







Research Article

## The Effect of Eight Weeks of High-Intensity Intermittent Swimming Training on Tumor Necrosis Factor-Alpha and Transforming Growth Factor Beta-1 in the Liver Tissue of Rats Fed with High-Fat Diet

Akram Jokar <sup>1</sup> , Homa Sheikhan Shahin <sup>2,\*</sup> , Mehrzad Moqaddasi <sup>3</sup> , Alireza Jowhari <sup>4</sup> 

<sup>1</sup> Ms Student of Sports Nutrition, Zand Higher Education Institute, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor of Sport Physiology, Department of Sport Science, Zand Higher Education Institute, Shiraz, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor in Exercise Physiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

<sup>4</sup> PhD Student in Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Department of Sports Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

\* **Corresponding author:** Homa Sheikhan Shahin, Assistant Professor of Sport Physiology, Department of Sport Science, Zand Higher Education Institute, Shiraz, Iran. E-mail: [hsheikhani@yahoo.com](mailto:hsheikhani@yahoo.com)

DOI: [10.61186/jams.26.5.9](https://doi.org/10.61186/jams.26.5.9)

### How to Cite this Article:

Jokar A, Sheikhan Shahin H, Moqaddasi M, Jowhari A. The Effect of Eight Weeks of High-Intensity Intermittent Swimming Training on Tumor Necrosis Factor-Alpha and Transforming Growth Factor Beta-1 in the Liver Tissue of Rats Fed with High-Fat Diet. *J Arak Uni Med Sci.* 2023;**26**(5):9-19. DOI: [10.61186/jams.26.5.2](https://doi.org/10.61186/jams.26.5.2)

Received: 08 May 2023

Accepted: 09 Apr 2024

### Keywords:

Exercise

Saffron

Coronavirus

Interleukin

L-cysteine

© 2024 Arak University of Medical Sciences

### Abstract

**Introduction:** On average, patients suffering from non-alcoholic steatohepatitis after about seven years, their disease turns into fibrosis and reversibility at this stage becomes very difficult because this disease is an irreversible stage of the disease. Therefore, the effect of eight weeks of high-intensity interval training in water on inflammatory factors in patients with non-alcoholic steatohepatitis was investigated.

**Methods:** In this study, eight-week-old male Sprague-Dawley rats were divided into healthy (n=20) and high-fat diet (HFD) (n=20) groups. After eight weeks and proof of disease induction, the HFD group was randomly divided into two groups: control-disease (n=9) and exercise-disease (n=9); Also, the healthy group was divided into two groups: control-healthy (n=9) and exercise-healthy (n=9). The rats in the training group performed HIIT swimming training, including 20 times of 30 seconds of swimming with 30 seconds of rest between each time, for eight weeks (three days a week). One-way ANOVA and Bonferroni's post hoc test (P<0.05) were used to determine the difference between groups. The proposal of this study has been approved by the Ethics Committee of Shiraz University of Medical Sciences (IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008).

**Results:** As shown in diagram 1; Based on the results of the one-way analysis of variance test, it can be said that there was a significant difference between the mean TNF- $\alpha$  blood serum (P=0.001). According to the results of Bonferroni's post hoc test, there was a significant increase in the patient-control group compared to the healthy-control group (P=0.001) and also a significant decrease in the patient-exercise group compared to the patient-control group (P=0.012). Also, a significant decrease was observed in the exercise-healthy group compared to the control-patient group (P=0.001) and the exercise-patient group (P=0.002).

**Conclusions:** The results of the present research showed that high-intensity intermittent swimming exercises reduce inflammatory and fibrotic factors, and in general, it can be concluded that eight weeks of high-intensity intermittent swimming exercises improve the inflammatory and fibrotic factors associated with non-alcoholic steatohepatitis. However, to obtain a definitive result, this type of exercise should be studied in human studies in this patient community.

## تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا بر فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا و فاکتور رشد تغییر دهنده بتا یک در بافت کبد موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای پر چرب

اکرم جوکار<sup>۱</sup>، هما شیخانی شاهین<sup>۲\*</sup>، مهرزاد مقدسی<sup>۳</sup>، علیرضا جوهری<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه ورزشی، موسسه آموزش عالی زند شیراز، شیراز، ایران  
<sup>۲</sup> استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، موسسه آموزش عالی زند شیراز، شیراز، ایران  
<sup>۳</sup> دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران  
<sup>۴</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، بخش علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران  
\* نویسنده مسئول: هما شیخانی شاهین، استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، موسسه آموزش عالی زند شیراز، شیراز، ایران.

ایمیل: [hsheikhani@yahoo.com](mailto:hsheikhani@yahoo.com)

DOI: 10.61186/jams.26.5.9

<b>چکیده</b>	تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۱
<b>مقدمه:</b> التهاب کبدی در بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی از جمله شاخص‌های اصلی این بیماری محسوب می‌شود؛ لذا درمان آن بسیار بااهمیت به نظر می‌رسد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا بر (Tumour Necrosis Factor alpha) TNF- $\alpha$ سرم و (Transforming Growth Factor- $\beta$ ) TGF- $\beta$ ۱ کبد، در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی بود.	<b>واژگان کلیدی:</b> تمرین تناوبی شنا با شدت بالا استئاتوهپاتیت غیرالکلی فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا فاکتور رشد تغییر دهنده بتا تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی آراک محفوظ است.
<b>روش کار:</b> در این مطالعه رت‌ها با سن هشت هفته به دو گروه سالم (n=20) و رژیم پرچرب (HFD) (n=20) تقسیم شدند. پس از هشت هفته و اثبات القا بیماری، گروه HFD به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل-بیمار (n=9)، تمرین-بیمار (n=9) تقسیم شدند؛ همچنین گروه سالم نیز به دو گروه کنترل-سالم (n=9) و تمرین-سالم (n=9) تقسیم شدند. رت‌های گروه تمرین، تمرین HIIT شنا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را به مدت هشت هفته (سه روز در هفته) انجام دادند. برای مشخص نمودن تفاوت میان گروه‌ها از آزمون آماری آنوای یک‌راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی ( $P < 0.05$ ) استفاده شد. پروپوزال این مطالعه، توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد تأیید قرار گرفته است (IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008). <b>یافته‌ها:</b> نتایج نشان داد TNF- $\alpha$ در گروه تمرین-سالم در مقایسه با کنترل-سالم افزایش معنادار ( $P=0/001$ ) و گروه تمرین-بیمار در مقایسه با کنترل-بیمار کاهش معنادار ( $P=0/001$ ) و گروه تمرین-سالم در مقایسه با کنترل-بیمار کاهش معنادار ( $P=0/001$ ) و TGF- $\beta$ ۱ در گروه تمرین-سالم ( $P=0/192$ ) و تمرین-بیمار ( $P=0/148$ ) در مقایسه با کنترل-بیمار کاهش غیرمعنادار وجود داشت.	
<b>نتیجه گیری:</b> براساس یافته‌ها می‌توان گفت تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا بر میزان سطح التهاب و فیروز کبد در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی ناشی از رژیم غذایی پرچرب می‌تواند مفید و مؤثر باشد.	

### مقدمه

تحقیقات به این نتیجه رسیده‌اند که با فعالیت ورزشی التهاب کبد و مقاومت به انسولین کاهش و حساسیت به انسولین افزایش می‌یابد (۳). این درحالی است که التهاب مزمن و اختلال عملکرد متابولیک ممکن است در نهایت باعث آسیب بافتی در بیماری‌های متابولیک شود. تحت شرایط پاتوفیزیولوژیک، اختلال عملکرد میتوکندری منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال میتوکندری (Reactive oxygen species, ROS) می‌شود و بیشتر، فعالیت فاکتور هسته ای-کاپا  $\beta$  (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- $\kappa$ B) را تحریک می‌کند و منجر به تولید بیش از حد عوامل التهابی از جمله TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor) می‌شود. بنابراین منجر به آسیب سلولی و اختلال در عملکرد بافت می‌شود (۴).

از جمله بیماری‌های متابولیکی شایع در سراسر جهان می‌توان به بیماری کبد چرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) اشاره کرد. NAFLD مراحل مختلفی از بیماری است به طوری که از استئاتوهپاتیت ساده شروع شده و سپس استئاتوهپاتیت همراه با التهاب (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) و سپس به فیروز، سیروز و کارسینومای سلول‌های کبدی تبدیل می‌شود (۱). دو مرحله اول بیماری توسط اصلاح شیوه زندگی قابل برگشت و بهبودی است. به‌طور متوسط بیماران که به NASH مبتلا هستند تقریباً با گذشت هفت سال، بیماری آن‌ها به فیروز تبدیل می‌شود و برگشت‌پذیری در این مرحله بسیار مشکل می‌شود زیرا که این بیماری یک مرحله برگشت‌ناپذیر از بیماری کبدچرب غیرالکلی است (۲).

