ORIGINAL ARTICLE

Comparing the Effect of High and Moderate Intensity Exercise Trainings and Resveratrol Supplementation on FGF-21 and Cytokeratin-18 in Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease

Ghasem Masodzade[1],
Alireza Barari[2],
Asieh Abbasi daloii[3],
Parvin Farzanegi[4]

[1] PhD Student in Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[2] Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[3] Associate Professor, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[4] Associate Professor, Department of Sport Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

(Received September 30, 2021 ; Accepted March 9, 2021)

Abstract

Background and purpose: There is little evidence about the effect of exercise trainings with different intensities and resveratrol on Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) indexes. This investigation aimed at studying the effect of 8 weeks of high and moderate intensity exercise training and resveratrol supplementation on alterations of FGF-21 and Cytokeratin-18 levels in NAFLD rats.

Materials and methods: In this experimental study, 48 adult male rats (210±10 gr) were randomly divided into six groups, including a healthy control group, a patient group, rats that received saline, some to do high and moderate intensity exercise trainings, and animals that received resveratrol (10 mg/kg/day). High fat emulsion was used to induce NAFLD. Exercise trainings were performed at 8 weeks, five times a week for 45 minutes. We measured serum levels of FGF-21 and Cytokeratin-18 by ELIZA and FGF21 mRNA by PCR real time method. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey's post-hoc test.

Results: The serum levels of FGF21 mRNA, FGF-21, and Cytokeratin-18 showed significant decrease in resveratrol group, and high and moderate intensity exercise groups compared to the patient group ($P \leq 0.001$), but were not significantly different among these three groups ($P \leq 0.001$).

Conclusion: The resveratrol supplementation, and high and moderate intensity exercise trainings could decrease FGF-21 and Cytokeratin-18serum levels in NAFALD rats.

Keywords: aerobic exercise, resveratrol, fibroblast growth factor 21, Cytokeratin-18, nonalcoholic fatty liver

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (197): 1-11 (Persian).

* **Corresponding Author: Alireza Barari -** Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
(E-mail: zfotoukian@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و یکم شماره 197 خرداد سال 1400 (11-1)

مقایسه اثر دو نوع تمرین هوازی شدید و متوسط و مصرف رزوراترول بر FGF-21 و سایتوکراتین-18 در موش های صحرایی مبتلا به کبدچرب غیر الکلی (NAFALD)

قاسم مسعودزاده[1]
علیرضا براری[2]
آسیه عباسی دلویی[3]
پروین فرزانگی[4]

چکیده

سابقه و هدف: اثر تمرینات با شدت مختلف و رزوراترول (Resveratrol) بر نشانگرهای کبدچرب غیرالکلی (NAFALD) کم‌تر مطالعه شده است. هدف مطاله حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی با شدت بالا و متوسط و مصرف رزوراترول بر تغییرات سطوح FGF-21 و سایتوکراتین -18در NAFALD بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی 48 سر موش صحرایی نر بالغ ویستار (با میانگین وزن 10±210 گرم) به‌طور تصادفی به 6 گروه: کنترل سالم، بیمار، سالین، تمرین شدید، تمرین متوسط و مصرف رزوراترول تقسیم شدند. دوره تمرین در مدت هشت هفته، 5 جلسه در هفته و هر جلسه 45 دقیقه انجام شد. القای NAFALD به‌صورت گاواژ امولسیون پرچرب بود. مصرف رزوراترول نیز روزانه و به میزان 100 میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن بود. سطوح سرمی FGF-21 و سایتوکراتین -18به روش الایزا و سطوح FGF21 mRNA به روش Rt-PCR اندازه‌گیری شد. آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی با شرط P <0/05 به‌کار گرفته شد.

یافته‌ها: سطوح سرمی FGF-21، سطوح FGF21 mRNA کبدی و سطوح سرمی سایتوکراتین -18 در گروه رزوراترول، تمرین شدید و تمرین متوسط در مقایسه با گروه بیمار (شاهد) کاهش معنی‌داری داشت (P <0/001). البته بین دو گروه تمرینی و رزوراترول تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

استنتاج: مکمل یاری رزوراترول و تمرین ورزشی با شدت بالا و متوسط با کاهش FGF-21 و سایتوکراتین -18 سرمی موش‌های صحرایی مبتلا به NAFALD همراه می‌شود.

واژه های کلیدی: تمرین هوازی، رزوراترول، فاکتور رشد فیبروبلاستی -21، سایتوکراتین -18، کبد چرب غیرالکلی

مقدمه

کبد چرب غیرالکلی یا NAFALD (Non lcoholic Fatty Liver Disease) شیوع بالایی در جهان دارد و به عنوان یکی از علل اصلی بیماری‌های مزمن کبدی شناخته می‌شود(1). NAFALD با چاقی،

مولف مسئول: علیرضا براری - آمل: دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی E-mail:alireza54.barari@gmail.com
1. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
2. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی - آمل، ایران
3. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
4. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1398/7/8 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/4/28 تاریخ تصویب : 1399/12/19

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

سندرم متابولیک و دیابت در ارتباط است(2). طیف گسترده آسیب‌شناسی این اختلال تجمع چربی در پارانشیم کبدی یا استئاتوزیس(Steatosis) کبدی ساده، استئاتوهپاتیت غیر الکلی (Non Alcoholic Steatohepatitis) و سیروز (Cirrhosis) کبدی را شامل می‌شود(3). در برخی از بیماران ادامه روند استئاتوزیس وضعیت‌های التهاب، آپوپتوز و فیبروز را به دنبال دارد و برآورد می‌شود 20 درصد بیماران به سیروز یا کارسینومای هپاتوسلولار دچار شوند(4).

