۵ دقیقه و با سرعت ۷ الی ۱۵ متر بر دقیقه شرکت کردند. در انتهای دو هفته آشنایی، حداکثر سرعت دويدن رت ها (V_{max})، سنجیده شد و رت ها با توجه به پروتکل ورزشی و در صدی از V_{max} (که به متر بر دقیقه تبدیل شد) پنج جلسه در هفته به تمرین پرداختند. مطابق با پژوهش های قبلی، ۶ هفته پس از انجام تمرینات، دوباره آزمون برآورد حداکثر سرعت دويدن (V_{max}) (۴۹، ۵۴) اجرا شد و سرعت تمرینی جدید به منظور اعمال اضافه بار برای ادامه تمرینات اعمال شد. همه جلسات تمرین، عصر هنگام که بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیت طبیعی رت هاست (۵۵) انجام گرفت. شرایط زیستی حیوانات در گروه های کنترل به جز انجام تمرینات روزانه در سایر اوقات، مشابه گروه تمرین بود.

برنامه های تمرینی HIIT، HICT و MICT، پس از اجرای آزمون حداکثر سرعت دويدن رت ها (V_{max})، اجرا شد. به طوری که، پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۷ الی ۱۰ متر بر دقیقه، رت ها در گروه MICT، با شدت ۶۰-۵۰ درصد V_{max} ، در گروه HIIT، با شدت ۷۵-۷۰ درصد V_{max} به مدت ۸۰ دقیقه، با شیب صفر درجه و در گروه HIIT، یک تمرین Uphill (با شیب شدت بالای تناوبی، شامل: ۱۳ تکرار تناوبی ۴ دقیقه ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد V_{max} و با ۲ دقیقه استراحت فعال بین هر تکرار (۲۵-۲۰ درصد V_{max})، با شیب ۲۰ درجه (به منظور سازگاری حیوانات، در طی ۳ هفته اول، به تدریج شیب از صفر تا ۲۰ درجه افزایش یافت)، پنج جلسه تمرین در هفته به مدت ۱۲ هفته انجام دادند. در انتهای هر جلسه، سرد کردن با سرعت ۶ متر بر دقیقه به مدت ۳ دقیقه اجرا شد.

اندازه گیری های آزمایشگاهی:

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینات و پس از یک شب ناشتایی، رت ها با ترکیبی از داروی زایلانین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) و کتآمین (۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بی هوش شدند. سپس نمونه های خون به طور مستقیم از بطن چپ قلب گرفته شدند و برای سنجش مقادیر آنزیم های کبدی (ALT و AST) به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۲۵۰۰ متر بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. لب راست کبد برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد گردید. نمونه ها جهت انجام آزمایش های سلولی - مولکولی در فریزر ۸۰- نگهداری شد. بافت کبدی با دستگاه همگن کننده بافت، هموژن شد و مقادیر Fetuin-A و FGF21 با استفاده از کیت و به روش الایزا مورد سنجش قرار گرفتند.

کربوهیدرات بود که توسط متخصصان دام و طیور به صورت پلت فشرده شده تهیه شد. غذای آماده شده در یخچال نگهداری می شد. پس از گذشت ۱۲ هفته رژیم غذای پرچرب و بر اساس شاخص لی^۱ (۴۷) رت های چاق وارد مطالعه شدند (معیار چاقی، وزن رت ها بالای ۳۰۰ گرم). رت های چاق به طور تصادفی به چهار گروه پنج تایی: (۱) تمرین مداومی با شدت بالا (HICT)، (۲) تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، (۳) تمرین مداومی با شدت متوسط (MICT) و (۴) کنترل تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (Co-HFD) تقسیم شدند. با شروع پروتکل های تمرینی، رژیم غذایی پرچرب (HFD) به رژیم غذایی معمولی (۱ استاندارد) مخصوص رت تغییر یافت و رت ها در گروه های خود به مدت ۱۲ هفته تحت پروتکل های تمرین مداومی با شدت زیاد (HICT)، تمرین تناوبی با شدت زیاد (HIIT) و تمرین مداومی با شدت متوسط (MICT) بر روی تردمیل قرار گرفتند.

برآورد حداکثر سرعت دويدن رت ها (V_{max}) و تخمین شدت تمرین برای هر رت:

به علت نداشتن دسترسی به ابزار مستقیم (دستگاه تجزیه و تحلیل کننده گازهای تنفسی)، VO_{2max} رت ها، به طور غیرمستقیم (توسط حداکثر سرعت دويدن رت ها (V_{max})) با اقتباس از کارهای منتشر شده قبلی محاسبه شد (۴۸-۵۳). ابتدا گرم کردن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶ الی ۸ متر بر دقیقه اجرا شد. پس از گرم شدن، آزمون دويدن رت ها (برآورد حداکثر سرعت دويدن (V_{max})) در گروه HICT و MICT با شیب صفر درجه و با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع شد و در گروه HIIT با شیب ۲۰ درجه و با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه شروع شد، سپس سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۰/۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر در دقیقه) افزایش یافت تا زمانی که حیوان، با وجود تحریکات ملایم با چوب دستی^۲ توانایی یا تمایلی برای ادامه دويدن نداشت. ملاک رسیدن به VO_{2max} ، عدم افزایش VO_2 مصرفی باوجود افزایش سرعت است. سرعت VO_{2max} سرعتی می باشد که در آن VO_2 به فلات می رسد. پژوهش ها نشان می دهد، ارتباط قوی بین سرعت تردمیل و VO_{2max} رت ها وجود دارد (۵۳). (از این رو، در پژوهش حاضر با توجه به حداکثر سرعت دويدن رت ها (V_{max}))، برنامه های تمرینی تنظیم شد.

برنامه تمرینی رت ها:

به منظور کاهش استرس و همچنین آشنا و آماده سازی با دويدن بر روی تردمیل، رت های گروه تمرین در یک برنامه تمرینی

² Wooden cane

¹ Lee obesity index

مقادیر بافتی Fetuin-A با استفاده از روش آزمایشگاهی ELISA و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت کشور چین با شماره کاتولوگ (Cat. No: E0580Ra) و حساسیت (۰/۲۶ ng/ml)، ضریب تغییرات درون آزمون (Intra-Assay: CV<8%) و ضریب تغییرات برون آزمون (Inter-Assay: CV<10%) اندازه‌گیری شد.