که برای آن‌ها به وجود می‌آید. در نتیجه این بیماران نمی‌توانند در شدت معین شده‌ای که برای آن‌ها در نظر گرفته شده است، تمرین خود را انجام دهند (۱۷).

از طرف دیگر پژوهش‌های بسیار اندکی درباره تأثیر محیط آبی و شنا بر میزان بهبود متابولیسم و التهاب در بیماران NASH وجود دارند. بر اساس نتایج یک مرور نظامند در سال ۲۰۱۸ نشان داده شد که تمرین استقامتی در آب باعث بهبود التهاب سیتیمیک و کنترل وزن شد (۱۸). در مطالعه‌ای نظامند بر روی افراد دیابتی به دنبال ورزش در آب در هر سه نوع هوازی، مقاومتی و ترکیبی، بهبود غیرمعنادار در التهاب سیتیمیک و کنترل وزن نتیجه گرفتند و نسبت به ورزش در خشکی تفاوتی دیده نشد و یا بسیار کم بود (۱۹). با وجود نتایج متناقض در این زمینه و اثرات مفید تمرین در آب و همچنین علاقه ذاتی انسان به آب، همچنان تأثیر تمرین فاصله‌ای با شدت بالا در آب در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی توسط محققان تحقیق حاضر مشاهده نشده است. از این رو، تأثیر هشت هفته تمرین فاصله‌ای با شدت بالا در آب بر عوامل التهابی در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی مورد بررسی قرار گرفت.

## روش کار

پژوهش حاضر با توجه به هدف از نوع توسعه‌ای-بنیادی و با در نظر گرفتن روش از نوع نیمه‌تجربی بود. در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر (سن: هشت هفته) از نژاد Sprague – Dawley با میانگین وزن  $230 \pm 20$  گرم انتخاب شدند و به عنوان معیارهای ورود به مطالعه در نظر گرفته شدند. معیارهای خروج از مطالعه در تحقیق حاضر نیز می‌توان به عدم توانایی موش صحرایی به انجام تمرینات و یا بروز بیماری اشاره کرد و البته تا پایان تحقیق حاضر هیچ یک از موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری نشدند. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشگاه شیراز با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزادانه در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی (IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت. موش‌های صحرایی انتخاب شده به دو گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند. گروه اول گروه سالم، مانند  $n=20$  و غذای استاندارد دریافت کردند. گروه دوم طی مدت هشت هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (HFD: High fat diet) قرار گرفتند تا بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی در آن‌ها القا شود (HFD:  $n=20$ ). رژیم پرچرب به کار رفته در تحقیق حاضر به صورت امولسیون (به حالت مایع با ویسکوزیته بالا) استفاده شد و با استفاده از روش گاوژ روزانه (به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به موش‌های صحرایی گروه رژیم غذایی پرچرب ( $n=20$ ) خوراند می‌شد. محتوای امولسیون پرچرب از ۷۷ درصد چربی، ۱۴ درصد پروتئین و ۹ درصد کربوهیدرات‌ها تشکیل گردید. محتوای این امولسیون شامل روغن ذرت، ساکارز، پودر شیر خشک، کلسترول، سدیم دزوکسی‌کولات، توئین ۸۰، پروپیلین

TNF- $\alpha$  تأثیر التهابی بالایی دارد؛ به طوری که عامل‌ها و گونه‌های مختلف این خانواده و گیرنده‌های آن‌ها در بیماری NASH و فیروز کبد نقش دارند. TNF- $\alpha$  یک سایتوکاین و آدیپوکاین التهابی مترشح از سلول‌های چربی احشایی است که در بروز مقاومت به انسولین و افزایش التهاب و فیروز کبدی در بیماران مبتلا به NASH نقش اساسی دارد. از سوی دیگر با تولید بیش از حد فاکتورهای التهابی، واکنش‌های ایمنی تداوم می‌یابند که از جمله آن‌ها افزایش فعالیت ماکروفاژها می‌باشند که باعث تسریع در روند التهاب سلول کبد می‌شوند (۵). حال آن‌که ورزش باعث بالا رفتن پروستاگلاندین‌ها و cAMP می‌شود. هورمون‌های ذکر شده موجب مهار عملکرد TNF- $\alpha$  می‌شوند (۶). از سوی دیگر سیتوکین‌های ضدالتهابی بر اثر ورزش افزایش می‌یابد و باعث مهار افزایش TNF- $\alpha$  می‌شوند. با افزایش تولید و ترشح TNF- $\alpha$  عوامل التهابی دیگر از جمله سیگنالینگ TGF- $\beta$ 1 (Transforming growth factor beta 1) فعال می‌شود و سیگنالینگ فیروزیس در سلول‌های کبد شروع خواهد شد (۵).

TGF- $\beta$ 1 یکی از اعضای خانواده بزرگ فاکتورهای رشد تغییردهنده بتا (TGF- $\beta$ ) و سایتوکاین کلیدی در چاقی و مقاومت انسولینی می‌باشد (۷). افزایش سطوح سرمی TNF- $\alpha$  در شرایط چاقی به طور مستقیم، بیان ژنی TGF- $\beta$ 1 را در بافت چربی افراد بسیار چاق افزایش می‌دهد (۸). افزایش بیان ژنی TGF- $\beta$ 1 نیز از طریق افزایش سنتز و رهایش مهارکننده فاکتور فعال‌کننده پلازمینوژن (PAI-1) در بروز مقاومت انسولینی نقش دارد (۹). در پژوهشی، طی ۴۸ هفته اعمال رژیم پرچرب به موش‌های صحرایی دریافتند که از هفته هشتم به بعد استئاتوزیس در کبد حیوانات به وجود می‌آید و میزان TGF- $\beta$ 1 در آن‌ها افزایش معنادار می‌یابد. آن‌ها در پایان به این نتیجه رسیدند که این عامل می‌تواند از مشخصه‌های اصلی تعیین درجه فیروز کبدی در بیماران مبتلا به NASH باشد (۱۰).

تمرینات مختلف ورزشی از جمله عواملی هستند که باعث جلوگیری از پیشرفت التهاب در اکثر بیماری‌های متابولیکی از جمله NAFLD و دیابت نوع دو می‌شوند (۱۱). با این حال تحقیقات اذعان دارند که همچنان بهترین پروتکل تمرینی با بیشترین اثرگذاری همچنان نامشخص است (۱۲). تمرینات تناوبی با شدت بالا (High-intensity interval training, HIIT) از جمله مدل‌های جدید تمرینی هستند که تأثیرات مثبت آن‌ها در انواعی از بیماری‌های متابولیکی مشخص شده است (۱۳). با این وجود تحقیقات کمی تأثیر این نوع تمرین بر NASH انجام شده است و از سوی دیگر مطالعات کمی بر مکانیسم‌های فیزیولوژیایی و بیوشیمیایی این نوع فعالیت ورزشی بر این بیماری تأکید داشته‌اند. این فرضیه مطرح است که تمرینات تناوبی با شدت بالا باعث کاهش التهاب در بیماران مبتلا به عارضه چاقی می‌شوند (۱۴) و این نوع فعالیت می‌تواند راهکار غیردارویی برای بهبود بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی که کمبود وقت برای انجام فعالیت ورزشی دارند، شود (۱۵). با این حال در پژوهشی با انجام این نوع تمرین ورزشی تغییر معناداری در عوامل بیوشیمیایی التهابی به وجود نیامد و باعث بهبودی بیماری کبد چرب غیرالکلی نشد (۱۲، ۱۶). از سوی دیگر تمرین فاصله‌ای با شدت بالا دارای محدودیت‌هایی برای افراد چاق و بیماری کبد چرب است. از جمله این مشکلات می‌توان به اضافه وزن آن‌ها اشاره کرد و به دنبال آن مشکلات و دردهای استخوانی و مفصلی

تمرین به مدت دو هفته مرحله آشنایی با استخر حیوانات (قطر ۱۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر) را قبل از شروع تمرین اصلی گذراندند (۲۱). در هفته اول موش‌های صحرایی با نهایت دقت و آرامش در استخر حیوانات با عمق آب ۵۰ سانتی‌متر و میانگین دمای  $20 \pm 0.5$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با سرعت دلخواه به مدت ۲۰ دقیقه به‌طور متناوب شنا کردند. در هفته دوم وقتی که موش‌های صحرایی به‌خوبی با استخر حیوانات آشنا شدند؛ برای آشنایی با نوع تمرین تناوبی، چندین مرتبه بعد از یک دقیقه شنا به‌وسیله صفحه استراحت از آب بیرون آورده و دوباره در آب قرار داده شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آخرین جلسه آشنایی، موش‌های صحرایی گروه تمرین، ابتدا پنج دقیقه گرم کردن و سپس تمرین اصلی HIIT شنا، شامل ۲۰ نوبت ۳۰ ثانیه‌ای شنا با ۳۰ ثانیه استراحت بین هر نوبت را انجام دادند. در پایان هر برنامه تمرینی نیز پنج دقیقه عمل سرد کردن اعمال شد و سپس تمام موش‌های صحرایی کاملاً خشک شده و به قفس‌هایشان منتقل شدند. این برنامه ورزشی به مدت هشت هفته (سه روز در هفته، روزهای زوج) انجام شد. در تمرین تناوبی بار اعمال شده در هفته اول، وزنه‌ای به میزان هفت درصد وزن بدن هر موش صحرایی بود و هر هفته یک درصد به آن اضافه شد؛ به طوری که در هفته آخر (هشتم) موش‌های صحرایی با وزنه‌ای به میزان ۱۴ درصد وزن بدن خود که به ریشه دم آن‌ها بسته شد، شنا کردند (جدول ۱) (۲۲). تمرینات، عصر هنگام (بهترین زمان تمرین در ریتم فعالیتی طبیعی موش‌های صحرایی) انجام شد (۲۳).

