

مقاله پژوهشی

اثر تمرینات استقامتی بر پیام‌رسانی سنتز اسیدهای صفراوی در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

مهری قلی‌پور^۱، نجمه رضائیان^{۱*}، محمد کریمی^۲، صادق چراغ بیرجندی^۱

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه صنعتی قم، قم، ایران

*مسئول مکاتبات: rezaeian.n@gmail.com

DOI: 10. 22034/ascij.2023.1977430.1455

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵

چکیده

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) شایع‌ترین اختلال عملکرد کبدی و یکی از علل مهم بروز مرگ و میر ناشی از بیماری‌های مزمن کبدی است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرینات استقامتی بر اسیدهای صفراوی (BA) کبدی، بیان نسبی گیرنده ایکس‌فازنوئید (FXR)، عامل رشد فیبروبلاست ۱۵ (FGF15)، گیرنده ۴ عامل رشد فیبروبلاست (FGFR4) و پروتئین بتا کلتو (KLB) در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بود. در این مطالعه تجربی تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۲۰-۱۶۰ گرم، پس از القای شرایط NAFLD، با شش هفته رژیم غذایی پرچرب به طور تصادفی در دو گروه مساوی (۸ سر در هر گروه) شامل گروه‌های؛ کنترل (C) و تمرین استقامتی (E) تقسیم شدند. گروه تمرین E در یک پروتکل تمرین فزاینده دوییدن روی تردمیل با شدت ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تواتر ۵ روز متوالی در هفته شرکت کردند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، آزمودنی‌ها کشته شده و نمونه‌گیری بافت کبد و نمونه خون برای ارزیابی متغیرهای تحقیق انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون t مستقل انجام شد. یافته‌ها نشان داد پروتکل تمرین E در مقایسه با گروه کنترل، منجر به کاهش معنادار در مقادیر کبدی BA شد ($p = 0/0001$). همچنین افزایش معنادار در بیان نسبی FXR، FGF15، FGFR4 و مقادیر پروتئین KLB مشاهده شد ($p = 0/0001$). در مجموع به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی استقامتی می‌تواند اثرات مثبتی بر متغیرهای درگیر در پیام‌رسانی سنتز اسیدهای صفراوی کبدی داشته باشد.

کلمات کلیدی: اسیدهای صفراوی، پیام‌رسانی، فعالیت ورزشی استقامتی، کبد چرب غیرالکلی.

مقدمه

درصد وزن آن اطلاق می‌گردد. کبد چرب غیرالکلی طیفی از استئاتوز خوش‌خیم تا استئاتوهپاتیت غیرالکلی همراه با التهاب (NASH) و سیروز کبدی است (۳۰). سازوکار اصلی بروز این بیماری شامل دو مرحله است؛ که در مرحله اول تجمع بیش از اندازه تری‌گلیسرید در سلول‌های کبدی و مقاومت به

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) یکی از علل شایع و در حال افزایش بیماری‌های مزمن کبدی در سراسر دنیاست. به وجود هپاتوستئاتوز در غیاب مصرف الکل، بیماری کبد چرب غیرالکلی گفته می‌شود که در واقع تظاهر کبدی سندرم متابولیک است. هپاتوستئاتوز به تجمع چربی در کبد بیش از ۵ تا ۱۰

صفراوی است و نمک‌های صفراوی مزدوج و غیرمزدوج می‌توانند FXR را در غلظت‌های فیزیولوژیکی فعال کنند (۱۲).

در روده، فعال شدن FXR می‌تواند باعث تولید FGF19 شود که به عنوان یک FGF با ویژگی‌های هورمونی شناخته می‌شود. در مورد چونگان، FGF15 دارای عملکردهای مشابه ولی نه لزوماً یکسان با FGF19 می‌باشد (۲۷). بیشترین میزان بیان FGF15/19 در ایلئوم انتهایی روده یافت می‌شود. اسیدهای صفراوی جذب شده توسط انتروسیت‌ها می‌توانند گیرنده هسته‌ای FXR را فعال کنند که منجر به تولید FGF15/19 می‌شود (۲۴). انتروسیت‌ها، FGF15/19 را از غشای قاعده جانبی خود به داخل سیاهرگ باب آزاد می‌کنند. به دنبال آن، FGF15/19 گیرنده فاکتور رشد فیروبلاست (FGFR) را در کبد فعال می‌کند و این منجر به مهار سنتز اسید صفراوی به واسطه مهار Cyp7a1 می‌شود. اعتقاد بر این است که FGF19/ FGF15 با فعال کردن همودایمرهای گیرنده (FGFR)، FGF کمپلکس شده با پروتئین بتا کلو تو (KLB) متصل به غشاء عمل می‌کند. به لحاظ بیوشیمیایی، FGF15 نیازمند انتقال‌دهنده غشایی بتاکلو تو می‌باشد تا به عنوان یک کوفاکتور، مسیر پیام رسانی به گیرنده‌های FGFR را تسهیل نماید و نوعی همپوشانی متابولیک را در چونگان نشان می‌دهد (۲). با وجود مطالعات انجام شده در این زمینه، هنوز جنبه‌های مختلفی از این مسیر پیام‌رسانی به درستی شناخته نشده و از طرفی تأثیر فعالیت‌های ورزشی مختلف از جمله فعالیت‌های ورزشی استقامتی بر اجزاء این مسیر پیام رسانی به درستی مشخص نیست. در بسیاری از مطالعات استفاده از روش‌هایی که منجر به کاهش وزن بدن، تنظیم چربی و قند خون می‌شوند؛ فعالیت‌های ورزشی استقامتی به عنوان یکی از روش‌های اثرگذار در پیشگیری از بسیاری از اختلالات