به دلیل محدودیت‌های روش بیوپسی کبدی، برخی مطالعات به پیش بینی روند پیشرفت NAFALD از طریق ردیابی برخی نشانگرها پرداخته اند. این نشانگرها بایستی در دسترس، ساده، با صرفه اقتصادی و متناسب با فرایندهای متمایز استئاتوهپاتیت و استئاتوز باشند(5). در این راستا، FGF21 (Fibroblast growth factor 21) و سایتوکراتین -18 (Cytokeratin 18) به‌عنوان نشانگرهای زیستی کبد چرب غیرالکلی مطرح شدند. این نشانگرها متعاقب استرس اکسیداتیو، آپوپتوز و التهاب هپاتوسیت ها در پاسخ به اختلالات متابولیسم لیپیدی ناشی از NAFALD به داخل گردش خون ترشح می‌شوند(6).

FGF21 به‌طور عمده توسط کبد، پانکراس و بافت چربی بیان می‌شود و در افزایش بازجذب گلوکز در بافت چربی به صورت مستقل از انسولین، مهار سنتز اسیدهای چرب و تری‌گلیسرید در کبد و کاهش وزن توده چربی نقش دارد(7). با این وجود، گزارش‌هایی مبنی بر سطوح سرمی بالای این پپتید در افراد چاق و مبتلایان به NAFALD ارائه شده است(8). از سوی دیگر، سطوح بالای آپوپتوز کبدی بویژه در مرحله استئاتوهپاتیت کبد چرب غیرالکلی گزارش شده است(9). فیلامنت‌های پروتئینی سایتوکراتین -8 و سایتوکراتین -18 موجود در اسکلت سلولی هپاتوسیت‌ها برای پایداری مکانیکی این سلول‌ها اهمیت زیادی دارند(10). به دنبال پیشرفت مرحله استئاتوهپاتیت کبد چرب غیرالکلی و در نتیجه افزایش آپوپتوز و فعالیت کاسپازها، غلظت سرمی کراتین -18 افزایش می‌یابد. به بیانی دیگر سطح سرمی این نشانگر همبستگی بالایی با شدت التهاب کبدی و استئاتوهپاتیت غیرالکلی دارد(11). به تازگی استفاده از تمرینات ورزشی به عنوان یک روش درمانی غیردارویی در NAFALD مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که یک دوره تمرین هوازی با شدت بالا در مدت 8 هفته(12) و3 ماه تمرینات ترکیبی هوازی و مقاومتی با شدت متوسط(13) در افراد جوان سالم سبب افزایش FGF21 سرمی شده است. از سویی دیگر 7 روز تمرین دویدن روی نوارگردان با شدت 85 درصد ضربان قلب بیشینه با کاهش سایتوکراتین -18 همراه شد(14) اما این تغییر در افراد چاق بعد از 12 هفته تمرینات هوازی و مقاومتی یافت نشد(16،15). به دلیل محدودیت مطالعات انسانی و در راستای تکمیل دانش فعلی در زمینه تاثیر شدت های مختلف فعالیت بدنی بر سطوح سرمی و FGF21mRNA کبدی و سایتوکراتین -18 در وضعیت NAFALD انجام مطالعات حیوانی پیشنهاد می‌شود. در یک مطالعه حیوانی در موش‌ها، سطوح بالای FGF21mRNA ناشی از 16 هفته رژیم غذایی پرچرب، به دنبال تمرینات بدنی به میزان 20 درصد کاهش یافت. در مطالعه‌ای دیگر در رت‌های چاق، یک دوره تمرینات با شدت بالا در مقایسه با شدت متوسط منجر به افزایش FGF21 بافت عضله و چربی شد اما تفاوتی در غلظت سرمی FGF21 وجود نداشت(17).

«نقش مفید ترکیب گیاهی پلی‌فنلی رزوراترول (Resveratrol) با دارا بودن ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی و کاهش توده چربی در درمان برخی از بیماری‌های متابولیکی یا التهابی گزارش شده است(19،18). طبق گزارش برخی مطالعات حیوانی، دریافت رزوراترول با کاهش تجمع چربی در کبد و پیشگیری از ایجاد استئاتوز همراه بوده است(20). این اثر رزوراترول ممکن است مستقل از پروفایل‌های لیپیدی و مقاومت انسولینی باشد(21). در مطالعات دیگر نشان داده شد که در افراد مبتلا به NAFALD، مصرف روزانه 600 و 500 میلی‌گرم مکمل

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

رزوراتـرول بـه مـدت 12 هفتـه، بـه ترتیـب بـا کـاهش FGF21 و سایتوکراتین -18 سرمی همراه بـود(23،22). بـا ایـن وجـود، درک کامـل اثـر رزوراتـرول در درمـان NAFALD ، نیازمند مطالعات بیش‌تری است. در مطالعه حاضر، اندازه گیری سطوح FGF21mRNA کبـدی در کنار سطوح سرمی آن درک کامل‌تری از بیان ژن کبدی و پیدایش سرمی این مولکول را ارائه داده است. از سـویی دیگـر، در ایـن مطالعـه حیـوانی بـرای اولـین بـار تـاثیر مداخله‌های ترکیب گیاهی رزوراترول و تمرینـات ورزشـی با شدت بالا و متوسط بر میزان FGF21 و سایتوکراتین -18 به‌عنوان نشانگرهای NAFALD، مقایسه شده است.