گلایکول، مخلوط ویتامین و مواد معدنی و آب مقطر بود. در این آمولسیون، پروتئین‌ها توسط پودر شیر خشک، کربوهیدرات‌ها توسط ساکاروز و چربی توسط روغن ذرت و پودر کلسترول تأمین شدند. هر وعده با مخلوطی از ویتامین و مواد معدنی تکمیل شد. این آمولسیون در دمای چهار درجه سانتی‌گراد ذخیره، در حمام آب با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد گرم و قبل از استفاده کاملاً میکس و مخلوط شد (۲۰). در گروه رژیم پرچرب علاوه بر غذای روزانه استاندارد جوندگان، به صورت خوراکی و توسط تکنیک گاواژ، موش‌های صحرایی با آمولسیون پرچرب (۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) یک بار در روز تحت گاواژ قرار گرفتند. این شیوه تغذیه‌ای به مدت هشت هفته ادامه داشت تا بر اساس پژوهش Zou و همکاران (۲۰۰۶)، در موش‌های صحرایی که رژیم غذایی پرچرب مصرف می‌کردند (HFD: n=۲۰) بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی القا شود (۲۰). به موش‌های صحرایی گروه سالم (n=۲۰) نیز از طریق تکنیک گاواژ، روزانه مقدار مساوی محلول نمک (سالین) داده شد. برای اثبات القاء بیماری؛ به طور تصادفی دو موش صحرایی از گروه سالم و دو موش صحرایی از گروه HFD انتخاب و تشریح شدند. پس از اثبات القاء بیماری در موش‌های صحرایی (یافته‌های مربوط به اثبات بیماری در قسمت نتایج آمده است)، گروه بیمار (رژیم پرچرب) به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل-بیمار (n=۹)، تمرین-بیمار (n=۹) و گروه سالم نیز به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل-سالم (n=۹)، گروه تمرین-سالم (n=۹) تقسیم شدند. لازم به ذکر است رژیم غذایی پرچرب گروه‌های بیمار تا پایان دوره تمرینات ادامه داشت. پس از تقسیم‌بندی گروه‌ها، همه موش‌های صحرایی گروه‌های

جدول ۱. پروتکل تمرینی شنا با شدت بالا (یک روز در میان، روزهای زوج)

هفته‌ها	تعداد (نوبت)	مدت تلاش (ثانیه)	مدت استراحت (ثانیه)	میزان اضافه بار (درصد وزن بدن)
هفته اول	۲۰	۳۰	۳۰	۷
هفته دوم	۲۰	۳۰	۳۰	۸
هفته سوم	۲۰	۳۰	۳۰	۹
هفته چهارم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۰
هفته پنجم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۱
هفته ششم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۲
هفته هفتم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۳
هفته هشتم	۲۰	۳۰	۳۰	۱۴

سی‌سی گرفته شد؛ بلافاصله آن را در داخل لوله آزمایش زل کلات اکتیویر انتقال داده و سپس توسط سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن توسط سمپلر به میکروتیوب‌های ۲ سی‌سی سرم خون منتقل شد و برای آنالیز نهایی در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس بافت کبد از بدن حیوانات استخراج و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و سپس بلافاصله در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد. برای اندازه‌گیری TNF- $\alpha$  از کیت Rat TNF- $\alpha$  به شماره کاتالوگ (DYS10-05 (5 plates), (DYS10 (15 plates) از شرکت DuoSet<sup>®</sup> ELISA استفاده شد. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری پروتئین بافتی، بافت کبد پس از جداسازی، در محلول نرمال سالین شستشو داده شد و بلافاصله در تانک ازت در دمای منهای ۱۹۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس جهت انجام تکنیک وسترن بلات و

وزن موش‌های صحرایی از روز اول شروع دوره تحقیق و سپس هر هفته در روزهای جمعه، عصر هنگام مورد سنجش قرار می‌گرفت و تا پایان دوره تحقیق و روز تشریح این روند ادامه داشت. پس از بدست آوردن وزن هر یک از موش‌های صحرایی در هر گروه، میانگین وزنی هر گروه مشخص شده و ثبت می‌شد. یافته‌های مربوط به میانگین وزن گروه‌های تحقیق در **نمودار ۱** و **۲**، قسمت نتایج گزارش شده است. در مدت دوره تداخل، گروه‌های کنترل-سالم و کنترل-بیمار هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ تا ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (پنج تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. ابتدا نمونه‌های خونی از قلب رت‌ها به میزان ۵

پژوهش حاضر بر اساس اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز (IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008) انجام شد.

### یافته‌ها

در نمودار ۱ انحراف معیار  $\pm$  میانگین وزن گروه‌های سالم ( $n=20$ ) و رژیم پرچرب (HFD) ( $n=20$ )، در مدت هشت هفته القا رژیم پرچرب نمایش داده شده است. اولین هفته به عنوان سازگاری رت‌ها با محیط آزمایشگاه در نظر گرفته شد و پس از آن دوره هشت هفته‌ای القا رژیم پرچرب ادامه یافت. در پایان دوره القا بیماری استئاتوهایپاتیت غیرالکلی، جهت اثبات ایجاد بیماری NASH، به‌طور تصادفی از گروه بیمار ( $n=2$ ) و سالم ( $n=2$ )، جداگانه، دو رت قربانی شدند و به‌عنوان نمونه، در شکل ۱ کبد بیمار با کبد سالم از نظر ظاهری با هم مقایسه شده است و مشخص است که رنگ کبد بیمار به دلیل تجمع بالای تری گلیسیرید در آن متمایل به سفید و رنگ کبد سالم به دلیل عدم تجمع تری گلیسیرید به رنگ قرمز می‌باشد. پس از اثبات ظاهری کبد به اثبات پاتولوژی و بیوشیمیایی بافت کبد توسط متخصص پاتولوژیست پرداخته شد. در شکل ۲ نتایج رنگ‌آمیزی Oil red O بافت کبد بیمار و سالم با هم مقایسه و گزارش شده است. همان‌گونه که مشهود است تعداد نقطه‌های قرمز رنگ در نمونه کبد بیمار نشان‌دهنده میزان تجمع تری گلیسیرید در این بافت است با این حال در نمونه کبد سالم هیچ نوع نقطه قرمز رنگی مشاهده نمی‌شود و نشان‌دهنده عدم تجمع تری گلیسیرید در نمونه بافت کبد سالم است.

پس از رنگ‌آمیزی Oil red O برای برش‌های بافت کبد یک میدان میکروسکوپی نوری در هر بخش مشاهده شد و برای شدت استئاتوز کبدی، التهاب و فیبروز بر اساس معیارهای زیر نمره‌گذاری شد: برای استئاتوز کبدی: درجه صفر، بدون چربی. درجه یک، استئاتوز کمتر از ۳۳ درصد از پارانشیم کبدی را اشغال می‌کند. درجه دو، ۳۴ تا ۶۶ درصد از پارانشیم کبدی. درجه سه، بیش از ۶۶ درصد از پارانشیم کبدی. برای انفیلتراسیون التهاب سلولی: درجه صفر: هیچ foci/field. درجه یک، ۱-۲ foci/field. درجه ۲، ۳-۴ foci/field. درجه ۳، بیش از ۴ foci/field. مرحله‌بندی فیبروز کبدی با رنگ‌آمیزی Oil red O به شرح زیر بررسی شد: صفر، هیچ؛ یک، خفیف، منطقه (zone) ۳، پری‌سینوزوئیدال (perisinusoidal)؛ دو، متوسط، منطقه ۳، پری‌سینوزوئیدال؛ سه، پورتال/پری‌پورتال؛ چهار، فیبروزیس (bridging fibrosis) (۲۵). همان‌گونه که در جدول ۲ نشان داده شده است در نمونه‌های بیمار ۱ و ۲ پس از هشت هفته تغذیه با رژیم پرچرب نمره استئاتوزیس و التهاب، مقادیر سرمی ALT و AST و هم‌چنین آنالیز بافتی کبد نشان داد که کبد رت‌ها در مرحله دوم فیبروزیس قرار دارد. نمودار ۲، وزن گروه‌های تحقیق پس از اثبات بیماری استئاتوهایپاتیت غیرالکلی و تقسیم‌بندی تصادفی آن‌ها به چهار گروه کنترل-سالم ( $n=9$ )، تمرین-سالم ( $n=9$ )، کنترل-بیمار ( $n=9$ ) و تمرین-بیمار ( $n=9$ )، نشان می‌دهد. در این نمودار هفته‌های اول و دوم جهت آشنایی و سازگاری موش‌های صحرایی با محیط استخر و نوع تمرین در نظر گرفته شد. هفته‌های یک تا هشت، بازه تمرین اصلی مطابق پروتکل ارائه شده بود و هفته نهم، هفته تشریح موش‌های صحرایی گروه‌های آزمایش بود. بر اساس میانگین وزن هر گروه در کل