مقادیر بافتی FGF21 با استفاده از روش آزمایشگاهی ELISA و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت کشور چین با شماره کاتولوگ (Cat. No: E1362Ra) و حساسیت (۲/۶۲ ng/l)، ضریب تغییرات درون آزمون (Intra-Assay: CV<8%) و ضریب تغییرات برون آزمون (Inter-Assay: CV<10%) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری:

در پژوهش حاضر از آزمون آماری شاپیرو - ویلک برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون لون جهت بررسی همگنی واریانس‌ها، از آزمون t همبسته برای بررسی تغییرات وزن رت‌ها در

هر گروه، از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. سطح معنی‌داری معادل (P≤۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تغییرات وزنی رت‌ها در مراحل مختلف پژوهش در جدول ۱ نشان داده شده است. براساس این نتایج، ۱۲ هفته رژیم غذایی استاندارد (کنترل سالم) و پرچرب (کنترل HFD، HIIT، HIIT و MICT) سبب افزایش معنی‌دار وزن رت‌های تمام گروه‌ها شد (برای تمامی گروه‌ها، P=۰/۰۰۱). در گروه کنترل سالم بعد از رژیم غذایی معمولی (استاندارد) در هفته ۱۲ تا ۲۴، مقادیر وزن رت‌ها افزایش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۳). در حالی که، مدالیته‌های تمرینی HIIT، HIIT و MICT، تغییرات وزنی ناشی از HFD را کنترل و کاهش معنی‌داری در وزن رت‌ها ایجاد کردند (HIIT: P=۰/۰۰۲، HIIT: P=۰/۰۰۱ و MICT: P=۰/۰۰۳).

جدول (۱): تغییرات وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف در مراحل زمانی متفاوت

گروه‌ها	هفته اول	هفته ۱۲	هفته ۲۴
کنترل سالم	۱۷۵ ± ۱۶/۹۵	۲۶۲/۲ ± ۵/۸۰	۳۱۱ ± ۱۷/۱۰
کنترل چاق	۱۷۳ ± ۱۲/۰۴	۳۸۷/۲ ± ۴/۳۸	۳۷۸/۶ ± ۱۴/۳۲
HIIT	۱۷۹ ± ۱۴/۳۱	۳۹۴ ± ۵/۴۷	۳۳۰/۴ ± ۲۱/۰۵
HIIT	۱۷۲ ± ۱۵/۲۴	۳۹۵/۲ ± ۵/۹۳	۳۲۵ ± ۲۱/۷۹
MICT	۱۷۴ ± ۱۱/۹۳	۳۸۱/۲ ± ۴/۱۴	۳۰۹ ± ۲۵/۳۴

نتایج آزمون آماری ANOVA یک‌راهه در بررسی مقادیر وزن بین گروه‌ها در هفته ۱۲ مشاهده شد که بین گروه‌های مختلف بعد از ۱۲ هفته HFD تفاوت معنی‌داری وجود داشت (F=۶۰۳/۷۸۶ و P=۰/۰۰۱) (جدول ۲). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که تمام گروه‌ها نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری در وزن داشتند (برای تمام گروه‌ها: P=۰/۰۰۱).

همچنین، نتایج آزمون آماری ANOVA یک‌راهه برای بررسی تغییرات وزن در هفته ۲۴ نشان داد که بین گروه‌های مختلف بعد از ۱۲ هفته مداخله تمرینی نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت (F=۹/۶۷۳ و P=۰/۰۰۱) (جدول ۲). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که گروه‌های تمرینی HIIT، HIIT و MICT کاهش معنی‌داری در وزن نسبت به گروه HFD داشتند (به ترتیب P=۰/۰۰۱، P=۰/۰۰۴ و P=۰/۰۰۱).

جدول (۲): نتایج آزمون ANOVA یک‌راهه در تعیین تفاوت موجود در وزن رت‌ها

متغیر	منبع تغییر	مجدور مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
هفته اول	بین گروهی	۱۴۶/۰۰۰	۴	۳۶/۵۰۰	۰/۱۸۰	۰/۹۴۶
هفته دوم	درون گروهی	۴۰۵۰/۰۰۰	۲۰	۲۰۲/۵۰۰		

		کل		۴۱۹۶/۰۰۰	۲۴		
هفته ۱۲	بین گروهی	۶۵۳۵۳/۷۶۰		۴	۱۶۳۳۸/۴۴۰	۶۰۳/۷۸۶	× ۰/۰۰۱
		۵۴۱/۲۰۰		۲۰	۲۷/۰۶۰		
		کل		۲۴			
هفته ۲۴	بین گروهی	۱۵۹۲۹/۶۰۰		۴	۳۹۸۲/۴۰۰	۹/۶۷۳	× ۰/۰۰۱
		۸۲۳۴/۴۰۰		۲۰	۴۱۱/۷۲۰		
		کل		۲۴			

* تفاوت معنی دار بین گروهی

تغییرات متغیرهای Fetuin-A، FGF-21 و آنزیم های کبدی در هفته ۲۴ نیز در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری ANOVA یک راه نشان داد بین Fetuin-A، در گروه های پژوهش پس از هفته ۲۴ تفاوت معنی داری وجود داشت ($P=0/001$ و $F=7/670$) (جدول ۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد بین گروه کنترل سالم و کنترل HFD تفاوت معنی داری وجود داشت و HFD سبب افزایش معنی دار Fetuin-A نسبت به گروه کنترل سالم شد ($P=0/043$). این در حالی بود که گروه تمرین MICT نسبت به گروه کنترل HFD مقادیر Fetuin-A را به طور معنی داری کاهش داد ($P=0/001$) (نمودار ۱).

نتایج آزمون آماری ANOVA یک راه نشان داد بین FGF-21، در گروه های پژوهش پس از هفته ۲۴ تفاوت معنی داری وجود داشت ($P=0/010$ و $F=4/394$) (جدول ۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، هر چند کاهش FGF-21 گروه کنترل HFD نسبت به گروه کنترل سالم معنی دار نبود، اما تنها گروه HICT

قادر به افزایش معنی دار FGF21 نسبت به گروه کنترل HFD شد ($P=0/009$) (نمودار ۲).