مواد و روش ها

پژوهش حاضـر از نـوع تجربـی اسـت کـه در سـال 1397 در دانشگاه آزاد واحد سـاری انجـام شـد. 48 سـر موش صحرایی نر ویستار 110 روزه و با محـدوده وزنـی تا 10±210 گرم مورد مطالعه قرار گرفتند. در طول دوره پژوهش حیوانات از آب و پلیـت شـرکت خـوراک دام پارس تهران برخوردار بودند. دمای اتاق حیوانات 20 تـا 23 درجه سـانتی‌گـراد و چرخـه شـبانه‌روزی 12 سـاعت تاریکی و 12 ساعت روشنایی برقرار بود. اصـول نگهـداری ایـن حیوانـات براسـاس قـوانین بـین‌المللـی حمایـت از حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و به تصویب کمیته اخلاق (کـد اخـلاق: R.IAU.SARI.REC.1397.8) دانشـگاه آزاد اسلامی واحد ساری رسید. حیوانات به دو گروه سـالم (8 سر) و بیمار (40 سر) به‌صورت تصادفی تقسیم شـدند. سپس گروه بیمار پس از القای NAFALD، تصـادفی بـه 5 زیرگروه کنترل یا شاهد (8 سر)، سالین (8 سـر)، تمـرین با شدت بالا (8 سر)، تمرین با شـدت متوسـط (8 سـر) و مصـرف رزوراتـرول (8 سـر) تقسـیم شـد. بـرای القـای اسـتئاتوز یـا NAFALD از پروتکـل گـاواژ امولسـیون پرچرب استفاده شد. بر این اساس، حیوانات گـروه‌هـای بیمار علاوه بر رژیـم غـذایی معمـول، بـه مـدت 6 هفتـه تحـت گـاواژ روزانـه (راس سـاعت 8 صـبح) امولسـیون پرچرب قرار داشـتند. امولسـیون پرچـرب شـامل روغـن ذرت (400گـرم)، سـدیم دی‌اکسـی‌کـولات (10گـرم)، کلسترول (100گرم)، پودر کامل شیر (80گرم)، ساکارز (150گرم)، توئین80 (36/4 گرم)، پروپیلن گلیکـول 80 (31/1 گرم)، مولتی ویتامین (2/5گرم)، نمک (10گرم)، مواد معـدنی (1/5 گـرم) و آب مقطـر(300 میلـی‌لیتـر) و به‌صورت 10 میلی‌لیتر در هر کیلوگرم وزن بـدن حیـوان بود(24). رزوراترول از شـرکت شـیمیایی سـیگما کشـور انگلستان (POOL.DORSET.UK) بـود کـه بـه‌صـورت زبانی با یک کاتتر ویژه (orogastric catheter) و بـه مقـدار 10 میلی‌گرم در روز به مصرف حیوانات مـی‌رسـید(25). گروه‌های تمرینی به مدت یک هفتـه (6 جلسـه تمـرین) قبل از شروع تمرینات با استرس تمرینـی بـه‌صـورت 10 دقیه دویدن روی نوارگردان با سرعت 10 متـر بـر دقیقـه آشنا شدند. زمان گرم کردن در تمرینات بدنی 10 دقیقـه و و زمـان سـرد کـردن آن 5 دقیقـه بـود. برنامـه اصـلی تمـرین بـا شـدت بـالا بـه صـورت تمرینـات تنـاوبی 30 ثانیه‌ای و با سرعت 29 الی 35 متر بر دقیقه و در زمان 30 دقیقه اجرا شـد و برنامـه تمـرین متوسـط شـامل 5 دقیقـه دویدن تداومی با سرعت 10 متر بـر دقیقـه بـود و سـپس سرعت به 12 الی 18 متر بر دقیقه رسید. پروتکـل تمـرین بـا شدت بالا و متوسط، براساس سرعت نوارگردان مخصوص جونـدگان، برگرفتـه از مطالعـه Kartinah و همکـاران بود(17). کل زمان هر جلسـه تمرینـی 45 دقیقـه بـود کـه به‌صورت 5 روز در هفته و به مدت 8 هفته ادامه داشت.

48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و در حالت 12 ساعت ناشتایی تمام حیوانات با تزریق درون صـفاقی ماده بیهوشی حاوی کتامین (40 میلی‌گـرم بـر کیلـوگرم وزن بدن) و زایلازین (4 میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهـوش شدند و خون‌گیری با سرنگ از بطـن چـپ قلـب انجـام گرفت. در اندازه‌گیری سرمی متغیرها، نمونه‌ها بـه مـدت 15 دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شـد و سرم حاصل در دمای انجماد منفی 80 درجه سانتی‌گـراد نگهداری شد و در زمان آزمایش بـه روش الایـزا مـورد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