آنالیزهای نهایی پروتئین TGF- $\beta$ 1، به آزمایشگاه منتقل شد. به‌طور کلی مراحل انجام تکنیک وسترن بلات به‌ترتیب شامل لیزکردن بافت، تعیین غلظت پروتئین به‌وسیله بردفورد، تهیه غلظت‌های مختلف BSA برای کشیدن منحنی استاندارد، غلظت‌های پروتئین، آب و سمپل بافر، آماده‌سازی نمونه، ساخت الکتروفورز بر روی ژل SDS page، تهیه محلول‌ها، روش انجام آزمایش و ساختن ژل پایین و بالا، الکتروفورز بر ژل SDS page، وسترن بلات یا ایمنوبلاستینگ، مرحله انتقال از ژل به کاغذ، مرحله بلاکینگ، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی اولیه ( $\beta$ -Actin (C4): sc-47778, TGF $\beta$ 1 (V): sc-146 m-IgG $\kappa$  BP-HRP: sc-516102)، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی ثانویه (mouse anti-rat $\beta$ it IgG-HRP: sc-2357)، مرحله آشکارسازی، مرحله ظهور فیلم در تاریک‌خانه، روش Striping بود.

رنگ‌آمیزی Oil red O: بافت کبد که قبلاً در نیتروژن مایع خنک شده بود در ایزوپنتان (isopentane) غوطه‌ور شد و در دمای برش بینه (OCT) (Fisher HealthCare<sup>TM</sup> Tissue-Plus<sup>®</sup>) قرار داده شد و متعاقباً برای تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی مورفولوژی کبد و محتوای چربی؛ ذخیره شد. نمونه‌های کبد بر روی یک کرایواستات (Nussloch, Leica Microsystems, CM3050S، ساخت کشور آلمان) به برش‌هایی به ضخامت پنج میکرومتر برش داده شدند. مقاطع کبد با Oil Red O (105230, Merck, Darmstadt, Germany) رنگ‌آمیزی شدند. تصاویر زیر یک میکروسکوپ نوری (CX22, Olympus، توکیو، ژاپن) مشاهده شد و از یک میدان تصادفی 40X از کبد هر حیوان با استفاده از نرم افزار Toup View (ToupTek) (Zhejiang, Photonics، چین) گرفته شد (۲۴). یک میدان میکروسکوپی نوری در هر بخش مشاهده شد و برای شدت استئاتوز کبدی، التهاب و فیبروز بر اساس معیارهای زیر نمره‌گذاری شد: برای استئاتوز کبدی: درجه صفر، بدون چربی. درجه یک، استئاتوز کمتر از ۳۳ درصد از پارانشیم کبدی را اشغال می‌کند. درجه دو، ۳۴ تا ۶۶ درصد از پارانشیم کبدی. درجه سه، بیش از ۶۶ درصد از پارانشیم کبدی. برای انفیلتراسیون التهاب سلولی: درجه صفر: هیچ foci/field. درجه یک، ۱-۲ foci/field. درجه ۲، ۳-۴ foci/field. درجه ۳، بیش از ۴ foci/field. مرحله‌بندی فیبروز کبدی با رنگ‌آمیزی Oil red O به شرح زیر بررسی شد: صفر، هیچ؛ یک، خفیف، منطقه (zone) ۳، پری‌سینوزوئیدال (perisinusoidal)؛ دو، متوسط، منطقه ۳، پری‌سینوزوئیدال؛ سه، پورتال/پری‌پورتال؛ چهار، فیبروزیس (bridging fibrosis) (۲۵).

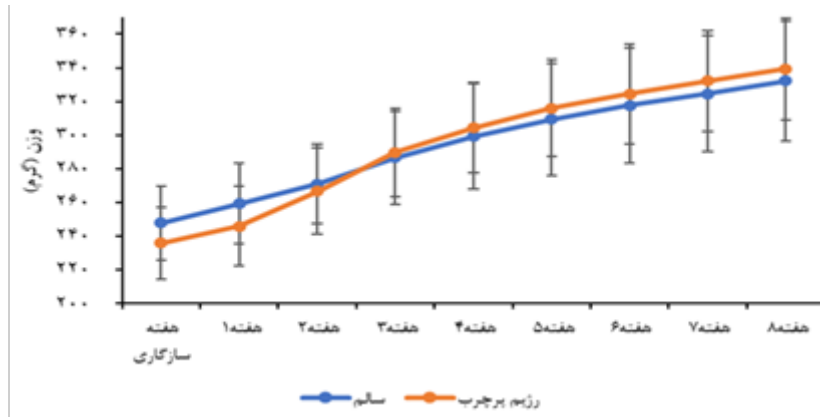
در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی، میانگین، انحراف استاندارد و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی اطلاعات جمع‌آوری شده برای تعیین نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شپرو-ویلک استفاده شد. در صورت طبیعی بودن یافته‌ها، از روش تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در صورت معنادار بودن تفاوت‌ها، از آزمون تعقیبی بونفرونی برای تعیین محل دقیق تفاوت‌ها استفاده شد. سطح معناداری ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد. کلیه روش‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 26 انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2019 کمک گرفته شد.

### ملاحظات اخلاقی



دوره مداخله تمرینی، مشخص شد که کاهش معنادار در گروه تمرین- سالم (P=۰/۰۰۲) وجود داشت. میان گروه تمرین- سالم با تمرین- بیمار کاهش غیرمعنادار (P=۰/۰۹۲) مشاهده شد.

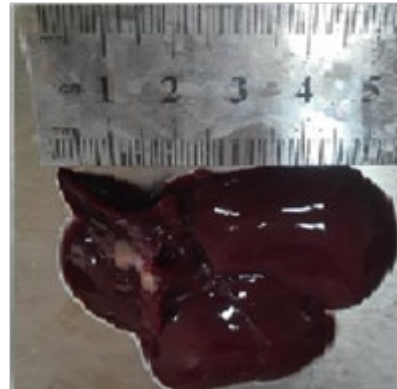
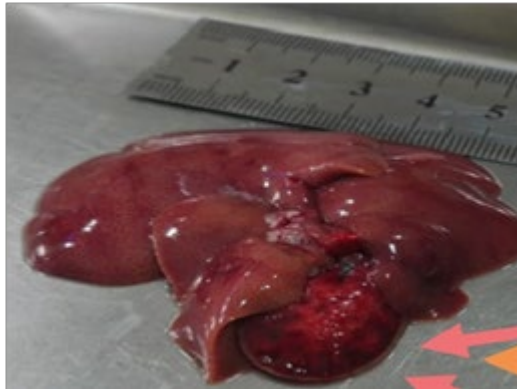
سالم در مقایسه با گروه کنترل- سالم (P=۰/۰۰۳) و گروه کنترل- بیمار



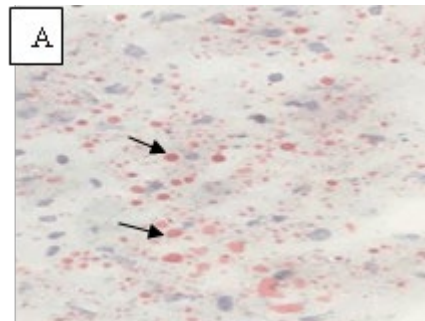
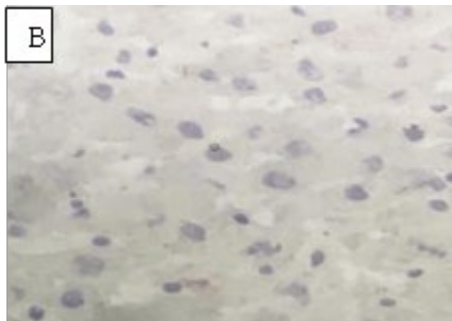
نمودار ۱. انحراف معیار  $\pm$  میانگین تغییرات وزن گروه‌های سالم و رژیم پرچرب در هشت هفته اول القا کبد چرب، در ابتدا یک هفته به‌عنوان سازگاری رت‌ها با محیط آزمایشگاه و رژیم غذایی در نظر گرفته شد.