انسولین و در مرحله دوم استرس اکسیداتیو، بیان مستقل چند فاکتور التهابی و آدیپوسیتوکاین‌ها نقش دارند (۱۱، ۳۳). مطالعات نشان داده‌اند رژیم غذایی عامل مهمی در بروز NAFLD می‌باشد. استعداد ژنتیکی و تعادل مثبت انرژی بیشتر بر مرحله اول و ترکیب رژیم غذایی بیشتر بر مرحله دوم و شدت بیماری اثر گذار است (۲۵، ۳۴). با ترکیب کاهش وزن ایجاد شده به وسیله یک رژیم کم انرژی و افزایش فعالیت بدنی، سطح آنزیم‌های کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی به میزان زیادی به حالت طبیعی برمی‌گردد (۲۲).

مطالعات اخیر نشان داده اند، اسیدهای صفراوی به عنوان سیگنال‌های متابولیکی کلیدی در جریان بازسازی کبد نقش دارند و نقش آن‌ها در پیشرفت فرآیند بازسازی کبد، مورد توجه محققان قرار گرفته است. اسیدهای صفراوی، متابولیت‌های ویژه کبد هستند. آنها محصولات نهایی کاتابولیسم کلسترول می‌باشند و برای جذب مواد مغذی در روده مهم هستند. این مواد مغذی شامل کلسترول، لیپیدها و ویتامین‌های محلول در چربی می‌باشند. اسیدهای صفراوی در کبد سنتز شده و در کیسه صفرا ذخیره می‌شوند. آن‌ها هنگام مصرف یک وعده غذایی به روده ترشح می‌شوند، اما ۹۵ درصد اسیدهای صفراوی دوباره جذب شده و از طریق ورید باب به کبد منتقل می‌شوند (۱۲). اسیدهای صفراوی به عنوان حلال‌هایی در گوارش چربی غذا شناخته شده‌اند. به علاوه، یافته‌های جدید در دهه اخیر نشان داده‌اند که اسیدهای صفراوی به عنوان هورمون‌های روده‌ای عمل می‌کنند و فرآیندهای متابولیکی را از طریق گیرنده‌هایی از قبیل گیرنده ایکس فارتزوئید (FXR) تحت تأثیر قرار می‌دهد. FXR در کبد، روده و کلیه به شدت بیان می‌شود که در آن سطوح اسیدهای صفراوی نسبتاً بالا است. FXR حسگر اولیه اسیدهای

متابولیسم بدن از جمله بیماری کبد چرب غیرالکلی بیان شده اند (۳، ۲۰). در این مطالعه هدف، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر اسیدهای صفراوی کبدی، پروتئین کلوتو و بیان نسبی ژن های FGFR4 و FGF15، FXR در کبد موش های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، تعداد ۱۶ سر موش نر نژاد ویستار با سن شش هفته و وزن تقریبی ۱۲۰-۱۶۰ گرم به مدت دو هفته در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 23 ± 1 درجه سانتی گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد) و به منظور آشنایی با محیط آزمایشگاهی نگهداری شدند. از قفس های پلی کربنات شفاف ساخت شرکت رازی راد برای نگهداری موش ها در شرایط آزمایشگاهی استفاده گردید. به منظور القای شرایط NAFLD، موش های در یک رژیم غذایی پرچرب (۲۲ درصد چربی، ۲ درصد کلسترول، ۱ درصد کولین ۵۰ درصد کربوهیدرات، ۲۴ درصد پروتئین و ۱ درصد سایر ترکیبات) به مدت ۶ هفته قرار گرفتند (۱۹). در ادامه به طور تصادفی به دو گروه مساوی (۸ سر در هر گروه) شامل گروه های؛ کنترل و تمرین استقامتی تقسیم شدند. موش های گروه تمرین استقامتی با شدت ۱۲ متر در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در روز روی تردمیل مخصوص موش ها تمرین بدنی خود را آغاز کردند و به مدت یک هفته به تدریج زمان فعالیت به ۴۵ دقیقه در روز و شدت فعالیت به ۱۷ متر در دقیقه افزایش یافت. این یک هفته تمرین برای این منظور طراحی شده بود تا موش های گروه تمرین استقامتی در شروع پروتکل فزاینده و براساس اصل اضافه بار تمرین بتوانند هر هفته پنج روز متوالی، هر روز یک جلسه و هر جلسه ۵ دقیقه با شدت ۱۷ متر