بررسی قرار گرفتند. به همین منظور، از کیت های آزمایشگاهی مخصوص موش ها ساخت کشور ایالات متحده MOUSE FGF-21 ELISA KIT (ab212160), MOUSE CYTOKERATIN-18 KIT (MBS725424). جهت سنجش غلظت فاکتور رشد فیبروبلاستی -21 (حساسیت 1/47 و دامنه اندازه‌گیری 9/37 تا 600 پیکوگرم بر میلی‌لیتر) و سایتوکراتین - 18 (حساسیت 0/1 و دامنه اندازه گیری 1 تا35نانوگرم بر میلی‌لیتر) استفاده شد. در اندازه‌گیری mRNA، ابتدا کبد از بدن حیوان جدا و به قطعات کوچک‌تر برش داده شد و سپس در میکروتیوب مخصوص قرار داده شد و تا زمان آزمایش دمای انجماد منفی 80 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای استخراج RNA تام از کبد، ابتدا حدود 1000 میلی‌گرم از بافت کبد از شرایط استریل جدا و با نیتروژن مایع هموژنیزه شد و سپس در داخل میکروتیوب RNasefree منتقل و روی آن یک سی‌سی ترایزول (شرکتTHERMO) اضافه شد. برای جداسازی RNA از فاز پروتئین و DNA حدود 200 میکرولیتر کلروفرم به داخل هر میکروتیوب اضافه شد و برای رسوب RNA از ایزوپروپانول استفاده شد. برای تعیین غلظت RNA استخراج شده و اطمینان از عدم آلودگی به DNA و پروتئین از دستگاه نانودراپ (شرکت THERMO FISHER) استفاده شد. غلظت RNA به‌دست آمده بین 2000 تا 5000 نانوگرم بر میکرولیتر بود که برای اطمینان از خلوص آن، محصول به‌دست آمده روی آگارز 1/2 درصد الکتروفورز شد. همچنین جهت اطمینان از عدم آلودگی RNA تام، نمونه ها با آنزیم DNase تیمار شد. در روش RT-PCR، ابتدا cDNA از mRNA استخراج شد و با استفاده از دستورالعمل کیت ساخت کشور آلمان Qiagen GmbH,Hilden,Germany (NO. PR89162) فرایند محصول تکمیل شد. توالی پرایمرها در جدول شماره 1 ارائه شده است.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS20 انجام شد. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها و برقراری اصل تجانس واریانس‌ها، آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA) و آزمون توکی برای بررسی تفاوت بین گروه ها با در نظر گرفتن ($P\leq0/05$) برای معنی‌دار بودن آماری به کار گرفته شدند.

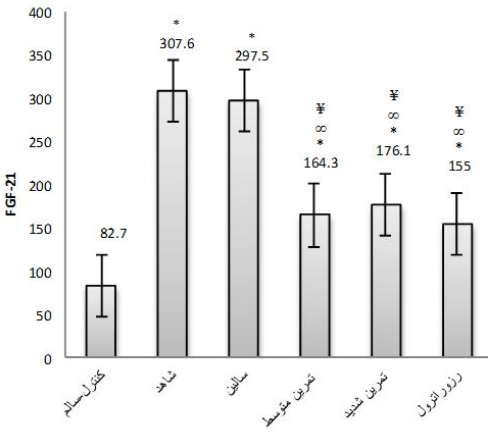
جدول شماره 1: توالی پرایمرها

پرایمر معکوس	پرایمر پیشرو	
CGCCTACCACTGTTCCATCCT	GTACCTCTACACAGATGACGAA	FGF21
GGGTTTCCCGTT	GTTACCAGGGCT	GAPDH

یافته ها

الف) سطوح سرمی FGF-21

مقایسه میانگین سطوح سرمی FGF-21 نشان داد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد($P\leq0/001$). مقایسه‌های دقیق‌تر نشان داد بین گروه کنترل سالم و بیمار شاهد و سالین تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P\leq0/001$). همچنین در بین گروه‌های بیمار، تفاوت میان گروه شاهد با هر دو گروه تمرین با شدت بالا و شدت متوسط معنی‌دار است($P\leq0/05$). با این وجود، تفاوت میان گروه های شاهد و سالین ($P\leq0/05$) و رزوراترول، تمرین با شدت بالا و شدت متوسط ($P\leq0/05$) معنی‌دار نبود (نمودار شماره1).



نمودار شماره 1: مقایسه میانگین سطوح سرمی FGF21 برحسب پیکوگرم بر میلی لیتر در بین گروه ها

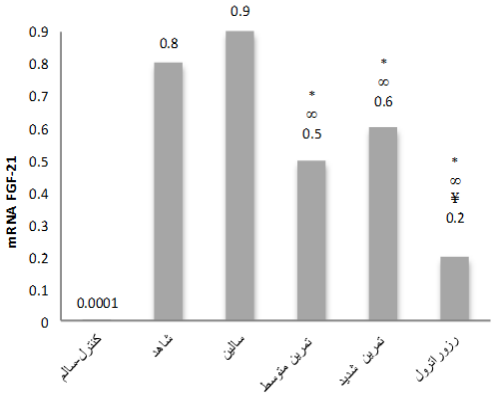
علامت‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند. (*: نسبت به گروه کنترل سالم. ∞: نسبت به گروه بیمار شاهد .¥: نسبت به گروه سالین).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

ب) سطوح FGF21mRNA≤

مقایسه سطوح FGF21 mRNA نشان داد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد(P≤0/001). محاسبات دقیق‌تر نشان داد بین گروه کنترل سالم و بیمار شاهد و سالین تفاوت معنی‌دار وجود داشت(P≤0/001). تفاوت معنی‌داری بین گروه رزوراترول و چهار گروه گروه شاهد، سالین، تمرین با شدت بالا و تمرین با شدت متوسط وجود داشت (P≤0/001).