جدول ۲. نتایج آزمایش بافتی و خونی جهت اثبات بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی

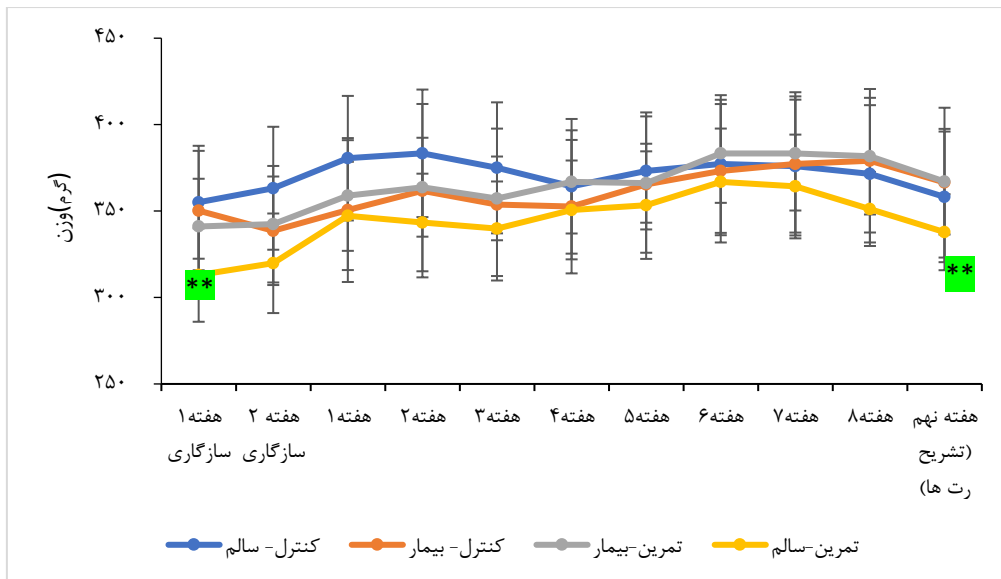
شماره رت	نمره استئاتوزیس	نمره التهاب	مرحله فیبروزیس	ALT	AST
۱ (بیمار) *	۲/۳۳	۰/۳	۲	۶۴/۵۴	۶۰/۹
۲ (بیمار) *	۲/۷۵	۰/۹	۲	۶۹/۷	۶۷/۸۴
۱ (سالم)	۰	۰	۰	۴۶/۳	۴۱/۲۱
۲ (سالم)	۰	۰	۰	۴۰/۳۹	۳۸/۴۱



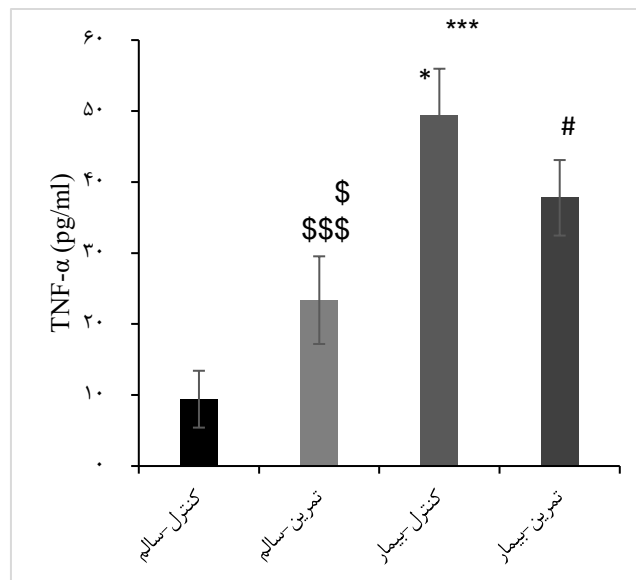
شکل ۱. مقایسه نمای ظاهری کبد چرب (سمت راست) و کبد سالم (سمت چپ)، بلافاصله پس از کشتار در گروه بیمار و سالم



شکل ۲. رنگ آمیزی بافت کبد توسط Oil red O. A: کبد چرب، لیپیدها به رنگ قرمز درآمده‌اند. B: کبد سالم- به دلیل عدم وجود چربی هیچ نوع رنگ قرمزی به خود نگرفته است.



**نمودار ۲.** انحراف معیار  $\pm$  میانگین تغییرات وزن چهار گروه آزمایش در هشت هفته دوم پس از اثبات بیماری استئاتوهایپیت غیرالکلی، در ابتدا دو هفته به‌عنوان سازگاری رت‌ها با محیط تمرین در نظر گرفته شد و سپس از هفته‌های یک تا هشت تمرین اصلی مطابق پروتکل تمرینی انجام شد. هفته نهم، هفته تشریح موش‌های صحرایی بود. \*\*؛ کاهش معنادار در گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-سالم ( $P=0/003$ ) و گروه کنترل-بیمار ( $P=0/002$ ).



**نمودار ۳.** سطح سرمی TNF- $\alpha$  در میان چهار گروه-#؛ افزایش معنادار در گروه کنترل-بیمار در مقایسه با کنترل-سالم ( $P=0/001$ ) -#؛ کاهش معنادار در گروه تمرین-بیمار در مقایسه با کنترل-بیمار ( $P=0/012$ ) -#؛ کاهش معنادار تمرین-سالم در مقایسه با تمرین-بیمار ( $P=0/002$ ) و کنترل-بیمار ( $P=0/001$ ) -( $P<0/005$ ).

همان‌گونه که در **نمودار ۳** مشخص است؛ بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، می‌توان گفت تفاوت معناداری بین میانگین TNF- $\alpha$  سرم خون وجود داشت ( $P=0/001$ ). با توجه به نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی افزایش معنادار در گروه کنترل-بیمار در مقایسه با کنترل-سالم ( $P=0/001$ ) و همچنین کاهش معنادار گروه تمرین-بیمار در مقایسه با کنترل-بیمار ( $P=0/012$ ) و نیز کاهش معنادار گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-بیمار ( $P=0/001$ ) و تمرین-بیمار ( $P=0/002$ ) مشاهده شد.

همان‌گونه که در **نمودار ۳** مشخص است؛ بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، می‌توان گفت تفاوت معناداری بین میانگین TNF- $\alpha$  سرم خون وجود داشت ( $P=0/001$ ). با توجه به نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی افزایش معنادار در گروه کنترل-بیمار در مقایسه با کنترل-سالم ( $P=0/001$ ) و همچنین کاهش معنادار گروه تمرین-بیمار در مقایسه با کنترل-بیمار ( $P=0/012$ ) و نیز کاهش معنادار گروه تمرین-سالم در مقایسه با گروه کنترل-بیمار ( $P=0/001$ ) و تمرین-بیمار ( $P=0/002$ ) مشاهده شد.

**نمودار ۳-** سطح سرمی TNF- $\alpha$  در میان چهار گروه-\*\*\*؛ افزایش معنادار در گروه کنترل-بیمار در مقایسه با کنترل-سالم ( $P=0/001$ ) -#؛ کاهش معنادار در مقایسه با کنترل-بیمار

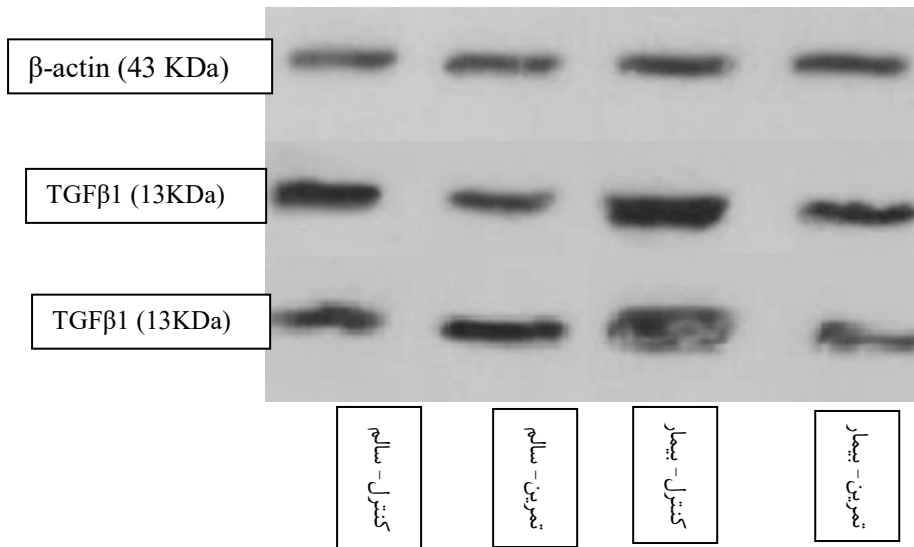
کاهش معنادار تمرین-سالم در مقایسه با تمرین-بیمار