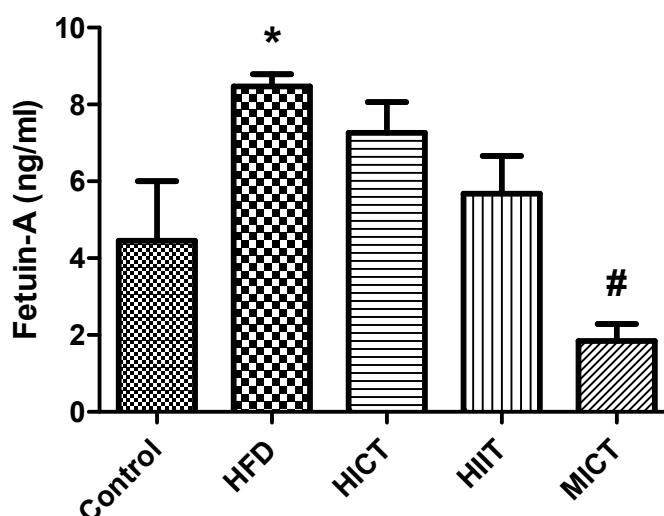
همچنین، نتایج آزمون آماری ANOVA یک راه نشان داد بین ALT، در گروه های پژوهش پس از هفته ۲۴ تفاوت معنی داری وجود داشت ($P=0/001$ و $F=14/741$) (جدول ۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد، گروه کنترل HFD سبب افزایش معنی داری ALT نسبت به گروه سالم شد ($P=0/001$). باین حال، تمام گروه های ورزشی سبب کاهش معنی دار ALT نسبت به گروه کنترل HFD شدند (برای تمام گروه ها، $P=0/001$) (نمودار ۳ الف).

نتایج آزمون آماری ANOVA یک راه نشان داد بین AST، در گروه های پژوهش پس از هفته ۲۴ تفاوت معنی داری وجود داشت ($P=0/001$ و $F=29/085$) (جدول ۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد، گروه کنترل HFD سبب افزایش معنی دار AST نسبت به گروه سالم شد ($P=0/001$). باین حال، تمام گروه های ورزشی سبب کاهش معنی دار AST نسبت به گروه کنترل HFD شدند (برای تمام گروه ها، $P=0/001$) (نمودار ۳ ب).

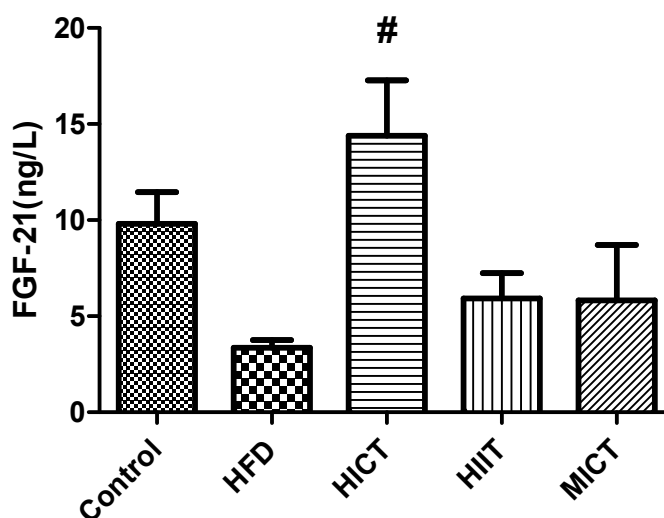
جدول (۳): میانگین، انحراف معیار و نتایج آزمون آماری ANOVA یک راه برای متغیرهای پژوهش

متغیرها				
گروه ها	Fetuin-A (ng/ml)	FGF-21 (ng/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
کنترل سالم	۴/۴۵ ± ۳/۴۶	۹/۸۱ ± ۳/۶۶	۴۲/۰۰ ± ۷/۶۱	۱۱۶/۰۰ ± ۱۶/۸۳
کنترل HFD	۸/۴۷ ± ۰/۷۱	۳/۳۵ ± ۰/۸۸	۷۹/۴ ± ۱۵/۴۸	۲۰۸/۶ ± ۳۱/۵۲
HICT	۷/۲۶ ± ۱/۷۹	۱۴/۳۸ ± ۶/۴۴	۴۵/۴ ± ۶/۶۵	۹۵/۲ ± ۱۶/۱۹
HIIT	۵/۶۸ ± ۲/۱۹	۵/۹۲ ± ۲/۹۴	۴۷/۴ ± ۴/۹۲	۱۰۷/۰۰ ± ۱۳/۵۸
MICT	۱/۸۵ ± ۰/۹۸	۵/۸۲ ± ۶/۴۴	۵۲/۰۰ ± ۴/۳۰	۱۰۲/۲ ± ۱۲/۹۱
مقدار F	۷/۶۷۰	۴/۳۹۴	۱۴/۷۴۱	۲۹/۰۸۵
مقدار P	× ۰/۰۰۱	× ۰/۰۱۰	× ۰/۰۰۱	× ۰/۰۰۱

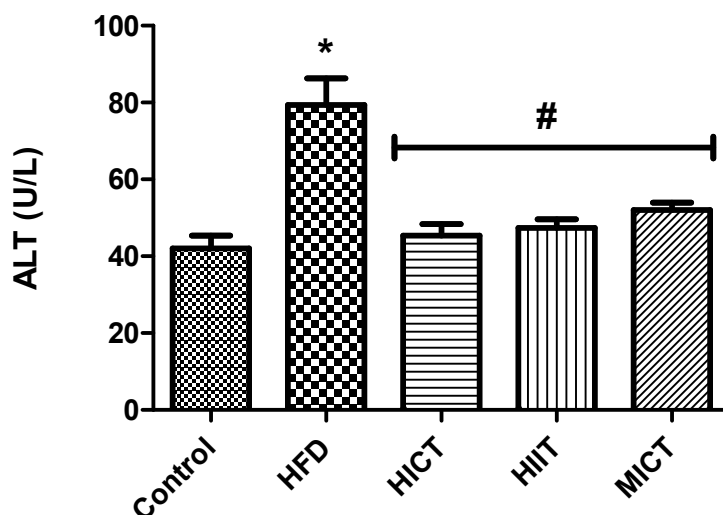
* تفاوت معنی دار بین گروهی



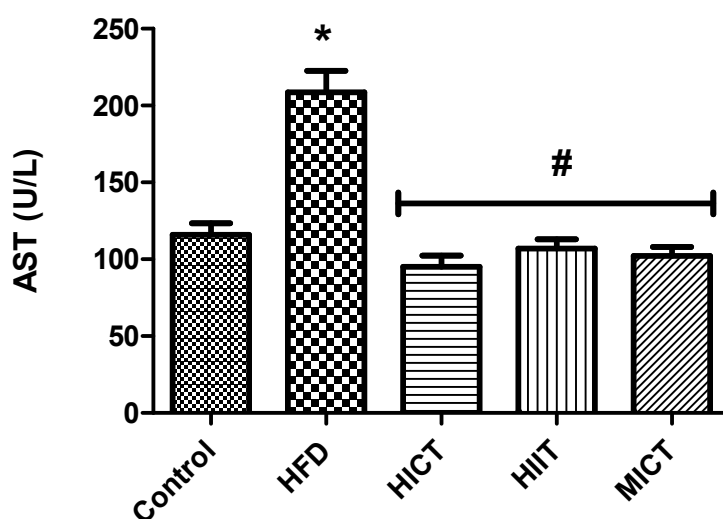
نمودار (۱): مقادیر Fetuin-A در گروه‌های پژوهش (Control: کنترل سالم، HFD: کنترل با رژیم غذایی پرچرب، HICT: موش چاق با تمرین مداوم با شدت بالا، HIIT: موش چاق با تمرین تناوبی با شدت بالا، MICT: موش چاق با تمرین مداوم با شدت متوسط). *: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم ($P \leq 0.05$) و #: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه HFD ($P \leq 0.05$).