همچنین اختلاف بین گروه رزوراترول با هر دو گروه تمرین باشدت بالا و متوسط معنی‌دار بود (P≤0/001). با این وجود، در بین گروه‌های بیمار، تفاوت میان گروه شاهد و سالین و همچنین تفاوت گروه‌های تمرین با شدت بالا و تمرین با شدت متوسط معنی‌دار نبود(P≤0/05) (نمودار شماره 2).

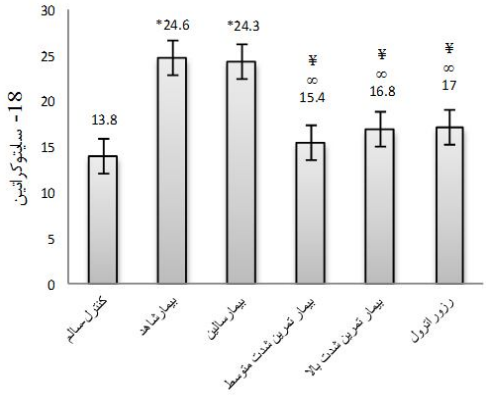


نمودار شماره 2: میانگین سطوح FGF21 mRNA کبد پس از متعادل شدن با GAPDH

علامت‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند. (∞: نسبت به گروه بیمار شاهد و سالین. ¥: نسبت به گروه تمرین با شدت بالا و تمرین با شدت متوسط). (* : نسبت به گروه کنترل سالم. ∞: نسبت به گروه بیمار شاهد. ¥: نسبت به گروه سالین).

ج) سطوح سرمی سایتوکراتین -18

همچنین مقایسه سطوح سرمی سایتوکراتین -18 نشان داد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت(P≤0/001). در ادامه، محاسبات آماری بیان کرد بین گروه کنترل سالم با هر دو گروه بیمار شاهد وسالین تفاوت معنی‌دار وجود داشت(P≤0/001). در بین گروه‌های بیمار، تفاوت میان گروه شاهد و سالین با هر دو گروه تمرینی و رزوراترول معنی‌دار بود(P≤0/05). هرچند تفاوت میان گروه‌های شاهد و سالین و همچنین رزوراترول، تمرین با شدت بالا و متوسط(P≤0/05) معنی‌دار نبود (نمودار شماره 3).



نمودار شماره 3: مقایسه میانگین سطوح سایتوکراتین-18برحسب نانوگرم برمیلی لیتر در بین گروه ها

علامت‌ها نشان دهنده اختلاف معنی‌دار هستند. (* :نسبت به گروه کنترل سالم. ∞: نسبت به گروه بیمار شاهد .¥: نسبت به گروه سالین).

بحث

هدف پژوهش حاضر بررسی میزان تاثیرگذاری تمرینات با شدت بالا، متوسط و همچنین رزوراترول بر نشانگرهای FGF21 و سایتوکراتین -18 در موش‌های صحرایی مبتلا به NAFALD با روش گاواژ امولسیون پرچرب بود. یافته‌های این پژوهش نشان داد که در موش‌های صحرایی گروه شاهد یا بیمار، مقدار FGF21 سرمی به میزان 27/1 درصد در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش داشت. این نتیجه در واقع بازتابی از وجود مقاومت به FGF21 در بافت‌های مختلف، پیشرفت اختلالات متابولیکی، چاقی و NAFALD است(31-25). همچنین در این پژوهش، 8 هفته تمرینات با شدت بالا به میزان 42/8 درصد و تمرین با شدت متوسط به میزان

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

46/6 درصد در مقایسه با گروه شاهد با کاهش معنادار این شاخص سرمی همراه شد. این نتایج وابسته به شدت تمرین نبود و الگوی تغییرات سطوح سرمی FGF21 و mRNA در پاسخ به دو نوع تمرین ورزشی مشابه بود. بنابراین، می‌توان بیان داشت سطوح سرمی FGF21 متناسب با بیان کبدی بوده است. مطالعات قبلی نشان داده اند رژیم غذایی پرچرب سطح mRNA مولکول FGF21 کبدی را افزایش داده و در مقابل تمرین ورزشی اثر کاهشی دارد(16).

Kartinah و همکاران(2018) نیز با مقایسه دو نوع تمرین هوازی شدید و متوسط، گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در تاثیر غلظت سرمی FGF21 در بین دو نوع شدت تمرین وجود نداشت(17). در این پژوهش در گروه شاهد سطح بسیار بالای FGF21 به دلیل وضعیت کبدچرب ناشی از امولسیون پرچرب مشاهده شد. اسیدچرب‌های آزاد (FFAs) حاصل از چربی احشایی عامل اصلی سنتز چربی کبدی بوده و با تحریک فعالیت PPAR-α نقش میانجیگری در افزایش بیان FGF21 کبدی دارند. از سویی دیگر کاهش گیرنده‌های FGF که یک پاسخ محافظتی در برابر استرس‌های متابولیک مانند مقاومت به انسولین و افزایش لپتین وابسته با چاقی هست، درافزایش غلظت سرمی این ماده نقش دارد(29-27). در جریان فعالیت‌های ورزشی هوازی و حتی چندساعت بعد از آن، شدت و حجم اکسیداسیون اسیدهای چرب عضلات اسکلتی افزایش می‌یابد. تداوم این فرایند و به‌کارگیری ظرفیت بیش‌تری از اکسیداسیون اسیدهای چرب و بایوژنز میتوکندریایی در عضلات اسکلتی می‌شود. از سوی دیگر، فعالیت‌های ورزشی از افزایش بازجذب FFA کبد جلوگیری و زمینه را برای ورود آن در عضلات فعال هموار می‌کند(31،30).