در دقیقه روی نوار گردان بدوند؛ به طوریکه در هفته های اول و دوم با شدت ۱۷ متر در دقیقه، هفته های سوم و چهارم با شدت ۱۹ متر در دقیقه، هفته های پنجم و ششم با شدت ۲۱ متر در دقیقه، هفته های هفتم و هشتم با شدت ۲۳ متر در دقیقه و شیب صفر درجه تمرین کنند. پروتکل تمرینی استفاده شده در این طرح پژوهشی با توجه به سرعت دویدن موش ها روی تردمیل در محدوده شدت ۵۵ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی برآورد می شود (جدول ۱) (۲۶). به منظور تعیین شاخص شدت تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه آشناسازی با دویدن روی تردمیل، موش ها یک آزمون ورزشی فزاینده تا مرز خستگی را انجام دادند تا حداکثر سرعت دویدن آن ها مشخص گردد. آزمون فزاینده با سرعت ده متر در دقیقه آغاز و هر سه دقیقه، سه متر در دقیقه به سرعت آن ها افزوده می شد؛ تا به این ترتیب زمان رسیدن به خستگی و همچنین حداکثر سرعتی که با عدم توانایی موش ها برای دویدن روی تردمیل همراه بود، مشخص گردد. این سرعت به عنوان شاخصی برای حداکثر اکسیژن مصرفی در نظر گرفته می شود (۴۰). در طی این مدت، موش های گروه کنترل، هیچ تمرینی را روی تردمیل انجام نمی دادند. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی موش ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلزین (۳ تا ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) کشته شدند. بلافاصله پس از کشتن، قسمت تحتانی لوب راست بافت کبدی موش ها جدا شد و در داخل نیتروژن مایع، منجمد و تا زمان انجام مراحل آزمایشگاهی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. از روش مقایسه ای سیکل آستانه جهت سنجش تعداد کپی های ژن های هدف این تحقیق استفاده گردید (۳۲). به منظور هموزن کردن بافت مراحل زیر انجام گردید: (۱) بافت

استفاده از دستگاه نانودراپ (Thermo Scientific, USA) ارزیابی گردید. واکنش Real time PCR برای همه نمونه‌ها با استفاده از کیت SYBR Green PCR (Master Mix (شرکت Takara) و دستگاه ABI Applied Biosystems ساخت کشور آمریکا، همراه با سه بار تکرار انجام شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه بدست آمد و با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ، سطح بیان ژن نسبت به بیان ژن GAPDH به عنوان ژن خانه‌گردان، محاسبه شد. مقادیر اسیدهای صفراوی مستخرج از بافت کبد نیز با استفاده از روش (UPLC-MS/MS) مورد ارزیابی قرار گرفت (۳۶). به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t مستقل و در سطح معناداری $p < 0/05$ استفاده شد. کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گردید.

مورد نظر از فریزر خارج شده و با استفاده از ترازوی دیجیتال با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم وزن‌کشی شد؛ (۲) بافت داخل لوله آزمایش فالكون ۵ قرار داده شد و به نسبت هر ۰/۵ گرم بافت مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول لیزکننده تک فازی روی آن ریخته شد؛ (۳) برای حفظ پروتئین‌های بافت، آپروتینین به آن اضافه گردید؛ (۴) با استفاده از هموژنایزر به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه بافت هموژن شد؛ (۵) محلول بدست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید؛ (۶) محلول رویی توسط سمپلر به داخل میکروتیوب منتقل شده و رسوب باقیمانده دور ریخته شد. به منظور ارزیابی بیان ژنی متغیرهای پژوهش از تکنیک واکنش زنجیره پلیمرز استفاده گردید. بدین ترتیب که ابتدا از نمونه فریز شده، بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، RNA جداسازی شد. کیفیت RNA استخراج شده با

جدول ۱- توالی پرایمرها

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
FXR	5'-AGTTGGAAAGTTGGAGTG-3'	5'-GATTGTTGTATGGGGAGTA-3'
FGF15	5'-GAGGACCAAAAACGAACGAAATT-3'	5'-ACGTCCTTGATGGCAATCG-3'
FGFR4	5'-GCAACTCCATCGGCCTTTTCCTACCAG-3'	5'-AGAACCAGTGAGCCTGATACATACAG-3'
GAPDH	3'-CTA GGA GCC AGG GCA GTA ATC-5'	5'-GAT GGT GGGTAT GGG TCAGAA-3'

جدول ۲- پروتکل تمرین استقامتی

شدت تمرین	سرعت دویدن	مدت زمان دویدن	هفته
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۱۷ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	اول
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۱۷ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	دوم
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۱۹ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	سوم
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۱۹ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	چهارم
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۲۱ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	پنجم
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۲۱ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	ششم
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۲۳ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	هفتم
۵۵ تا ۷۵ درصد VO_2max	۲۳ متر در دقیقه	۴۵ دقیقه	هشتم

نتایج

گروه کنترل و تجربی افزایش معناداری را نشان داد. به طوری که در گروه کنترل، میانگین وزن آزمودنی‌ها

تغییرات وزن موش‌ها در طی شش هفته رژیم غذایی پرچرب و پایان هشت هفته مداخله تمرین، در هر دو

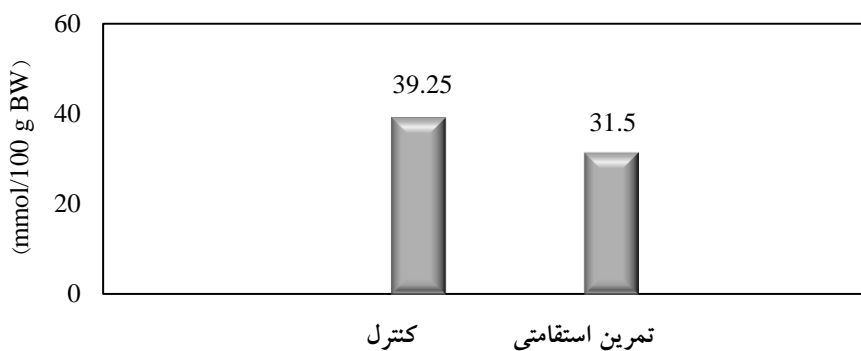
از $21/7 \pm 24/2$ گرم در هفته چهاردهم به $40/1$ گرم در هفته بیست و چهارم رسید ($p = 0/0001$). در گروه تمرین استقامتی نیز میانگین وزن آزمودنی‌ها از $30/7/8 \pm 18/3$ گرم در هفته چهاردهم به $35/1/7 \pm 21/2$ گرم در هفته بیست و دوم رسید ($p = 0/0001$). در جدول ۳ نتایج مربوط به مقایسه‌های درون گروهی و بین گروهی متغیرهای پروتئین