نمودار (۲): مقادیر FGF-21 در گروه‌های پژوهش (Control: کنترل سالم، HFD: کنترل با رژیم غذایی پرچرب، HICT: موش چاق با تمرین مداوم با شدت بالا، HIIT: موش چاق با تمرین تناوبی با شدت بالا، MICT: موش چاق با تمرین مداوم با شدت متوسط). *: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم ($P \leq 0.05$) و #: نشانه معنی‌داری نسبت به گروه HFD ($P \leq 0.05$).



(الف)



(ب)

نمودار (۳): مقادیر آنزیم الف (ALT) و ب (AST) در گروه‌های مختلف پژوهش (Control: کنترل سالم، HFD: کنترل با رژیم غذایی پرچرب، HICT: موش چاق با تمرین تناوبی با شدت بالا، HIIT: موش چاق با تمرین تناوبی با شدت بالا، MICT: موش چاق با تمرین مداومی با شدت بالا). * نشان‌دهنده معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم ($P \leq 0.05$) و # نشان‌دهنده معنی‌داری نسبت به گروه HFD ($P \leq 0.05$). متوسط).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از پژوهش حاضر بررسی تغییرات FGF-21، Fetuin-A و آنزیم‌های کبدی با مدل‌های مختلف تمرینی پس از ۱۲ هفته

رژیم غذایی پرچرب بود. دریافت کالری اضافی و کاهش فعالیت بدنی دو عامل مهمی هستند که به پیشرفت چاقی، مقاومت انسولینی و به دنبال آن تخریب بافت‌های متابولیکی مهم به‌ویژه

کبد کمک می‌کنند (۵۶). در پژوهش حاضر نیز مشخص شد که مصرف غذای پرچرب به مدت ۱۲ هفته و همچنین عدم فعالیت ورزشی به‌طور معنی‌داری وزن حیوانات را بالا می‌برد، درحالی‌که ۱۲ هفته برنامه تمرینی HIIT، HICT و MICT کاهش معنی‌داری در وزن رت‌ها نسبت به گروه HFD ایجاد می‌کند. تمام این تغییرات به تأثیرات چربی سوزی و کاهش انباشت‌های چربی ناشی از تأثیرات تمرین ورزشی برمی‌گردد که با این کاهش وزن قادر به کنترل تأثیرات تخریبی ناشی از چاقی نیز می‌باشد که این مورد در بررسی هیپتوکاین‌های پژوهش حاضر نیز مورد تأیید قرار گرفت.

در مطالعه حاضر مشاهده شد که HFD سبب افزایش معنی‌دار Fetuin-A نسبت به گروه کنترل سالم شد، این در حالی بود که گروه تمرین MICT نسبت به گروه کنترل HFD مقادیر این پروتئین را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در تحقیقات پیشین برای تعیین مکانیسم یا مکانیسم‌های سلولی اعمال Fetuin-A به انجام پژوهش‌های بیشتری تأکید شده است (۳۴، ۵۷)، زیرا مقادیر افزایش یافته این هیپتوکاین با خطر ابتلا به سندرم متابولیک (۳۴، ۵۸)، دیابت نوع ۲ (۳۴، ۵۷) و انفارکتوس میوکارد/ سکته مغزی (۳۴، ۵۹) ارتباط دارد. افزایش میزان Fetuin-A در نوجوانان چاق با T2DM از این فرضیه حمایت می‌کند که Fetuin-A در پاتوژنز T2DM دخالت دارد، زیرا این هیپتوکاین منجر به مقاومت انسولینی می‌شود (۶۰). در رابطه با تأثیر تمرین ورزشی نیز بیان شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند با تعدیل مقادیر Fetuin-A، مقاومت انسولینی کبدی ناشی از چاقی و التهابات کبدی ناشی از مصرف بالای کربوهیدرات در بزرگسالان چاق را کنترل کند (۳۴، ۵۷). به بیان دیگر، برخی از تغییرات بیولوژیکی، تأثیرات محافظتی تمرینات ورزشی را بر روی حساسیت انسولینی تقویت می‌کنند که ممکن است با تغییرات مقادیر Fetuin-A در گردش و اسیدهای چرب آزاد توجیه شود (۴۴). لی و همکارانش (۲۰۱۷) در مطالعه خود با بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرینات همزمان هوازی و مقاومتی بر روی Fetuin-A مردان دارای اضافه وزن و دیس‌گلیسمی، بهبود پارامترهای کبدی، کاهش معنی‌دار Fetuin-A و تغییرات اندک FFAs را با تمرینات ورزشی گزارش دادند. این محققان علت تغییرات حساسیت انسولینی و FFAs را به کاهش Fetuin-A نسبت دادند و برخی از این تأثیرات مفید فعالیت ورزشی بر حساسیت انسولینی را با تغییرات Fetuin-A و FFAs در گردش و ترویج کم‌تر سیگنالینگ TLR4^۱ در بافت چربی که احتمالاً توسط ماکروفاژهای بافت چربی تعدیل می‌شود، توجیه کردند (۴۴). در