خلفی و همکاران در بررسی آثار تمرینات ورزشی تناوبی با شدت بالا(HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MICT) بر فاکتور رشد فیبروبلاستی-21 در رت‌های نر چاق نشان دادند که در گروه تمرینات HIIT نسبت به گروه گروه کنترل سطوح سرمی FGF-21 به صورت معنی‌داری افزایش یافت. در حالی که MICTاثرات معنی‌داری بر دو هورمون FGF-21 نداشت(32).

Chui و همکاران نشان دادند که افزایش سرمی این فاکتور در گروه شاهد ممکن است بازتابی از یک پاسخ محافظتی در برابر استرس متابولیکی ایجاد گردد و تحت رژیم غذایی پرچرب باشد که به‌صورت یک پاسخ افزایشی و جبرانی در موش‌های چاق همراه می‌شود(33). همسو با پژوهش حاضر، آزالی علمداری و همکاران در سال 2019 نیز نشان دادند که در افراد چاق یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا علاوه بر بهبود حساسیت انسولینی و کاهش جربی، سبب کاهش FGF21 سرمی آزمودنی‌ها شد(34).

یکی از دلایل کاهش این فاکتور در پاسخ به تمرینات ورزشی به عواملی مانند نوع تمرینات، افزایش حساسیت انسولینی، کاهش انسولین و چربی پلاسمایی وابسته است و در هنگام اجرای تمرینات ورزشی نیازی به افزایش ترشح سرمی FGF21 برای القای حساسیت انسولینی وجود ندارد(36،35). از سوی دیگر، بخش عمده‌ای از این فاکتور منشا کبدی دارد(37). برخی از تحقیقات نشان دادند که تمرینات ورزشی می‌تواند بیان گیرنده FGF21 در کبد را افزایش دهد(39،38). از نتایج دیگر این مطالعه، کاهش91 درصدی سطوح سرمی FGF21 و کاهش بیان mRNA کبدی در گروه رزوراترول در مقایسه با گروه شاهد بود. همچنین گزارش شد که مصرف مکمل رزوراترول با دوز 600 میلی‌گرم در مبتلایان به NAFALD با کاهش سطوح سرمی FGF21 همراه است(22). رزوراترول ممکن است با افزایش فسفریلاسیون AMPK و کاهش پروتئین پیوندی به عنصر تنظیمی استرول (SREBP) به همراه کاهش بیان آنزیم اسید چرب سنتاز (FAS) سبب کاهش تجمع‌تری گلیسریدهای کبدی در حیوانات مورد مطالعه شود(42-40).

نتایج این پژوهش نشان داد که مصرف یک دوره

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

امولسیون پرچرب، سطوح سایتوکراتین -18 سرمی را 78 درصد افزایش داد. در گروه های بیمار، 8 هفته تمرینات با شدت بالا و متوسط به ترتیب به میزان 31/7 و 37 درصد سطوح سایتوکراتین -18 سرمی را کاهش دادند، در حالی که بین دو نوع تمرین ورزشی تفاوت معناداری مشاهده نشد. افزایش سطوح سرمی سایتوکراتین -18 ممکن است نشان دهنده پیشرفت وضعیت آپوپتوز هپاتوسیت‌ها باشد که در مطالعات قبلی گزارش شده است(43). البته کاهش سایتوکراتین -18 سرمی نیز پس از یک دوره دویدن کوتاه مدت 60 دقیقه‌ای با شدت 85 درصد ضربان قلب بیشینه بر روی نوارگردان گزارش شده است(14).

Houghton و همکاران (2017) نشان دادند که 8 هفته تمرین دوچرخه سواری در زمان کم‌تر از 60 دقیقه در هفته سبب کاهش معنی دار سایتوکراتین -18 سرمی نگردید(15).

در پژوهش حاضر مصرف رزوراترول با کاهش 31 درصدی سایتوکراتین -18 سرمی همراه شد. البته تحقیقات مختلف نیز نشان داد که فواید متابولیکی، التهابی و آپوپتوزی رزوراترول وابسته به دوز مصرفی آن است(21).

فقیه زاده و همکاران(2014) نشان دادند که مصرف رزوراترول با دوز 500 میلی گرم در روز می‌تواند سایتوکراتین -18 سرمی بیماران NAFALD را کاهش دهد(23). تحقیقات مختلف بیان کرد که تمرینات ورزشی(14) و مصرف رزوراترول(18) با بهبود عملکرد میتوکندریایی و استرس اکسیداتیو سلولی همراه است و می‌تواند در کاهش بیان fas لیگاندی و آپوپتوز هپاتوسیت‌ها نقش داشته باشند(46-44). در این ارتباط نیز می‌توان بیان نمود که تمرینات با شدت بالا ممکن است با افزایش استرس اکسیداتیو همراه باشد و البته تمرینات ورزشی با شدت متوسط و مصرف رزوراترول می‌تواند از مسیرهای مختلف سطوح ROS و نشانگرهای التهابی را کاهش دهند.