جدول ۳- مقایسه درون گروهی و بین گروهی متغیرهای اندازه‌گیری شده در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	کنترل (n=8)		تجربی (n=8)		p
	هفته چهاردهم	هفته بیست و دوم	هفته چهاردهم	هفته بیست و دوم	
وزن (g)	$321/21 \pm 6/7$	$407/24 \pm 1/2$	$307/18 \pm 8/3$	$351/21 \pm 7/1$	0/0001
BA (mmol/100 g BW)	-	$39/2 \pm 2/7$	-	$31/5 \pm 2/8$	-
KLB (ng/ml)	-	$3/6 \pm 0/4$	-	$4/9 \pm 0/3$	-
FXR	-	$0/18 \pm 0/03$	-	$0/32 \pm 0/02$	-
FGF15	-	$0/25 \pm 0/03$	-	$0/40 \pm 0/05$	-
FGFR4	-	$0/29 \pm 0/02$	-	$0/40 \pm 0/04$	-

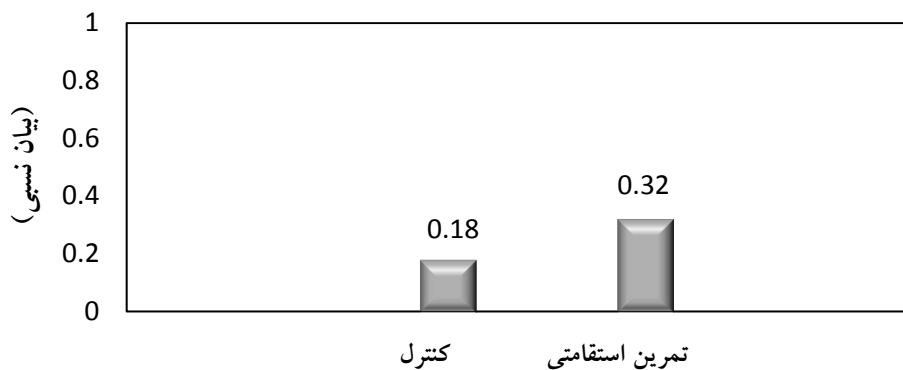
$p < 0/05$ نشانگر تفاوت معنادار می‌باشد.

اسیدهای صفراوی کبدی



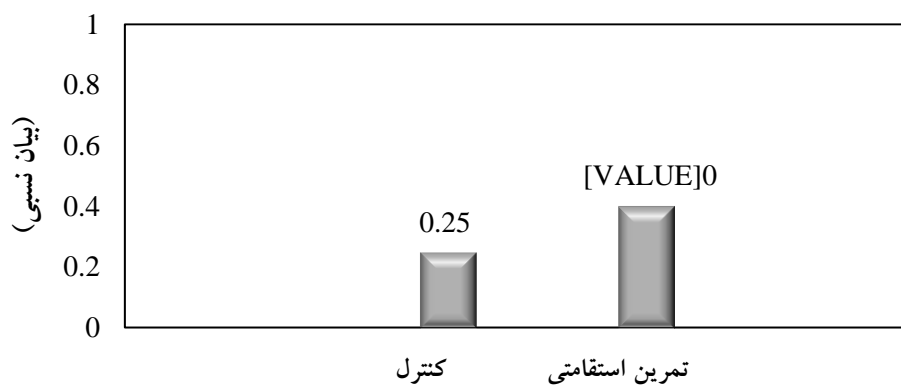
نمودار ۱- مقایسه میانگین مقادیر اسیدهای صفراوی در گروه‌های کنترل و تمرین پس از مداخله تمرین

بیان نسبی FXR



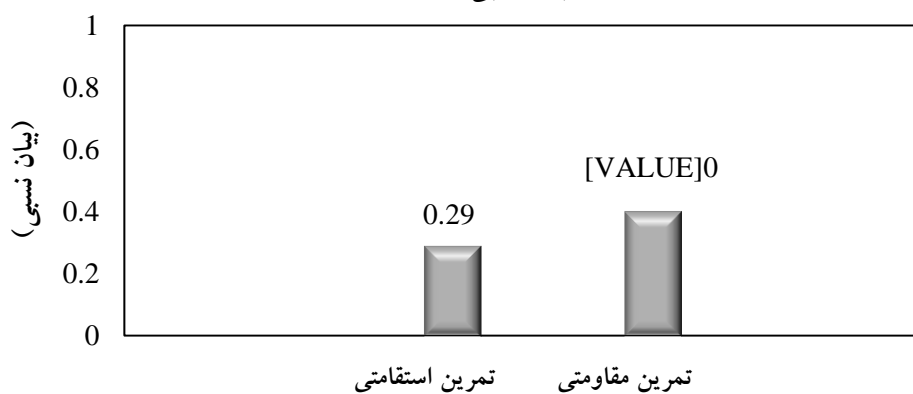
نمودار ۲- مقایسه میانگین بیان نسبی FXR در گروه‌های کنترل و تمرین پس از مداخله تمرین