پژوهش حاضر مسیر سیگنالینگ‌های بافت چربی مورد ارزیابی قرار نگرفت. مالین و همکاران (۲۰۱۳) نیز کاهش معنی‌دار (کاهش ۱۱ درصدی) Fetuin-A را در پاسخ به یک هفته تمرین پنج جلسه‌ای با شدت ۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه در زنان و مردان چاق مبتلا به NAFLD گزارش کردند. این پژوهشگران در مطالعه خود نشان دادند که تغییرات کاهش Fetuin-A با کاهش مقاومت انسولینی و گلوکز همبستگی دارد (۴۷). Fetuin-A از طریق تنظیم کاهشی^۲ pAkt^۳ و pAS160 و متعاقب آن با انتقال GLUT-4 به غشای پلاسمایی برداشت گلوکز عضلات اسکلتی را کاهش می‌دهد. یافته‌های مالین و همکاران (۲۰۱۳) نقش Fetuin-A در مقاومت به انسولین عضلات اسکلتی را برجسته می‌کند و نشان می‌دهد که بخشی از بهبودی در تحمل گلوکز ناشی از فعالیت ورزشی در بیماران مبتلا به NAFLD ممکن است به علت کاهش Fetuin-A برگردد (۴۲). بر خلاف نتایج پژوهش حاضر (گروه MICT) اسهولت و همکارانش (۲۰۱۰) عدم تغییر معنی‌دار مقادیر Fetuin-A زنان چاق را در پاسخ به ۶ هفته تمرین هوازی، سه جلسه در هفته و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه با شدت ۶۰ درصد VO_2 پیک گزارش کردند (۶۱). که تفاوت در نتایج را می‌توان به نوع آزمودنی و مدت‌زمان تمرینی نسبت داد. این در حالی بود که هم‌سو با عدم تغییر معنی‌دار گروه‌های تناوبی پژوهش حاضر وین و همکارانش (۲۰۱۸) با بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی تناوبی (HIIT) با شدت ۸۰ درصد VO_2 پیک و تمرین هوازی تداومی (MICT) با شدت ۵۵ درصد VO_2 پیک بر روی Fetuin-A مردان و زنان چاق عدم تغییر معنی‌دار این هیپتوکاین را گزارش کردند. در مطالعه آن‌ها وزن اولیه بدن، چربی شکمی احشایی و غلظت انسولین ناشتا در گروه MICT نسبت به گروه HIIT بیشتر بود. همچنین، چربی شکمی احشایی، توده بدنی، آمینوترانسفرازهای کبدی (ALT و AST) و مارکرهای التهابی/آپوپتیک هپاتیک (سیتوکراتین - ۱۸^۴ و Fetuin-A) در هر دو مداخله تمرینات ورزشی کاهش معنی‌داری نداشت (۶۲). درحالی‌که در پژوهش حاضر مقادیر آنزیم‌های کبدی با ۱۲ هفته مدالیته‌های مختلف تمرینی کاهش یافت که نشان‌دهنده تأثیر مثبت مدت‌زمان بیشتر تمرینی و سازگاری بهتر ناشی از تمرینات ورزشی می‌باشد. زیرا که Zhang و همکارانش (۲۰۱۸) با بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته و هر جلسه به مدت ۷۰ دقیقه با شدت ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه بر روی مردان و زنان مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ کاهش معنی‌دار Fetuin-A را گزارش کردند. که به نظر می‌رسد مدت‌زمان

^۳ Protein kinase B^۴ Cytokeratin^۱ Toll like receptor 4^۲ downregulating

تمرینی و استقامتی بودن تمرین تأثیر بیشتری بر Fetuin-A پژوهش حاضر داشته باشد.

در رابطه با FGF21، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین HICT، HIIT و MICT سبب افزایش مقادیر FGF-21 نسبت به گروه HFD شدند. این در حالی بود که تنها افزایش گروه HICT معنی دار بود. اگرچه، پاسخ های متفاوت FGF-21 به تمرینات ورزشی ابهام بر انگیز است، ولی احتمال دارد که مدت، شدت و انواع مختلف مداخلات تمرینی اعمال شده و مهم تر اینکه تفاوت در وضعیت افراد مورد مطالعه از جمله چاقی، و وضعیت دیابتی، سالمند و سالم بودن افراد دلیلی برای پاسخ های مختلف FGF-21 به تمرینات ورزشی باشد. در رابطه با FGF-21 بیان شده است که این فاکتور قادر به کنترل تخریب متابولیکی ناشی از دیابت نظیر مقاومت به انسولینی می باشد (۶۰). در بررسی مقادیر کبدی FGF-21 نشان داده شد که در کبد موش های ترانس ژنیک (ترازیخته) که در آن ها FGF-21 بیش از حد بیان شده بود، حساسیت انسولینی و کلرینس گلوکز بهبود یافت و منجر به کاهش غلظت تری گلیسرید پلاسما شد. همچنین، در هنگام تغذیه با غذای پرچرب، آزمودنی ها نسبت به افزایش وزن مقاومت نشان دادند (۶۳). همچنین، نشان داده شده است که تزریق FGF-21 به موش های چاق شده با HFD باعث افزایش مصرف چربی، انرژی و کاهش غلظت گلوکز، انسولین، چربی و نیز میزان غلظت تری گلیسرید کبدی می شود (۶۳، ۶۴). از آنجایی که چاقی سبب افزایش مقاومت نسبت به FGF-21 می شود (۷، ۶۵)، در نتیجه تغییرات افزایشی این پروتئین در شرایط چاقی می تواند تأثیرات مثبتی را به بار آورد. که در پژوهش حاضر نیز تغییرات افزایشی این فاکتور با تمرین ورزشی به ویژه HICT مورد تأیید قرار گرفت. در این رابطه بیان شده است که FGF-21 در گردش خون توسط هر دو فعالیت ورزشی حاد بیشینه و زیر بیشینه در افراد لاغر افزایش می یابد (۶۶). همچنین، توفیقی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر روی زنان چاق مقادیر سرمی FGF-21 را افزایش می دهد (۲۳). این محققان به این نتیجه رسیدند که تمرین ورزشی با افزایش مقادیر FGF-21 سرمی می تواند منجر به تبدیل بافت چربی سفید (WAT) به بافت چربی قهوه ای (BAT)^۵ شود که نقش کلیدی در جلوگیری از چاقی و عوارض منفی مرتبط با آن دارد (۲۳). در پژوهش حاضر هر چند تغییرات بافت چربی بررسی نشد اما نشان داده شد که افزایش FGF-21 قادر به بهبود عملکرد متابولیکی بافت کبدی می باشد

زیرا که با مدالیته های مختلف تمرینی و افزایش FGF-21 مقادیر آنزیم های کبدی نیز به مقدار نرمال خود رسید و تمرینات ورزشی تغییرات افزایشی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را کنترل کردند. در رابطه با عدم تغییر معنی دار FGF-21 در دو مدالیته تمرینی MICT و HIIT نیز می توان بیان کرد که از آنجایی که هر دوی تمرین ورزشی و FGF-21 دارای قابلیت افزایش حساسیت انسولینی و کاهش مقدار انسولین و چربی پلاسمایی هستند. بنابر این، با افزایش حساسیت انسولینی در اثر تمرین ورزشی، به طور منطقی دیگر نیازی به تغییرات بیشتر FGF-21 برای بهبود مقاومت انسولینی در بیماران چاق وجود ندارد و بنابر این FGF-21 تغییرات بارزی در این دو مدالیته تمرینی نداشته است (۶۷). باوجود این، بررسی تغییرات دقیق تر تأثیر چاقی و تمرین ورزشی بر مقادیر FGF-21 نیاز به بررسی دقیق تر مسیرهای سیگنالینگ در بافت کبدی دارد.