کاهش معنادار تمرین-سالم در مقایسه با کنترل-سالم ( $P=0/001$ ) -#؛ کاهش معنادار در مقایسه با کنترل-بیمار

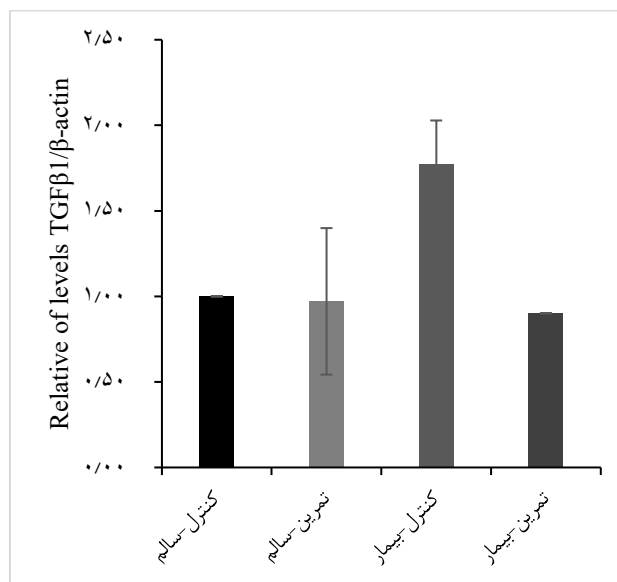
کاهش معنادار تمرین-سالم در مقایسه با تمرین-بیمار ( $P=0/002$ ) و کنترل-بیمار ( $P=0/001$ ) -( $P<0/005$ ).

کاهش معنادار تمرین-سالم در مقایسه با تمرین-بیمار ( $P=0/012$ ) -#؛ کاهش معنادار در مقایسه با کنترل-بیمار ( $P=0/001$ ) -( $P<0/005$ ).

کاهش معنادار تمرین-سالم در مقایسه با تمرین-بیمار ( $P=0/002$ ) و کنترل-بیمار ( $P=0/001$ ) -( $P<0/005$ ).



شکل ۳. باندهای پروتئینی مربوط به پروتئین‌های TGF $\beta$ 1 در هر چهار گروه به طور جداگانه



نمودار ۴. سطح پروتئین درون کبدی TGF $\beta$ 1 در میان چهار گروه - عدم وجود تفاوت معنادار میان گروه‌ها ( $p=0.068$ ).

استئاتوهپاتیت می‌شوند، مطرح می‌شود (۲۶). در بین سایتوکاین‌های مختلف، سایتوکاین التهابی TNF- $\alpha$  که معمولاً در مراحل اولیه آسیب کبدی ظاهر می‌شود، یک عامل کلیدی است که باعث ترشح سایر سایتوکاین‌ها می‌گردد و عاملی برای افزایش فاگوسیتوز در مرحله التهابی حاد می‌شود (۲۷). در راستای این یافته‌ها می‌توان به تحقیق Speretta و همکاران (۲۰۱۲) اشاره کرد. آن‌ها اثر هشت هفته تمرین قدرتی با شدت بالا/کوتاه مدت و تمرین هوازی با شدت متوسط/طولانی مدت را بر بیان ژن TNF- $\alpha$  و IL-10 و پروفایل لیپیدی ارزیابی کردند. صرف نظر از روش تمرین، حیواناتی که تحت تمرین بدنی قرار گرفتند، بهبود قابل توجهی در بیان IL-10 و کاهش TNF- $\alpha$  و همچنین بهبود در پروفایل لیپیدی و محتوای چربی احشایی در بخش‌های مختلف بدن نشان دادند (۲۸). این یافته‌ها این ایده را تقویت می‌کند که ورزش منظم مزایای بالقوه‌ای را در کنترل و حفظ وزن و همچنین مهار بیان TNF- $\alpha$  ایجاد می‌کند (۲۹). Libardi و همکاران (۲۰۱۲)، به دنبال

## بحث

در تحقیق حاضر، به دنبال هشت هفته تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا، سطح TNF- $\alpha$  سرم در گروه کنترل-بیمار در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معنادار داشت. همچنین کاهش معنادار این عامل در گروه تمرین-بیمار در مقایسه با گروه کنترل-بیمار مشاهده شد؛ که نشان می‌دهد هشت هفته تمرینات شنا تناوبی با شدت بالا تأثیر مثبت بر کنترل سایتوکاین‌های التهابی از جمله TNF- $\alpha$  دارد. همچنین میزان پروتئین TGF- $\beta$ 1 درون بافت کبد در گروه تمرین-بیمار در مقایسه با گروه کنترل-بیمار کاهش غیرمعنادار داشت، که این نشان می‌دهد تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا می‌تواند باعث کاهش میزان پروتئین TGF- $\beta$ 1 شود. پاتوژنز NASH اغلب به‌عنوان یک فرآیند دو مرحله‌ای، متشکل از تجمع تری‌گلیسرید کبدی و به دنبال آن ایجاد التهاب، نکروز، آپوپتوز، فیبروز در کبد و در نهایت منجر به



ورزشی هوازی مزمن در موش‌های میانسال تغذیه شده با رژیم پرچرب، دریافتند که تمرین ورزشی باعث کاهش سطح  $TGF-\beta 1$  و کاهش وزن نسبت به گروه کنترل شد. هم‌چنین بهبود تعادل انرژی در گروه تمرین نسبت به کنترل نتیجه گرفتند (۳۱). مطالعات نشان داده‌اند که  $TGF-\beta 1$  خانواده‌ای از سیتوکین‌های پلئوتروپیک، با ایجاد چاقی، دیابت نوع دو، بی‌اشتهایی سرطان و پیری مرتبط است (۳۲-۳۵). Lin و همکاران (۲۰۰۹)، نشان دادند که سطح سرمی  $TGF-\beta 1$  با سن، سبک زندگی، مصرف سیگار و نوشیدن الکل در انسان همبستگی مثبت دارد (۳۴). علاوه بر این، گزارش شده است که سطح سرمی  $TGF-\beta 1$  در موش‌های ob/ob، موش‌های تغذیه شده با HFD و انسان‌های چاق افزایش یافته است (۳۵). در مطالعه حاضر، مشاهده کردیم که موش‌های کم‌تحرکی که HFD را در طولانی مدت مصرف می‌کردند، یک فنوتیپ چاق (علاوه بر بدست آوردن بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی) به دست آوردند و افزایش شدید سطح پروتئین  $TGF-\beta 1$  درون کبدی را نشان دادند. این نتایج با مطالعه دیگری مطابقت دارد که نشان می‌دهد چاقی به همراه افزایش سن باعث افزایش سطح  $TGF-\beta 1$  می‌شود (۳۲). با این حال در مطالعات قبلی، نوع تمرین انجام شده در خشکی بوده است و تمرین تحقیق حاضر از نوع تناوبی با شدت بالا در محیط آبی بود؛ در نتیجه می‌توان گفت تحقیق حاضر از جمله اولین تحقیقاتی است که نشان می‌دهد فعالیت شنای تناوبی با شدت بالا می‌تواند به اندازه تمرینات در خشکی در کاهش التهاب مؤثر باشد و کاهش در پروتئین  $TGF-\beta 1$  درون کبدی را در بیماران استئاتوهپاتیت غیرالکلی را محقق سازد.

عامل التهاب یکی از نشانه‌های اصلی برای نشان دادن NASH است (۳۶). افزایش اسیدهای چرب آزاد (FFAs) در سلول‌های کبدی باعث ایجاد آسیب اکسیداتیو پایدار می‌شود و از طریق مسیرهای پروآپوپتوز حساس به ردوکس باعث ایجاد التهاب و آپوپتوز می‌شود. این سیتوکین‌ها، به‌ویژه تبدیل‌کننده فاکتور رشد ( $TGF-\beta$ )، فیبروز را با فعال کردن سلول‌های ستاره‌ای کبدی (HSCs) گسترش می‌دهد. HSC های فعال شده، کلژن تولید می‌کنند که در فضای سلول‌های کبدی رسوب می‌کند و سیتوکین‌های فیبروزیک با اثرات اتوکرین و پاراکرین از جمله فاکتور رشد تبدیل‌کننده ( $TGF-\beta$ ) آزاد می‌کند که آسیب فیبروزیک را تداوم می‌بخشد (۳۷). یافته‌های تحقیق حاضر کاهش پروتئین  $TGF-\beta 1$  درون کبدی را در گروه تمرین-بیمار نسبت به کنترل-بیمار نشان داد و با توجه به مکانیسم بیان شده می‌توان این احتمال داد با کاهش تولید پروتئین مذکور ناشی از انجام تمرین شنای تناوبی با شدت بالا، پیشرفت فیبروز کبدی در گروه تمرین-بیمار کاهش یافته است و تمرین توانسته است باعث جلوگیری از فیبروز بیشتر شود.