بیان نسبی FGF15

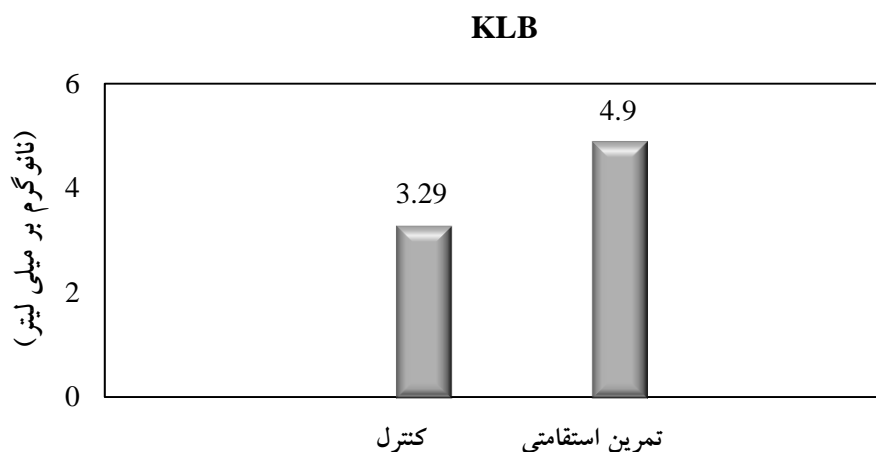


نمودار ۳- مقایسه میانگین بیان نسبی FGF15 در گروه‌های سه گانه پس از مداخله تمرین

بیان نسبی FGFR4



نمودار ۴- مقایسه میانگین بیان نسبی FGFR4 در گروه‌های سه گانه پس از مداخله تمرین



نمودار ۵- مقایسه میانگین مقادیر KLB در گروه‌های سه گانه پس از مداخله تمرین

بحث

مقادیر این پروتئین در گروه تمرین استقامتی، ۴۸/۹ درصد بیشتر از گروه کنترل بود. همراستا با این یافته، مطالعه بلبلی و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد شش هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط و به صورت فزاینده، میزان سرمی کلوتو را در گروه تمرین دیابت نسبت به گروه دیابت کنترل، بطور معناداری افزایش داد (۵). مطالعه دویی و همکاران (۲۰۱۱) و همچنین فلینور و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد پروتئین کلوتو از طریق تأثیر بر مسیر (Transforming growth factor beta; TGF- β) می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو گردد. شایان ذکر است که TGF- β خود یک عامل پیش فیبروزی است که مانع فعالیت سلول‌های ماهواره ای و نیز تمایز میوبلاست می‌گردد (۱۶، ۱۰). در همین راستا مطالعه افخمی اردکانی و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داد تمرینات هوازی منجر به افزایش مقادیر پروتئین کلوتو می‌گردد (۱). پروتئین کلوتو دارای نقش‌های متعددی از جمله حفاظت سلولی از طریق همکاری با آنتی‌اکسیدان‌ها، آنتی‌آپوپتوز، رگ زایی، ضد پیری و مهار فیبرینوژنز است. بیان پایین این پروتئین در شرایط پاتولوژیک از جمله دیابت، چاقی شکم و نارسایی قلبی ایجاد می‌گردد (۴). در

نتایج این مطالعه نشان داد هشت هفته تمرینات استقامتی با شدت متوسط منجر به کاهش اسیدهای صفراوی کبدی در گروه تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل گردید. به طوری که میانگین مقادیر اسیدهای صفراوی کبدی در گروه تمرین استقامتی، ۱۹/۷ درصد کمتر از گروه کنترل بود. همراستا با یافته های این تحقیق، فراهانک و همکاران (۲۰۱۷) کاهش اسیدهای صفراوی کبدی را بعد از پنج هفته تمرین هوازی با شدت متوسط در رت هایی که رژیم غذایی پرچرب را دریافت کرده بودند، گزارش کردند (۱۴). در مقابل این نتایج با یافته های هاگیو و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی ندارد. در مطالعه هاگیو و همکاران، طول دوره تمرین چهار هفته در نظر گرفته شده بود (۱۸)، که احتمالاً یکی از دلایل اختلاف موجود در نتایج مربوط به این عامل می‌باشد. شواهد جدید نشان می‌دهند که متابولیسم اسید صفراوی ارتباط نزدیکی با NAFLD دارد (۲۴، ۷). به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی استقامتی با تحریک متابولیسم اسید صفراوی به غلبه بر بار کلسترول در کبد کمک کند.

یکی دیگر از نتایج این تحقیق، افزایش مقادیر پروتئین KLB در گروه تمرین استقامتی بود. به طوری که