به نظر می رسد همان طور که مدالیته های مختلف تمرینی سبب سازگاری متفاوت در دستگاه های مختلف انرژی (هوازی و بی هوازی)، نوع تار عضلانی و تغییرات مختلف قلبی - عروقی می شوند، سازگاری فیزیولوژیک متفاوت نیز در شاهراه متابولیکی (بافت کبد) بر جای گذاشته که در پیشگیری از اختلالات پاتوفیزیولوژی کبدی نقش مهمی دارند. بنابر این، با توجه به این بررسی ها، می توان نتیجه گرفت که دستکاری مدت و شدت تمرین در مدالیته های تمرینی مختلف تأثیرات متابولیکی متفاوتی بر جای می گذارد، به گونه ای که در بافت کبد رت های چاق شده با HFD پژوهش حاضر تنها مدالیته تمرینی MICT قادر به کاهش معنی دار Fetuin-A کبدی شد. در حالی که، مقادیر FGF-21 بافت کبدی نیز تنها تحت تأثیر مدالیته تمرینی HICT قرار گرفت. این در حالی بود که تغییرات کاهش آنتزیم های کبدی با هر سه مدالیته تمرینی HICT، HIIT و MICT تحت تأثیر قرار گرفت.

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان نامه رشته فیزیولوژی ورزشی می باشد. این پژوهش، توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه با کد (IR.UMSU.REC.1397.485) به تصویب رسید. از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

⁵ Brown adipose tissue

References:

1. Awosika TO, Aluko RE. Inhibition of the in vitro activities of α -amylase, α -glucosidase and pancreatic lipase by yellow field pea (*Pisum sativum* L.) protein hydrolysates. *Int J Food Sci Technol* 2019;12(4): 341-50.
2. Torbenson M, Chen Y-Y, Brunt E, Cummings OW, Gottfried M, Jakate S, et al. Glycogenic hepatopathy: an underrecognized hepatic complication of diabetes mellitus. *Am J Surg Pathol* 2006;30(4): 508-13.
3. Tan Y, Jin XL, Lao W, Kim J, Xiao L, Qu X. Antiresistin RNA oligonucleotide ameliorates diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice through attenuating proinflammatory cytokines. *Biomed Res Int* 2015;2015.
4. Stefan N, Häring H-U. The metabolically benign and malignant fatty liver. *Diabetes* 2011;60(8).
5. Camporez JP, Asrih M, Zhang D, Kahn M, Samuel VT, Jurczak MJ, et al. Hepatic insulin resistance and increased hepatic glucose production in mice lacking Fgf21. *J Endocrinol Thyroid Res* 2015 Sep;226(3): 207-17.
6. van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, Tsung A, Huang H. The Effects of Physical Exercise on Fatty Liver Disease. *Gene expression* 2018 May 18;18(2): 89-101.
7. Gómez-Ambrosi J, Gallego-Escuredo JM, Catalán V, Rodríguez A, Domingo P, Moncada R, et al. FGF19 and FGF21 serum concentrations in human obesity and type 2 diabetes behave differently after diet-or surgically-induced weight loss. *Clin Nutr* 2017;36(3): 861-8.
8. Hyder MA, Marghoob Hasan, and Abdelmarouf Hassan Mohieldein.. "Comparative levels of ALT, AST, ALP and GGT in liver associated diseases. *Euro J Exp Bio* 2013;3(2): 280-4.
9. Tapper EB, Krajewski K, Lai M, Challies T, Kane R, Afdhal N, et al. Simple non-invasive biomarkers of advanced fibrosis in the evaluation of non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol Rep* 2014 Nov;2(4): 276-80.
10. Slentz CA, Bateman LA, Willis LH, Shields AT, Tanner CJ, Piner LW, et al. Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011;301(5): E1033-E9.
11. El-Kader SMA, Al-Jiffri OH, Al-Shreef FM. Markers of liver function and inflammatory cytokines modulation by aerobic versus resisted exercise training for nonalcoholic steatohepatitis patients. *Afr Health Sci* 2014;14(3): 551-7.
12. Pugh CJ, Cuthbertson DJ, Sprung VS, Kemp GJ, Richardson P, Margot Umpleby A, et al. Exercise training improves cutaneous microvascular function in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;305(1): E50-E8.
13. Pugh CJ, Sprung VS, Kemp GJ, Richardson P, Shojaee-Moradie F, Umpleby AM, et al. Exercise training reverses endothelial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;307(9): H1298-H306.
14. Skrypnik D, Ratajczak M, Karolkiewicz J, Mądry E, Pupek-Musialik D, Hansdorfer-Korzon R, et al. Effects of endurance and endurance-strength exercise on biochemical parameters of liver function in women with abdominal obesity. *Biomed Pharmacother* 2016;80: 1-7.
15. Misu H. Pathophysiological significance of hepatokine overproduction in type 2 diabetes. *Diabetology International* 2018: 1-10.
16. Stefan N, Haring HU. The role of hepatokines in metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 2013 Mar;9(3): 144-52.
17. Parola M, Marra F. Adipokines and redox signaling: impact on fatty liver disease. *Antioxid Redox Signal* 2011 Jul 15;15(2): 461-83.