هم‌چنین با افزایش تجمع چربی در کبد و هم‌چنین افزایش تجمع چربی احشایی، اندوتوکسین‌های روده افزایش می‌یابند و باعث افزایش فعالیت TLR4 و HSC های سلول‌های کبدی می‌گردند (۳۸، ۳۹). لیپوپولی ساکارید (LPS) آبشارهای سیگنالینگ مختلف را فعال می‌کند که منجر به سنتز سیتوکین‌های پیش‌التهابی با فعال‌سازی MAPKs و فعال شدن بیشتر فاکتورهای رونویسی پیش‌التهابی مانند  $NF-\kappa B$  می‌شود. به‌دنبال فعال شدن این عوامل آزادسازی سیتوکین‌های التهابی از جمله  $TNF-\alpha$ ،  $TGF-\beta$ ، IL-8 و افزایش می‌یابد و جذب سلول‌های

۱۶ هفته فعالیت ورزشی استقامتی، مقاومتی و ترکیبی در افراد میانسال سالم، عدم معناداری در متغیر و حتی افزایش غیرمعنادار در متغیر  $TNF-\alpha$  را نسبت به گروه کنترل نتیجه گرفتند (۳۰). با وجود این‌که پروتکل به کار رفته در تحقیق حاضر از نوع شنای تناوبی با شدت بالا بود؛ با این وجود مانند نتایج تحقیقات قبلی به خوبی توانست سطح  $TNF-\alpha$  سرم را که به عنوان یک شاخص التهاب سیستمیک شناخته می‌شود را به خوبی کاهش دهد و این نشان می‌دهد که تمرین شنای تناوبی با شدت بالا می‌تواند در کاهش التهاب سیستمیک در بیماران مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی مفید باشد. هم‌چنین در تحقیق حاضر نیز متغیر  $TNF-\alpha$  در گروه تمرین-سالم نسبت به کنترل-سالم افزایش معنادار از خود نشان داد. از جمله دلایل بروز این نتیجه می‌توان به شدت بالای تمرین پروتکل حاضر اشاره کرد و ممکن است اثر شدت تمرین شنا بر رت‌ها باقیمانده مانده باشد؛ با این حال پروتکل تحقیق حاضر در کاهش و کنترل وزن گروه تمرین-سالم نسبت به کنترل-سالم و کنترل-بیمار بسیار مؤثر بوده است. پس می‌توان گفت نتایج تحقیق حاضر به اثبات این چالش که آیا ورزش کردن در محیط آبی به اندازه ورزش کردن در محیط خشکی از نظر سلولی-مولکولی مؤثر است یا خیر کمک کرده است و همان‌گونه که مشاهده شد باعث کاهش التهاب سیستمیک در مدل بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی شد.

از دیگر نتایج این پژوهش می‌توان به کاهش غیرمعنادار  $TGF-\beta 1$  در گروه تمرین-بیمار نسبت به کنترل-بیمار اشاره کرد. هم‌چنین کاهش غیرمعنادار  $TGF-\beta 1$  در گروه تمرین-سالم نسبت به گروه کنترل-بیمار مشاهده شد. هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر می‌توان به پژوهش Xu و همکاران (۲۰۲۰)، اشاره کرد. آن‌ها طی مطالعه‌ای طولانی مدت به این نتیجه رسیدند که سطح  $TNF-\alpha$  و  $TGF-\beta$  از مشخصه‌های اصلی بیماری NASH می‌باشند. آن‌ها در مطالعه‌شان مشاهده کردند که به دنبال مصرف رژیم پرچرب از هفته چهارم به بعد رت‌ها دچار اضافه وزن و هم‌چنین افزایش شاخص آسیب کبدی و افزایش وزن کبد شدند. هم‌چنین از هفته هشتم به بعد نشانه‌های فیبروز در آن‌ها رخ داد. به‌طوری‌که سطح  $TNF-\alpha$  و  $TGF-\beta$  در گروه رژیم پرچرب نسبت به کنترل افزایش معناداری از خود نشان داد (۱۰). پژوهش Moazzami و همکاران (۲۰۱۴)، طی پژوهشی به تعیین تأثیر برنامه تمرین در آب بر سطح  $TGF-\beta$  در مردان مبتلا به مولتیپل اسکلوروزیس پرداختند و یافته‌های آن‌ها نشان داد بین دو گروه علیرغم کاهش در سطح  $TGF-\beta$  تفاوت معنادار بین دو گروه مشاهده نشد. در پایان آن‌ها نتیجه گرفتند که بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلوروزیس برای بهبود عملکرد سیستم ایمنی خود می‌توانند با کاهش در سطوح  $TGF-\beta$  به‌واسطه شرکت در تمرین هوازی در آب البته با یک دوره تمرینی طولانی‌تر سود ببرند (۷). یافته‌های تحقیق حاضر نیز کاهش غیرمعنادار پروتئین  $TGF-\beta 1$  درون کبدی را در گروه تمرین-بیمار در مقایسه با کنترل-بیمار نشان دادند. با توجه به تحقیقات قبلی می‌توان گفت که احتمالاً اگر دوره تمرینی در تحقیق حاضر طولانی‌تر بود؛ به احتمال زیاد کاهش معنادار این پروتئین به دنبال فعالیت تناوبی شنا با شدت بالا رخ می‌داد. Silva و همکاران (۲۰۱۷)، به دنبال انجام یک دوره تمرینات

عوامل التهابی و فیبروزی مرتبط با بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی می شود. با این حال برای حصول نتیجه قطعی، می‌بایست این نوع تمرینات را در مطالعات انسانی در این جامعه بیمار مورد مطالعه قرار داد.

### تقدیر و تشکر

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی دوره کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی (نویسنده اول) موسسه آموزش عالی زند شیراز با کد اخلاق IR.SUMS.REHAB.REC.1400.008 می‌باشد. در پایان از تمامی دوستان و همکارانی که در طی مراحل این پژوهش یاری‌کننده ما بودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نماییم.

### تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

### سهم نویسندگان

هر چهار نویسنده در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشته‌اند.

## References

- Eslam M, Valenti L, Romeo S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol.* 2018;**68**(2):268-279. doi: 10.1016/j.jhep.2017.09.003 pmid: 29122391
- Targher G, Tilg H, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: a multisystem disease requiring a multidisciplinary and holistic approach. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021;**6**(7):578-588. doi: 10.1016/S2468-1253(21)00020-0 pmid: 33961787
- Danford CJ, Lai M. NAFLD: a multisystem disease that requires a multidisciplinary approach. *Frontline Gastroenterol.* 2019;**10**(4):328-329. doi: 10.1136/flgastro-2019-101235 pmid: 31682642
- Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol.* 2015;**62**(1 Suppl):S47-64. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.012 pmid: 25920090
- Sarma S, Sockalingam S, Dash S. Obesity as a multisystem disease: Trends in obesity rates and obesity-related complications. *Diabetes Obes Metab.* 2021;**23** Suppl 1:3-16. doi: 10.1111/dom.14290 pmid: 33621415
- Zhang X. NAFLD Related-HCC: The Relationship with Metabolic Disorders. *Adv Exp Med Biol.* 2018;**1061**:55-62. doi: 10.1007/978-981-10-8684-7\_5 pmid: 29956206
- Moazzami M, Fathi M, Soltani M, Gelardi N. The effects of aerobic exercise in water on cortisol levels and TGF- $\beta$  in patients with multiple sclerosis. 2014.
- Prussick RB, Miele L. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a consequence of systemic inflammatory burden? *Br J Dermatol.* 2018;**179**(1):16-29. doi: 10.1111/bjd.16239 pmid: 29235656
- Xu ZJ, Fan JG, Ding XD, Qiao L, Wang GL. Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats. *Dig Dis Sci.* 2010;**55**(4):931-940. doi: 10.1007/s10620-009-0815-3 pmid: 19459046
- Vettor R, Milan G, Rossato M, Federspil G. Review article: adipocytokines and insulin resistance. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;**22** Suppl 2:3-10. doi: 10.1111/j.1365-2036.2005.02587.x pmid: 16225463
- Romero-Gomez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol.* 2017;**67**(4):829-846. doi: 10.1016/j.jhep.2017.05.016 pmid: 28545937
- Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. *Eur J Sport Sci.* 2019;**19**(7):994-1003. doi: 10.1080/17461391.2019.1571114 pmid: 30732555
- El-Agroudy NN, Kurzbaach A, Rodionov RN, O'Sullivan J, Roden M, Birkenfeld AL, et al. Are Lifestyle Therapies Effective for

عامل ایمنی مانند نوتروفیل‌ها را با آسیب‌های بعدی به سلول‌های کبدی از طریق مکانیسم‌های استرس اکسیداتیو ارتقا می‌دهد (۴۰). در تحقیق حاضر تمرین‌های تناوبی با شدت بالا در مدت هشت هفته توانست باعث کاهش معنی‌دار TNF- $\alpha$  سرم و کاهش غیرمعنی‌دار کاهش پروتئین TGF- $\beta$ 1 درون کبدی در گروه تمرین-بیمار نسبت به کنترل-بیمار شود. احتمالاً یکی از اثرات اصلی تمرین به کار رفته در تحقیق حاضر؛ تأثیر بر مکانیسم‌های بالادستی این عوامل بوده است و باعث بازتنظیمی آن‌ها شده است. در نتیجه می‌توان گفت احتمالاً این نوع تمرینات بر مکانیسم‌های بالادستی و پایین دستی التهاب ناشی از چاقی و بیماری استئاتوهپاتیت غیرالکلی تأثیر مثبت دارند.

## نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که تمرینات تناوبی شنا با شدت بالا باعث کاهش عوامل التهابی و فیبروزی می‌شوند و در مجموع می‌توان نتیجه گرفت هشت هفته تمرینات شنا با شدت بالا باعث بهبود

- NAFLD Treatment? *Trends Endocrinol Metab.* 2019;**30**(10):701-709. doi: 10.1016/j.tem.2019.07.013 pmid: 31422872
- Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol Metab.* 2015;**4**(12):903-915. doi: 10.1016/j.molmet.2015.09.006 pmid: 26909307
- Hallsworth K, Adams LA. Lifestyle modification in NAFLD/NASH: Facts and figures. *JHEP Rep.* 2019;**1**(6):468-479. doi: 10.1016/j.jhepr.2019.10.008 pmid: 32039399
- 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**:128-140. doi: 10.1016/j.metabol.2017.08.012 pmid: 28941598
- Park HK, Lee HJ, Lee SJ, Lee WH. Land-based and aquatic trunk exercise program improve trunk control, balance and activities of daily living ability in stroke: a randomized clinical trial. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2019;**55**(6):687-694. doi: 10.23736/S1973-9087.18.05369-8 pmid: 30370752
- Igarashi Y, Nogami Y. The effect of regular aquatic exercise on blood pressure: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Prev Cardiol.* 2018;**25**(2):190-199. doi: 10.1177/2047487317731164 pmid: 28914562
- Junior FA, Gomes SG, da Silva FF, Souza PM, Oliveira EC, Coelho DB, et al. The effects of aquatic and land exercise on resting blood pressure and post-exercise hypotension response in elderly hypertensives. *Cardiovasc J Afr.* 2020;**31**(3):116-122. doi: 10.5830/CVJA-2019-051 pmid: 31651927
- Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sci.* 2006;**79**(11):1100-1107. doi: 10.1016/j.lfs.2006.03.021 pmid: 16624332
- Farzanegi P, Habibian M, Alinejad H. The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with Chronic Kidney Disease. *J Arak Univ Med Sci.* 2016;**19**(3):62-70.
- Ramos-Filho D, Chicaybam G, de-Souza-Ferreira E, Guerra Martinez C, Kurtenbach E, Casimiro-Lopes G, et al. High Intensity Interval Training (HIIT) Induces Specific Changes in Respiration and Electron Leakage in the Mitochondria of Different Rat Skeletal Muscles. *PLoS One.* 2015;**10**(6):e0131766. doi: 10.1371/journal.pone.0131766 pmid: 26121248
- Shafiee A, Gaeini A, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. *J Arak Univ Med Sci.* 2014;**17**(3):26-34.

24. Chen B, Ma Y, Xue X, Wei J, Hu G, Lin Y. Tetramethylpyrazine reduces inflammation in the livers of mice fed a high fat diet. *Mol Med Rep.* 2019;**19**(4):2561-2568. doi: 10.3892/mmr.2019.9928 pmid: 30720104
25. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;**41**(6):1313-1321. doi: 10.1002/hep.20701 pmid: 15915461
26. Ye Q, Zou B, Yeo YH, Li J, Huang DQ, Wu Y, et al. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;**5**(8):739-752. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30077-7 pmid: 32413340
27. Zhang H, He Y, Chung PK, Tong TK, Fu FH, Chen Y. Effects of 12 weeks of exercise on hepatic TNF- $\alpha$  and PPAR $\alpha$  in an animal model of high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis. *J Exercise Sci Fitness.* 2009;**7**(1):18-23. doi: 10.1016/S1728-869X(09)60003-4
28. Speretta GF, Rosante MC, Duarte FO, Leite RD, Lino AD, Andre RA, et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2012;**67**(12):1469-1477. doi: 10.6061/clinics/2012(12)19 pmid: 23295603
29. Simoes ESSL, Santos de Sousa Fernandes M, Kubrusly MS, Muller CR, Americo ALV, Stefano JT, et al. Effects of Aerobic Exercise Protocol on Genes Related to Insulin Resistance and Inflammation in the Pancreas of ob/ob Mice with NAFLD. *Clin Exp Gastroenterol.* 2020;**13**:223-234. doi: 10.2147/CEG.S242393 pmid: 32606885
30. Libardi CA, De Souza GV, Cavaglieri CR, Madruga VA, Chacon-Mikahil MP. Effect of resistance, endurance, and concurrent training on TNF-alpha, IL-6, and CRP. *Med Sci Sports Exerc.* 2012;**44**(1):50-56. doi: 10.1249/MSS.0b013e318229d2e9 pmid: 21697747
31. Silva VRR, Katashima CK, Lenhare L, Silva CGB, Morari J, Camargo RL, et al. Chronic exercise reduces hypothalamic transforming growth factor-beta1 in middle-aged obese mice. *Aging (Albany NY).* 2017;**9**(8):1926-1940. doi: 10.18632/aging.101281 pmid: 28854149
32. Yan J, Zhang H, Yin Y, Li J, Tang Y, Purkayastha S, et al. Obesity- and aging-induced excess of central transforming growth factor-beta potentiates diabetic development via an RNA stress response. *Nat Med.* 2014;**20**(9):1001-1008. doi: 10.1038/nm.3616 pmid: 25086906
33. Tsai VW, Lin S, Brown DA, Salis A, Breit SN. Anorexia-cachexia and obesity treatment may be two sides of the same coin: role of the TGF-b superfamily cytokine MIC-1/GDF15. *Int J Obes (Lond).* 2016;**40**(2):193-197. doi: 10.1038/ijo.2015.242 pmid: 26620888
34. Lin Y, Nakachi K, Ito Y, Kikuchi S, Tamakoshi A, Yagyu K, et al. Variations in serum transforming growth factor-beta1 levels with gender, age and lifestyle factors of healthy Japanese adults. *Dis Markers.* 2009;**27**(1):23-28. doi: 10.3233/DMA-2009-0643 pmid: 19822955
35. Yadav H, Quijano C, Kamaraju AK, Gavrilova O, Malek R, Chen W, et al. Protection from obesity and diabetes by blockade of TGF-beta/Smad3 signaling. *Cell Metab.* 2011;**14**(1):67-79. doi: 10.1016/j.cmet.2011.04.013 pmid: 21723505
36. Morgan ML, Sigala B, Soeda J, Cordero P, Nguyen V, McKee C, et al. Acetylcholine induces fibrogenic effects via M2/M3 acetylcholine receptors in non-alcoholic steatohepatitis and in primary human hepatic stellate cells. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016;**31**(2):475-483. doi: 10.1111/jgh.13085 pmid: 26270240
37. Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. *Cell Mol Life Sci.* 2019;**76**(1):99-128. doi: 10.1007/s00018-018-2947-0 pmid: 30343320
38. Le Roy T, Llopis M, Lepage P, Bruneau A, Rabot S, Bevilacqua C, et al. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Gut.* 2013;**62**(12):1787-1794. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303816 pmid: 23197411
39. Zhang L, Xie Z, Yu H, Du H, Wang X, Cai J, et al. TLR2 inhibition ameliorates the amplification effect of LPS on lipid accumulation and lipotoxicity in hepatic cells. *Ann Transl Med.* 2021;**9**(18):1429. doi: 10.21037/atm-21-4012 pmid: 34733981
40. Hwangbo H, Ji SY, Kim MY, Kim SY, Lee H, Kim GY, et al. Anti-Inflammatory Effect of Auranofin on Palmitic Acid and LPS-Induced Inflammatory Response by Modulating TLR4 and NOX4-Mediated NF-kappaB Signaling Pathway in RAW264.7 Macrophages. *Int J Mol Sci.* 2021;**22**(11). doi: 10.3390/ijms22115920 pmid: 34072916