موجب سنتز FGF15 شود که این موضوع می‌تواند منجر به جلوگیری از بیان CYP7A1 و به دنبال آن محدود شدن سنتز اسیدهای صفراوی گردد (۱۱). FGF15، عامل فیروبلاست اصلی تولید شده توسط انتروسیت‌ها می‌باشد و در پاسخ به جذب اسیدهای صفراوی در ایلئوم، آزاد می‌شود. مسیر پیام‌رسانی FGF15 به FGFR و بتا کلوتو (KLB)، ترشح و جذب اسیدهای صفراوی را کنترل می‌کند؛ شواهد انکارناپذیر در این مورد نشان می‌دهد که نبود FGF15، FGFR و بتا کلوتو منجر به افزایش سنتز اسیدهای صفراوی می‌گردد (۳۶). FGF15، پیام‌هایی از روده به کبد و به منظور سرکوب رمزگذاری CYP7A1 ارسال می‌کند که نتیجه آن کاهش سنتز اسیدهای صفراوی است. بیان FGF15 در روده کوچک و توسط گیرنده FXR اسیدهای صفراوی هسته‌ای تحریک می‌شود و CYP7A1 را در کبد از طریق مکانیزمی که شامل گیرنده FGFR4 و گیرنده هسته‌ای ارفان (SHP) می‌باشد، سرکوب می‌نماید. کمبود FGF15 در موش، میزان mRNA CYP7A1 و سطوح پروتئین آن را در کبد افزایش می‌دهد و مسئول افزایش فعالیت آنزیم CYP7A1 و اسیدهای صفراوی دفعی می‌باشد. این موضوع نشان می‌دهد که FGFR4 به عنوان اجزایی از مسیر پیام‌رسانی روده-کبد هستند که در تعامل با SHP سنتز اسیدهای صفراوی را تنظیم می‌کنند (۲۱). در مجموع به نظر می‌رسد عوامل بسیاری در ایجاد شرایط کبدچرب غیرالکلی دخالت دارند که از جمله آنها می‌توان به عوامل متابولیکی، نشانگرهای زیستی التهاب، فیروز، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز اشاره کرد (۱۷). فعالیت-های ورزشی مختلف به ویژه تمرینات استقامتی می‌تواند اثرات سودمندی بر این عوامل داشته باشند و با بهبود اختلالات متابولیک و شرایط التهابی و نیز

مطالعه حاضر هشت هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط اثرات مثبت قابل توجهی بر افزایش مقادیر این پروتئین داشت. به نظر می‌رسد تمرینات استقامتی با شدت متوسط می‌تواند به عنوان یک درمان غیردارویی در این زمینه مورد توجه قرار گیرد. یافته دیگر این مطالعه، افزایش بیان نسبی ژن های FXR، FGF15 و FGFR4 در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل بود. همراستا با نتایج این مطالعه، حاجی قاسم و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند بیان FXR در کبد موش‌های سالمند مبتلا به کبدچرب غیرالکلی به دنبال هشت هفته فعالیت ورزشی (تداومی و تناوبی) افزایش یافت. لازم به ذکر است در این مطالعه اثر فعالیت ورزشی به همراه رزوراترول بر بیان ژن های sirt1، FXR و LXR بررسی شده بود (۱۶). مطالعات متعددی نشان داده اند که کبد چرب غیرالکلی، منجر به کاهش بیان FXR و یا عملکرد نامطلوب آن می‌گردد (۱۷، ۱۵). به طور مثال مک گتیگان و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند بیان ژن های درگیر در مسیر سیگنالی FXR در کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی تغییر کردند (۳۱). همچنین برخی مطالعات نشان می‌دهند که غیر از سلول‌های کبدی، ماکروفاژها و سلول‌های اندوتلیال سینوسی، انواع دیگری از سلول‌ها هستند که FXR را در کبد بیان می‌کنند. ماکروفاژها به ویژه جالب هستند زیرا نشان داده شده که FXR التهاب را در این سلول‌ها سرکوب می‌کند (۴۱) برخی مطالعات این میزان کاهش را تا ۶۰ درصد گزارش کرده‌اند. کاهش بیان FXR با افزایش لیپوژنز و کاهش تولید vLDL همراه است. تمرینات استقامتی می‌تواند موجب بهبود این شرایط گردد (۹). در کبد، FXR متابولیسم کلسترول را از طریق تنظیم بیان کلسترول ۷ آلفا-هیدروکسیلاز (CYP7A1) تنظیم می‌نماید. در سلول‌های اپیتلیال روده، FXR فعال شده می‌تواند

Klotho and Expression of the Fibroblast-23 Growth Factor Gene (FGF23) in the Hearts of Diabetic Rats: An Experimental Study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*; 20(4):371-386

6. Carbajo-Pescador S., Porrás D., García-Mediavilla M.V. 2019. "Beneficial effects of exercise on gut microbiota functionality and barrier integrity, and gut-liver axis crosstalk in an in vivo model of early obesity and NAFLD. *Disease Models and Mechanisms*, 12(5):dmm039206.

7. Chávez-Talavera O., Tailleux A., Lefebvre P., Staels B. 2017. Bile Acid Control of Metabolism and Inflammation in Obesity, Type 2 Diabetes, Dyslipidemia, and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, 152(7):1679-1694.

8. Chen J., Vitetta L. 2020. "Gut microbiota metabolites in NAFLD pathogenesis and therapeutic implications," *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15):5214.

9. Côté I., Sock E.T.N., Lévy É., Lavoie J.M. 2013. An atherogenic diet decreases liver FXR gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: effect of endurance training. *European Journal of Nutrition*, 52(5):1523-1532.

10. Doi S., Zou Y., Togao O., Pastor J.V., John G.B., Wang L. 2011. Klotho Inhibits Transforming Growth Factor-B1 (TGF-B1) Signaling and Suppresses Renal Fibrosis and Cancer Metastasis in Mice. *Journal of Biological Chemistry*, 286(10):8655-8665.

11. Duan Y., Zhang F., Yuan W. 2019. Hepatic cholesterol accumulation ascribed to the activation of ileum Fxr-Fgf15 pathway inhibiting hepatic Cyp7a1 in high-fat diet-induced obesity rats. *Life Sciences*, 232:116638.

12. Fabbrini E., Sullivan S., Klein S. 2010. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*, 51(2):679-89.

بهبود شرایط استرس اکسیداتیو در بدن به عنوان یک راهکار درمان غیردارویی مؤثر مطرح باشند.