18. Raschke S, Eckel J. Adipo-myokines: two sides of the same coin--mediators of inflammation and mediators of exercise. *Mediators Inflamm* 2013;2013: 724320.
19. Lan F, Misu H, Chikamoto K, Takayama H, Kikuchi A, Mohri K, et al. LECT2 functions as a hepatokine that links obesity to skeletal muscle insulin resistance. *Diabetes* 2014;63(5): 1649-64.
20. Kharitonov A, Shanafelt AB. FGF21: a novel prospect for the treatment of metabolic diseases. *Curr Opin Investig Drugs* (London, England: 2000). 2009;10(4): 359-64.
21. Patel R, Bookout AL, Magomedova L, Owen BM, Consiglio GP, Shimizu M, et al. Glucocorticoids regulate the metabolic hormone FGF21 in a feed-forward loop. *J Mol Endocrinol* (Baltimore, Md) 2015 Feb;29(2): 213-23.
22. Geng L, Boya Liao, Leigang Jin, Zhe Huang, Chris R. Triggie, Hong Ding, Jialiang Zhang, Yu Huang, Zhuofeng Lin, and Aimin Xu. "Exercise Alleviates Obesity-Induced Metabolic Dysfunction via Enhancing FGF21 Sensitivity in Adipose Tissues." *Cell reports* 2019;26 (10): 2738-52.
23. Tofghi A, Alizadeh R, Tolouei Azar J. The effect of eight weeks high intensity interval raining (HIIT) on serum amounts of FGF21 and irisin in sedentary obese women. *J Urmia Univ Med Sci* 2017;28(7): 453-66.
24. Kong Z, Sun S, Liu M, Shi Q. Short-Term High-Intensity Interval Training on Body Composition and Blood Glucose in Overweight and Obese Young Women. *J Diabetes Res* 2016;2016: 4073618.
25. Azali Alamdari K, Khalafi M. The effects of high intensity interval training on serum levels of fgf21 and insulin resistance in obese men. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2019;18(1): 41-8.
26. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Krober SM, et al. Alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes care* 2006 Apr;29(4): 853-7.
27. Denecke B, Graber S, Schafer C, Heiss A, Woltje M, Jahnen-Dechent W. Tissue distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem J* 2003 Nov 15;376(Pt 1): 135-45.
28. Kroger J, Meidtnr K, Stefan N, Guevara M, Kerrison ND, Ardanaz E, et al. Circulating Fetuin-A and Risk of Type 2 Diabetes: A Mendelian Randomization Analysis. *Diabetes* 2018;67(6): 1200-5.
29. Rauth G, Poschke O, Fink E, Eulitz M, Tippmer S, Kellerer M, et al. The nucleotide and partial amino acid sequences of rat fetuin. Identity with the natural tyrosine kinase inhibitor of the rat insulin receptor. *Eur J Biochem* 1992;204(2): 523-9.
30. Ix JH, Biggs ML, Mukamal KJ, Kizer JR, Zieman SJ, Siscovick DS, et al. Association of fetuin-a with incident diabetes mellitus in community-living older adults: the cardiovascular health study. *Circulation* 2012 May 15;125(19);2316-22 .
31. Ix JH, Wassel CL, Kanaya AM, Vittinghoff E, Johnson KC, Koster A, et al. Fetuin-A and incident diabetes mellitus in older persons. *Jama* 2008;300(2): 182-8 .
32. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Cummins KM, Daniels LB, Wassel CL, Ix JH. Sex-specific association of fetuin-A with type 2 diabetes in older community-dwelling adults: the Rancho Bernardo study. *Diabetes care* 2013;36(7): 1994-2000.
33. Aroner SA, Mukamal KJ, St-Jules DE, Budoff MJ, Katz R, Criqui MH, et al. Fetuin-A and Risk of Diabetes Independent of Liver Fat Content: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Epidemiol* 2017;185(1): 54-64.
34. Ramirez-Velez R, Garcia-Hermoso A, Hackney AC, Izquierdo M. Effects of exercise training on Fetuin-a in obese, type 2 diabetes and cardiovascular disease in adults and elderly: a

- systematic review and Meta-analysis. *Lipids Health Dis* 2019;18(1): 23.
35. Chattopadhyay M, Mukherjee S, Chatterjee SK, Chattopadhyay D, Das S, Majumdar SS, et al. Impairment of energy sensors, SIRT1 and AMPK, in lipid induced inflamed adipocyte is regulated by Fetuin A. *Cell Signal* 2018;42: 67-76.
 36. Stefan N, Kantartzis K, Haring HU. Causes and metabolic consequences of Fatty liver. *Endocrine Reviews* 2008;29(7): 939-60.
 37. Ramírez-Vélez R, García-Hermoso A, Hackney AC, Izquierdo M. Effects of exercise training on Fetuin-a in obese, type 2 diabetes and cardiovascular disease in adults and elderly: a systematic review and Meta-analysis. *Lipids Health Dis*. 2019;18(1): 23.
 38. Church TS, Kuk JL, Ross R, Priest EL, Biloft E, Blair SN. Association of cardiorespiratory fitness, body mass index, and waist circumference to nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2006;130(7): 2023-30.
 39. Pietiläinen KH, Kaprio J, Borg P, Plasqui G, Yki-Jarvinen H, Kujala UM, et al. Physical inactivity and obesity: a vicious circle. *Obesity (Silver Spring, Md)* 2008;16(2): 409-14.
 40. König D, Zdzienicka D, Deibert P, Berg A, Gollhofer A, Buchert M. Internal Fat and Cardiometabolic Risk Factors Following a Meal-Replacement Regimen vs. Comprehensive Lifestyle Changes in Obese Subjects. *Nutrients* 2015;7(12):9825-33.
 41. Malin SK, del Rincon JP, Huang H, Kirwan JP. Exercise-induced lowering of fetuin-A may increase hepatic insulin sensitivity. *Med Sci Sports Exerc* 2014;46(11): 2085-90.
 42. Malin SK, Mulya A, Fealy CE, Haus JM, Pagadala MR, Scelsi AR, et al. Fetuin-A is linked to improved glucose tolerance after short-term exercise training in nonalcoholic fatty liver disease. *J Appl Physiol (Bethesda, Md: 1985)* 2013;115(7): 988-94.
 43. Yang SJ, Hong HC, Choi HY, Yoo HJ, Cho GJ, Hwang TG, et al. Effects of a three-month combined exercise programme on fibroblast growth factor 21 and fetuin-A levels and arterial stiffness in obese women. *Clin Endocrinol* 2011 Oct;75(4): 464-9.
 44. Lee S, Norheim F, Gulseth HL, Langleite TM, Kolnes KJ, Tangen DS, et al. Interaction between plasma fetuin-A and free fatty acids predicts changes in insulin sensitivity in response to long-term exercise. *Physiological Reports* 2017;5(5).
 45. Loyd C, Magrisso IJ, Haas M, Balusu S, Krishna R, Itoh N, et al. Fibroblast growth factor 21 is required for beneficial effects of exercise during chronic high-fat feeding. *J Appl Physiol (Bethesda, Md: 1985)* 2016;121(3): 687-98.
 46. Blumenthal JB, Gitterman A, Ryan AS, Prior SJ. Effects of exercise training and weight loss on plasma Fetuin-a levels and insulin sensitivity in overweight older men. *J. Diabetes Res* 2017;2017.
 47. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am J Physiol* 1929;89(1): 24-33.
 48. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007;14(6): 753-60.
 49. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Sci. Rep* 2017;7(1): 204.
 50. Kemi OJ, Loennechen JP, Wisloff U, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 2002.42(13).1002-10.