محدودیت عمده پژوهش حاضر، عدم اندازه‌گیری متغیرهایی مانند استرس اکسیداتیو، مقدار FFA، بیان پروتئین‌ها بویژه آنزیم‌های کبدی و کاسپازهای درگیر در آسیب کبدی بود که امکان داشت نتایج این مطالعه را دستخوش تغییر نمایند. به عبارت دیگر، اثر مصرف مکمل رزوراترول و دو نوع تمرین ورزشی با شدت بالا و متوسط به‌طور مشابهی سبب کاهش سطوح سرمی FGF21 و سایتوکراتین -18 در رت‌های مبتلا به NAFALD شد. از این‌رو، ممکن است خطرات ناشی از اختلالات کبدی را در نمونه‌های مورد مطالعه کاهش دهد. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آتی ضمن کنترل محدودیت‌های فوق، بیان پروتئین بافتی FGF21 و سطوح کاسپازهای درگیر را بررسی نمایند.

سپاسگزاری

از کلیه افرادی که در انجام این تحقیق به ما کمک کردند و همچنین از گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تشکر می‌شود.

References

1. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. Am J Gastroenterol 2003; 98(5): 960-967.
2. Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. J Hepatol 2012; 56: 255-266.
3. Ong JP, Younossi ZM. Approach to the diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. Clin Liver Dis 2005; 9(4): 617-634.
4. Michelotti GA1, Machado MV, Diehl AM. NAFLD, NASH and liver cancer.Nat Rev

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

Gastroenterol Hepatol 2013; 10(11): 656-665.

5. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE.Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future.Hepatology 2007; 46(2): 582-589.
6. He L, Deng L, Zhang Q, Guo J, Zhou J, Song W, et al. Diagnostic Value of CK-18, FGF-21, and Related Biomarker Panel in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. Biomed Res Int 2017; 2017: 9729107.
7. Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, Koukos G, Flier JS, Maratos-Flier E. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARα and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. Cell Metab 2007; 5(6): 426-437.
8. Hansen JS, Plomgaard P. Fibroblast growth factor 21: new insights from human studies. Cardiovascular Endocrinology & Metabolism 2016; 5(3): 112-116.
9. Canbay A, Friedman S, Gores GJ. Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. Hepatology 2004; 39(2): 273-278.
10. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology. Histochem Cell Biol 2008; 129(6): 705-733.
11. Vuppalanchi R, Jain AK, Deppe R, Yates K, Comerford M, Masuoka HC, Neuschwander-tetri BA, et al. Relationship between changes in serum levels of keratin 18 and changes in liver histology in children and adults with nonalcoholic fatty liver disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2014; 12(12): 2121-2130.
12. Cuevas-Ramos D, Almeda-Valde´s P, Meza-Arana CE, Brito-Co´ rdova G, Go´mez-Pe´rez FJ, Mehta R, et al. Exercise Increases Serum Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) Levels. PLoS ONE 2012; 7(5): e38022.
13. Kim J-S, Yoon DH, Kim H-j, Choi M-j, Song W. Resistance exercise reduced the expression of fibroblast growth factor-2 in skeletal muscle of aged mice. Integr Med Res 2016; 5(3): 230-235.
14. Fealy CE, Haus JM, Solomon TP, Pagadala M, Flask CA, Mcculogh AJ, Kirwan JP. Short term exercise reduces markers of hepatocyte apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease. J Appl Physiol (1985) 2012; 113(1): 1-6.
15. Houghton D, Thoma C, Hallsworth K, Cassidy S, Hardy T, Burt AD, Tiniakos D, et al. Exercise Reduces Liver Lipids and Visceral Adiposity in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis in a Randomized Controlled Trial. Clin Gastroenterol Hepatol 2017; 15(1): 96-102.
16. Hao L, Huang KH, Ito K, Sae-Tan S, Lambert JD, Ross AC. Fibroblast Growth Factor 21 (Fgf 21) Gene Expression Is Elevated in the Liver of Mice Fed a High-Carbohydrate Liquid Diet and Attenuated by a Lipid Emulsion but Is Not Upregulated in the Liver of Mice Fed a High-Fat Obesogenic Diet. J Nutr 2016; 146(2): 184-190.
17. Kartinah NT, Sianipar IR, Rabia, Nafi'ah .High Intermittent Intensity Training Induces FGF21 Secretion in Obese Rats. J Obes Metab 2018; 1(1): 103.
18. Tabrizi R, Tamtaji OR, Lankarani KB, Mirhosseini N, Akbari M, Dadgostar E, et al. The effects of resveratrol supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress among patients with metabolic syndrome and related disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

controlled trials. Food Funct 2018; 9(12): 6116-6128.

19. Heebøll S, Thomsen KL, Pedersen SB, Vilstrup H, George J, Grønbæk . Effects of resveratrol in experimental and clinical non-alcoholic fatty liver disease. World J Hepatol 2014; 6(4): 188-198.
20. Gómez-Zorita S, Fernández-Quintela A, Macarulla M, Aguirre L, Hijona E, Bujanda L, et al. Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. Br J Nutr 2012; 107(02): 202-210.
21. Faghihzadeh F, Adibi P, Hekmatdoost A. The effects of resveratrol supplementation on cardiovascular risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. Br J Nutr 2015; 114(5): 796-803.
22. Chen S, Zhao X, Ran L, Wan J, Wang X, Qin Y, et al. Resveratrol improves insulin resistance, glucose and lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. Dig Liver Dis 2015; 47(3): 226-232.
23. Faghihzadeh F, Adibi P, Rafiei R, Hekmatdoost A. Resveratrol supplementation improves inflammatory biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Nutr Res 2014; 34(10): 837-843.
24. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Hung Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sci 2006; 79(11): 1100-1107.
25. Bujanda L, Hijona E, Larzabal M, Beraza M. Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. BMC Gastroenterol 2008; 8(1): 40.
26. Tofighi A, Alizadeh R, Azar JT .The Effect of Eight Weeks High Intensity Interval Training (Hiit) on Serum Amounts of Fgf21 and Irisin in Sedentary Obese Women. J Urmia Univ Med Sci 2017; 28(7): 453-466 (Persian).
27. Taniguchi H, Tanisawa K, Sun X, Cao Z, Oshima S, Ise R, et al. Cardiorespiratory fitness and visceral fat are key determinants of serum fibroblast growth factor 21 concentration in Japanese men. J Clin Endocrinol Metab 2014; 99(10): E1877-E1884.
28. Kruse R, Vienberg SG, Vind BF, Andersen B, Højlund K. Effects of insulin and exercise training on FGF21, its receptors and target genes in obesity and type 2 diabetes. Diabetologia 2017; 60(10): 2042-2051.
29. Fishe FM, Chui PC, Antonellis PJ, Bina HA, Kharitonenkov A, Flier JS, et al. Obesity is a fibroblast growth factor 21(FGF21)-resistant state. Diabetes 2010; 59(11): 2781-2789.
30. McMillan KP, Kuk JL, Church TS, Blair SN, Ross R. Independent associations between liver fat, visceral adipose tissue, and metabolic risk factors in men. Appl Physiol Nutr Metab 2007; 32(2): 265-272.
31. Johnson NA, Stannard SR, Thompson MW. Muscle triglyceride and glycogen in endurance exercise: implications for peformance. Sports Med 2004; 34(3): 151-164.
32. Khalafi M, Mohebbi H, Karimi P. The Effect of High Intensity Interval Training on the Serum Levels of Irisin and Fibroblastic Growth Factor-21 (FGF-21), and Insulin Resistance in Obese Male Rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2018; 20(3): 116-126.
33. Chui PC, Antonellis PJ, Bina HA, Kharitonenkov A, Flier JS, Maratos-Flier E. Obesity is a fibroblast growth factor 21(FGF21)-resistant state. Diabetes 2010; 59(11): 2781-2789.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]

[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]

34. Azali Alamdari K, Khalafi M. the effects of high intensity interval training on serum levels of FGF-21 and insulin resistance in obese men. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2019; 18(1): 41-48 (Persian).
35. Thyfault JP, Rector RS, Uptergrove GM, Borengasser S, Morris EM, Wei Y, et al. Rats selectively bred for low aerobic capacity have reduced hepatic mitochondrial oxidative capacity and susceptibility to hepatic steatosis and injury. J Physiol 2009; 587(Pt 8): 1805-1816.
36. Hale C, Chen MM, Stanislaus S, Chinookoswong N, Hager T, Wang M, et al. Lack of overt FGF21 resistance in two mouse models of obesity and insulin resistance.Endocrinology 2012; 153(1): 69-80.
37. 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. Biomedical Research 2017; 28(13).
38. Fletcher JA, Linden MA, Sheldon RD, Meers GM, Morris EM, Butterfield A, et al. Fibroblast growth factor 21 and exercise-induced hepatic mitochondrial adaptations. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2016; 310(10): G832-G843.
39. Yie J, Hecht R, Patel J, Stevens J, Wang W, Hawkins N, et al. FGF21 N and C termini play different roles in receptor interaction and activation. FEBS Lett 2009; 583(1): 19-24.
40. Erickson A, Moreau R. The regulation of FGF21 gene expression by metabolic factors and nutrients. Horm Mol Biol Clin Investig 2016; 30(1): /j/hmbci.2017.30.issue-1/hmbci-2016-0016/hmbci-2016-0016.xml.
41. Poulsen MM, Larsen JØ, Hamilton-Dutoit S, Clasen BF, Jessen N, Pedersen SB, et al. Resveratrol up-regulates hepatic uncoupling protein 2 and prevents development of nonalcoholic fatty liver disease in rats fed a high-fat diet. Nutr Res 2012; 32: 701-708.
42. Shang J, Chen LL, Xiao FX, Sun H, Ding HC, Xiao H. Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMP-activated protein kinase. Acta Pharmacol Sin 2008; 29(6): 698-706.
43. Feldstein AE, Alkhouri N, De Vito R, Alisi A, Lopez R, Nobili V. Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children. Am J Gastroenterol 2013; 108(9): 1526-1531.
44. Tamimi TI, Elgouhari HM, Alkhouri N, Yerian LM, Berk MP, Lopez R, et al. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis. J Hepatol 2011; 54(6): 1224-1229.
45. Pessayre D, Mansouri A, Haouzi D, Fromenty B. Hepatotoxicity due to mitochondrial dysfunction. Cell Biol Toxicol 1999; 15(6): 367-373.
46. Peiyuan H, Zhiping H, Chengjun S, Chunqing W, Bingqing L, Imam MU. Resveratrol Ameliorates Experimental Alcoholic Liver Disease by Modulating Oxidative Stress. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2017: 4287890.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-12-30]
[DOR: 20.1001.1.17359260.1400.31.197.1.1]