نتیجه‌گیری

در مجموع مطالعات نشان می‌دهند کبد چرب غیرالکلی با کاهش بیان ژن های ای از قبیل FXR، FGF15 و FGFR4 و نیز کاهش پروتئین کلوتو همراه است که نتیجه آن اختلال در وضعیت کلسترول و به دنبال آن آسیب‌های سلولی در کبد است. مداخله فعالیت ورزشی استقامتی می‌تواند مسیر پیام‌رسانی FXR-FGFR4-KLB و نقش آن در تنظیم بیوستز اسیدهای صفراوی را تحت تأثیر مثبت قرار داده و به بهبود وضعیت سوخت و ساز کلسترول در بدن کمک نماید.

منابع

1. Afkhamy Ardakani M. 2020. The effect of Aerobic training on Klotho-FGF23 axis and arterial calcification in type 2 diabetic Postmenopausal women. *Journal of Sport and Exercise Psychology*, 13(1):27-38. (In Persian).
2. Agrawal A., Parlee S., Perez-Tilve D., Li P., Pan J., Mroz, P.A., Kruse Hansen A.M., Andersen B., Finan B., Kharitonov A., DiMarchi R.D. 2018. Molecular elements in FGF19 and FGF21 defining KLB/FGFR activity and specificity. *Molecular Metabolism*, 13:45-55.
3. Barikani A., Pashaeypoor S. 2019. Lifestyle in Non-alcoholic Fatty Liver: A Review. *Iranian Journal of Nursing Research*, 13(6) :39-47.
4. Berezin A.E., Berezin A.A. 2019. Impaired function of fibroblast growth factor 23/Klotho protein axis in prediabetes and diabetes mellitus: Promising predictor of cardiovascular risk. *Diabetes and Metabolic Syndrome*; 13(4):2549-2556.
5. Bolboli L., Khajehlandi M. 2021. The Effect of Six Weeks of Moderate-Intensity Endurance Training on Serum Levels of

21. Inagaki T., Choi M., Moschetta A., Peng L., Cummins C.L., McDonald J.G., Luo, G., Jones S.A., Goodwin B., Richardson J.A., Gerard R.D., Repa J.J., Mangelsdorf D.J. Kliewer SA. 2005. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metabolism*, 2:217-225.
22. Jafari M., Rashidlamir A., Dastani M., Fathi M., Alavinya, S.E. 2018. The effect of cardiac rehabilitation on ApoA1 and ApoB in men with coronary heart disease (CHD) after coronary artery bypass graft (CABG). *Medical Sciences*, 28(2):117-123.
23. Jamali R., Jamali A. 2010. Non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Kashan University of Medical Sciences*; 14(2):169-181
24. Jiao Y., Lu Y., Li X.Y. 2015. Farnesoid X receptor: a master regulator of hepatic triglyceride and glucose homeostasis. *Acta Pharmacol Sin*; 36:44-50.
25. Kaser S., Ebenbichler C., Tilg H. 2010. Pharmacological and non-pharmacological treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Clinical Practice*; 64(7):968-983
26. Kazeminasab F., Marandi S.M., Ghaedi K., Esfarjani F., Nasr-Esfahani M.H. 2019. The effect of endurance training and high-fat diet on PGC-1 α /FNDC5/Irisin pathway in male C57BL/6 mice. *Sport Physiology*, 11(41):63-80. (In Persian)
27. Kliewer S. A., Mangelsdorf D.J. 2015. Bile acids as hormones: the FXR-FGF15/19 Pathway. *Dig. Dis*. 33:327-331.
28. Kontogianni M.D., Tileli N., Margariti A., Georgoulis M., Deutsch M., Tiniakos D., Fragopoulou E., Zafiropoulou R., Manios Y., Papatheodoridis G. 2013. Adherence to the Mediterranean diet is associated with the severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Nutrition*, 33(4):678-683.
29. Leung C., Rivera L., Furness J.B., Angus P.W. 2016. The role of the gut
13. Fan M., Wang X., Xu G., Yan Q., Huang W. 2015. Bile acid signaling and liver regeneration. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1849(2):196-200.
14. Farahnak Z., Tomaz L.M., Bergeron R., Chapados N., Lavoie J.M. 2017. The effect of exercise training on upregulation of molecular markers of bile acid metabolism in the liver of ovariectomized rats fed a cholesterol-rich diet. *ARYA Atherosclerosis*, 13(4):184.
15. Fiorucci S., Cipriani S., Mencarelli A., Baldelli F., Bifulco G., Zampella A. 2011. Farnesoid X receptor agonist for the treatment of liver and metabolic disorders: focus on 6-ethyl-CDCA. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 11:753-762.
16. Fleenor B.S., Marshall K.D., Durrant J.R., Lesniewski L.A., Seals D.R. 2010. Arterial Stiffening with Ageing is Associated with Transforming Growth Factor B1 Related Changes in Adventitial Collagen: Reversal by Aerobic Exercise. *Journal of Physiology*, 588(20): 3971-82.
17. Fuchs M. 2012. Non-alcoholic Fatty liver disease: the bile Acid-activated farnesoid x receptor as an emerging treatment target. *Journal of Lipids*, 2012:934396.
18. Hagio M., Matsumoto M., Yajima T., Hara H., Ishizuka S. 2010. Voluntary wheel running exercise and dietary lactose concomitantly reduce proportion of secondary bile acids in rat feces. *Journal of Applied Physiology*, 109(3):663-668.
19. Hajighasem A., Farzanegi P., Mazaheri Z., Naghizadeh, M., Salehi G. 2018. Effects of resveratrol, exercises and their combination on Farnesoid X receptor, Liver X receptor and Sirtuin 1 gene expression and apoptosis in the liver of elderly rats with nonalcoholic fatty liver. *PeerJ*, 6:e5522.
20. Hormati A., Shakeri M., Iranikhah A. 2019. Non-alcoholic fatty liver disease. *Govaresht*; 23:203-212.

- G., Gu Y. 2020. The glucose-lowering effects of α -glucosidase inhibitor require a bile acid signal in mice. *Diabetologia*, 63(5):1002-1016.
36. Tenhagen M., van Diest P.J., Ivanova I.A., vander Wall, E., vander Groep, P. 2012. Fibroblast growth factor receptors in breast cancer: Expression downstream effects, and possible drug targets. *Endocr Relat Cancer*, 19(4): R115-129.
37. Teixeira-Lemos E., Nunes S., Teixeira F., Reis F. 2011. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovascular Diabetology*, 10(1):12-15.
38. Thisse B., Thisse C. 2005. Functions and regulations of fibroblast growth factor signaling during embryonic development. *Developmental Biology*, 287:390-402
39. Thomas C., Bishop D., Moore-Morris T., Mercier J. 2007. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(4): E916-22.
40. Yaghoobpour Yekani O., Azarbayjani M.A., Peeri M., Farzanegi P. 2018. Effect of type of training on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet. *Yafte*, 19(5):106-116
41. Yao J., Zhou C.S., Ma X., Fu B.Q., Tao L.S., Chen M., Xu Y.P. 2014. FXR agonist GW4064 alleviates endotoxin-induced hepatic inflammation by repressing macrophage activation. *World Journal of Gastroenterology*, 20:14430-14441.
- microbiota in NAFLD. *Nature reviews Gastroenterology and Hepatology*, 13(7):412-425.
30. Luo M., Yan J., Wu L., Wu J., Chen Z., Jiang J., Chen Z., He B. 2021. Probiotics Alleviated Nonalcoholic Fatty Liver Disease in High-Fat Diet-Fed Rats via Gut Microbiota/FXR/FGF15 Signaling Pathway. *Journal of Immunology Research*, 2021, 2264737.
31. McGettigan B.M., McMahan R.H., Luo Y., Wang X.X., Orlicky D.J., Porsche C., Levi M., Rosen H.R. 2016. Sevelamer improves Steatohepatitis, inhibits liver and intestinal farnesoid X receptor (Fxr), and reverses innate immune dysregulation in a mouse model of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Biological Chemistry*; 291:23058-23067.
32. Mirghani S.J., Peeri M., Yaghoobpour Yekani O., Zamani M., Feizollahi F., Nikbin S., Derakhshideh A., Mousavi N., Khojasteh Z., Nasrollahi Z., Khorasani E., Ghodousi Johari E., Afshar T., Azarbayjani M.A. 2019. Role or Synergistic Interaction of Adenosine and Vitamin D3 Alongside High-Intensity Interval Training and Isocaloric Moderate Intensity Training on Metabolic Parameters: Protocol for an Experimental Study. *JMIR Research Protocols*, 8(1):e10753.
33. Obika M., Noguchi H. 2012. Diagnosis and evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *Experimental Diabetes Research*, 2012:145754.
34. Piguat A.C., Guarino M., Potaczek D. P., Garn H., Dufour J.F. 2019. Hepatic gene expression in mouse models of non-alcoholic fatty liver disease after acute exercise. *Hepatology Research*, 49(6):637-652.
35. Qiu Y., Shen L., Fu L., Yang J., Cui C., Li T., Li X., Fu C., Gao X., Wang W., Ning

Effect of endurance training on bile acid synthesis signaling pathway in rats with non-alcoholic fatty liver disease

Mehri Gholipour¹, Najmeh Rezaeian^{*1}, Mohammad Karimi², Sadegh Cheragh-Birjandi¹

1- Department of Exercise Physiology, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

2- Department of Exercise Physiology, Qom University of Technology, Qom, Iran

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver dysfunction and one of the most important causes of death from chronic liver diseases. The purpose of this study is to investigate the effect of eight weeks of endurance training compared to resistance training on liver bile acids (BA), relative expression of farnesoid X receptor (FXR), fibroblast growth factor 15 (FGF15), fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4) and beta protein Klotho (KLB) in rats with non-alcoholic fatty liver disease. In this experimental study, 16 Wistar rats with an approximate weight of 120-160 grams, after induction of NAFLD conditions, with six weeks of high-fat diet were randomly divided into two equal groups (8 rats in each group), including; Control (C), endurance training (E). group E participated in an incremental treadmill exercise protocol with an intensity of 65% of maximal oxygen consumption and a frequency of 5 sessions per week. 48 hours after the last training session, the subjects were sacrificed and liver tissue and blood samples were taken to evaluate the research variables. Data were analyzed by using independent t-test. The findings showed that E training protocols led to a significant decrease in liver BA values ($p = 0.0001$). Also, in the E training group, a significant increase in the relative expression of FXR, FGF15, FGFR4 and KLB protein levels was observed ($p = 0.0001$). In conclusion, it seems that endurance exercise can have positive effects on the variables involved in the signaling of bile acid synthesis.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver, signaling, aerobic exercise, bile acids.