51. Lee S, Park Y, Dellsperger KC, Zhang C. Exercise training improves endothelial function via adiponectin-dependent and independent pathways in type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 23(8):145-58.
52. Ostler JE, Maurya SK, Dials J, Roof SR, Devor ST, Ziolo MT, et al. The effects of insulin resistance on skeletal muscle growth and exercise capacity in type 2 diabetic mouse models. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;8(11)-201-15.
53. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation: Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007;14(6): 753-60.
54. Burniston JG. Adaptation of the rat cardiac proteome in response to intensity-controlled endurance exercise. *Proteomics* 2009;9(1): 106-15.
55. Kordi MR, Nekouei A, Shafiee A, Hadidi V. The effect of eight weeks high intensity aerobic continuous and interval training on gene expression of vascular endothelial growth factor in soleus muscle of healthy male rats. *AMUJ* 2015;18(8): 53-62.
56. Birkenfeld AL, Shulman GI. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2014;59(2): 713-23.
57. Malin SK, Del Rincon JP, Huang H, Kirwan JP. Exercise-induced lowering of fetuin-A may increase hepatic insulin sensitivity. *Med Sci Sports Exerc* 2014;46(11): 2085.
58. Ix JH, Shlipak MG, Brandenburg VM, Ali S, Ketteler M, Whooley MA. Association between human fetuin-A and the metabolic syndrome: data from the Heart and Soul Study. *Circulation* 2006;113(14): 1760-7.
59. Weikert C, Stefan N, Schulze MB, Pischon T, Berger K, Joost HG, et al. Plasma fetuin-a levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *Circulation* 2008;118(24): 2555-62.
60. Reinehr T, Karges B, Meissner T, Wiegand S, Fritsch M, Holl RW, et al. Fibroblast growth factor 21 and fetuin-A in obese adolescents with and without type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(8): 3004-10.
61. Schultes B, Frick J, Ernst B, Stefan N, Fritsche A. The effect of 6-weeks of aerobic exercise training on serum fetuin-A levels in non-diabetic obese women. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2010 Nov;118(10): 754-6.
62. Winn NC, Liu Y, Rector RS, Parks EJ, Ibdah JA, Kanaley JA. Energy-matched moderate and high intensity exercise training improves nonalcoholic fatty liver disease risk independent of changes in body mass or abdominal adiposity - A randomized trial. *Metabolism* 2018;78: 128-40.
63. Kharitonov A, Shivanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 2005;115(6): 1627-35.
64. Xu J, Lloyd DJ, Hale C, Stanislaus S, Chen M, Sivits G, et al. Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes* 2009;58(1): 250-9.
65. Chui PC, Antonellis PJ, Bina HA, Kharitonov A, Flier JS, Maratos-Flier E. Obesity is a fibroblast growth factor 21 (FGF21) resistant state. *Diabetes* 2010;59(11): 2781-9.
66. Kim KH, Kim SH, Min Y-K, Yang H-M, Lee J-B, Lee M-S. Acute exercise induces FGF21 expression in mice and in healthy humans. *PloS one* 2013;8(5): e63517.
67. Zhang Y, Wang D, Liu Y, Zhang Y, Liu Y, Su Z, et al. Impacts of chronic exercise on human blood fibroblast growth factor 21 levels in normal people: a meta-analysis. *Biomed Res* 2017;28(13): 5726-32.

EVALUATION OF HEPATOKINE AND LIVER ENZYMES CHANGES IN OBESE RATS WITH THE HIGH-FAT DIET TO DIFFERENT TRAINING MODALITIES: AN EXPERIMENTAL STUDY

*Mahsa Ehsani Far¹, Aref Habibi Maleki², Asghar Tofighi^{*3},
Mohammad Hasan Khadem Ansari⁴, Javad Tolouei Azar⁵*

Received: 25 Apr, 2019; Accepted: 16 July, 2019

Abstract

Background & Aims: Exercise with modulation of hepatokine counteracts pathological abnormalities of the liver due to fat accumulation. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of high-intensity continuous training (HICT), high-intensity interval training (HIIT), and moderate-intensity continuous training (MICT) on Fetuin-A, FGF-21 and liver enzymes of the obese rats with high-fat diet.

Materials & Methods: A total of 25 male Wistar rats were divided into 5 groups: 1) healthy control; 2) high-Fat Diet (HFD) control; 3) HICT; 4) HIIT and 5) MICT. Except for the healthy control group, all rats were subjected to the high-fat diet for 12 weeks and then the training rats were trained for 12 weeks, 5 sessions a week. Fetuin-A and FGF-21 values were measured by the ELISA method. Data were analyzed by dependent t-test and one-way ANOVA at a significance level of $P \leq 0.05$.

Results: The results of the ANOVA test showed that there is a significant difference between groups in Fetuin-A ($P = 0.001$ and $F = 7.670$) and FGF-21 ($P = 0.010$ and $F = 4.394$). It was also found that different training modalities had a different effect on hepatokine (MICT: a significant reduce in Fetuin-A and HICT: a significant increase in FGF-21) and had the same effect on ALT and AST. The HFD control significantly increased liver enzymes ($P = 0.001$). However, all the exercise types significantly decreased these enzymes (for all groups, $P = 0.001$).

Conclusion: MICT exercises are more capable of controlling liver negative hepatokine such as Fetuin-A that prevent insulin resistance. However highintensity exercises such as HICT can increase the positive factors, such as FGF-21, that modifies the activity of the liver enzymes. As a result, it seems that obese subjects can use moderate to high-intensity exercises to prevent fatty liver.

Keywords: Fetuin-A, FGF-21, high-intensity continues training, moderate-intensity continues training, high-intensity interval training.

Address: Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

Tel: +989144467079

Email: a.tofighi@urmia.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2019; 30(6): 501 ISSN: 1027-3727

¹ M.Sc. of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

² M.Sc. of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

³ Associate Professor of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding author)

⁴ Professor of Biochemistry, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

⁵ Assistant Professor of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran