

## The effect of eight weeks aerobic exercise training and zinc supplementation on some hepatokines and hepatic enzymes in male Wistar rats intoxicated with Bisphenol-A

Mohammad Salmasi<sup>1</sup>, Asghar Tofighi<sup>1</sup>, Siamak Asri-Rezaei<sup>2</sup>, Javad Tolouei Azar<sup>\*1</sup>

Receive 2023 July 13; Accepted 2023 October 12

### Abstract

**Aim:** Bisphenol-A (BPA) is a monomer that is used in the production of the protective resin layer in polycarbonate plastics and has a negative effect on the endocrine system. The purpose of the present study was to determine the effect of eight weeks of aerobic exercise training with nanoparticle and zinc oxide supplementation on hepatic enzymes and some hepatokines (Fetuin-A and FGF-21) in rats intoxicated with BPA. **Methods:** The present study was experimental. 60 male rats were divided into 12 groups: 1) Control; 2) BPA; 3) Exercise; 4) Exercise+BPA; 5) Nanoparticle supplementation (Nano); 6) Nanoparticle+BPA (Nano+BPA); 7) Zinc oxide salt (Zno); 8) Zinc oxide salt+BPA (Zno+BPA); 9) Exercise+Nano; 10) Exercise+Nano+BPA; 11) Exercise+Zno; and 12) Exercise+Zno+BPA. Aerobic training was performed for eight weeks, five sessions each week with 50% to 75%  $VO_{2max}$ , and 25–64 minutes each. Nanoparticle and zinc oxide supplements (3 mg/kg) were injected into animals five days a week for eight weeks. The ALT, AST, Fetuin-A, and FGF-21 levels were measured by ELISA method. One-way ANOVA was used to compare between groups and Tukey's test was used to determine the variety between groups. **Results:** BPA caused a significant increase in ALT, AST and Fetuin-A activity compared to the control group ( $p=0.001$ ), but had no effect on FGF-21 levels ( $p>0.05$ ). On the other hand, the supplement alone and the combination of the supplement with exercise led to a significant decrease in ALT and AST activity ( $p=0.001$ ). Exercise alone, supplements alone, and their combination also led to a significant decrease in Fetuin-A ( $p=0.001$ ). **Conclusions:** Aerobic exercise, zinc supplementation, and especially the combination of these two (aerobic exercise + zinc supplementation) can probably reduce the negative effects induced by BPA.

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit [jahssp.azaruniv.ac.ir](http://jahssp.azaruniv.ac.ir)

1. Department of Exercise Physiology and Corrective Exercises, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.  
**\*(corresponding author)**  
([j.toloueiazar@urmia.ac.ir](mailto:j.toloueiazar@urmia.ac.ir))

**Keywords:** Bisphenol-A, Exercise training, Fibroblast growth factor 21, Fetuin-A.

*Cite as:* Salmasi, Mohammad. Tofighi, Asghar. Asri-Rezaei, Siamak. Tolouei Azar, Javad. The effect of eight weeks aerobic exercise training and zinc supplementation on some hepatokines and hepatic enzymes in male Wistar rats intoxicated with Bisphenol-A. Applied Health Studies in Sport Physiology. ?????; ?(In press): ?-??.

**Owner and Publisher:** Azarbaijan Shahid Madani University

**Journal ISSN** (online): 2676-6507

**Access Type:** Open Access

**DOI:** 10.22049/JAHSSP.2023.28824.1572

**DOR:**



## Extended abstract

### Background

Bisphenol A (BPA) is widely used in the production of polycarbonate plastics and epoxy resins. Long-term exposure to BPA leads to several disorders such as glucose intolerance, insulin resistance, and liver diseases. Among the indicators that show the state of liver activity, we can mention proteins derived from the liver, which are known as hepatokines. Fibroblast growth factor 21 (FGF-21) and Fetuin-A (Fet-A) are the most important hepatokines. Exercise can modulate the hepatokines levels. In addition, zinc supplement is one of the effective supplements on hepatokines. Therefore, this study aimed to investigate the effect of eight weeks of aerobic exercise training with nanoparticle and zinc oxide supplementation on hepatic enzymes and some hepatokines (Fet-A and FGF-21) in rats intoxicated with BPA.

### Materials and Methods

The research was an experimental research. The present study was approved by the Ethics Committee (IR.UMSU.REC.1397.070). 60 adult male Wistar rats were studied in this research. Rats were maintained under standard conditions at a temperature of  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 60% humidity, and a 12-hour light-dark cycle in a cage. The normal diet of Rat was analyzed from zinc content, and the zinc element amount was balanced at 85 mg/kg of dry matter of the diet.

### Experimental design

Rats were randomly divided into 12 groups of 5 contaminated with BPA or without contamination including; 1. Control group, 2. Aerobic exercise, 3. Zinc oxide salt supplement, 4. Zinc oxide nanoparticle supplement, 5. Zinc oxide salt supplement + aerobic exercise, and 6. Zinc oxide nanoparticle supplement + aerobic exercise. The dose of BPA infecting was 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  body weight per day for 30 days.

**Zinc supplementation:** Zinc supplementation dose was 3 mg/kilogram of body weight for 60 days. All injections were done intraperitoneal.

**Exercise training protocol:** The training program was progressive and included 25 minutes of running at a speed of 15 m/min in the first week, up to 64 minutes of running at a speed of 22 m/min in the eighth week, and 5 sessions per week during eight weeks. Also, at the beginning of each training session, in order to warm up, the Rat ran at a speed of 7 meters per minute for 3 minutes, and until the target speed was reached, the speed of the treadmill was increased by 2 meters per minute. At the end of each training session, cooling down was done by reducing the speed gradually until it reached the initial speed.

**Extraction of laboratory animal tissue:** 48 h after the last training session, the samples were taken. First, the animals under study were anesthetized with a combination of Xylazine (10 mg/kg) and ketamine (100 mg/kg). To measure ALT and AST, blood samples were taken directly from the heart and transferred to tubes without anticoagulant. Serum samples were kept at  $-70^{\circ}\text{C}$  until analysis. Then, the liver tissue was washed with physiological serum and weighed. The samples were immediately frozen in liquid nitrogen and stored in a  $-80^{\circ}\text{C}$  freezer for molecular cell tests.

**Assessment of studied factors:** FGF-21 and Fet-a levels were measured using the laboratory ELISA method. Also, to determine the ALT and AST value, special kits made by Man and auto-analyzer BT-1500 made in Italy were used.

### Statistical analysis

One-way ANOVA followed by Tukey post-hoc tests was performed for analyses of quantitative findings regarding molecular findings were conducted. All data were represented as the mean  $\pm$  SD. p-values  $< 0.05$  were considered statistically significant. The graphs were prepared using Graph Pad Prism 9.0 statistic software.

### Results

The One-way ANOVA test results showed a significant difference in ALT ( $p = 0.001$ ,  $F = 54.39$ ), AST ( $p = 0.001$ ,  $F = 46.69$ ), Fet-A ( $p = 0.001$ ,  $F = 28.16$ ), and FGF-21 ( $F=91.44$ ,  $p = 0.001$ ) levels in the twelve research groups. BPA caused a significant increase in ALT, AST, and Fet-A activity compared to the control group ( $p=0.001$ ), but had no effect on FGF-21 levels ( $p>0.05$ ). On the other hand, the supplement alone and the combination of the supplement with exercise led to a significant decrease in ALT and AST ( $p=0.001$ ). Exercise alone, supplement alone and their combination led to a significant decrease in Fet-A levels ( $p=0.001$ ).

### Discussion

BPA has a negative effect on liver cells. The findings of the present study showed that BPA led to an increase in the ALT and AST concentration, which indicates a high workload on liver cells. Therefore, in the present study, the reduction changes of these enzymes by performing exercise training and supplementation have been effective in reducing liver



damage caused by BPA. In addition, Fet-A levels significantly increased in all BPA groups, and as mentioned before, this increase is linked to liver cell dysfunction. On the other hand, aerobic exercise, zinc supplement, and aerobic exercise combined with zinc supplement decreased Fet-A levels in BPA-intoxicated rats. Also, FGF-21 levels increase due to exercise training and a combination of exercise training with zinc supplementation. Considering the disturbance in liver metabolism following BPA, zinc supplementation and aerobic exercise can be considered effective in reducing these adverse effects.

#### Article message

According to the research findings, BPA injection increases the ALT and AST activity, adverse changes in the concentration of hepatokines (Fet-A ↑ and FGF-21 ↓). Aerobic exercise and zinc supplements can be protective factors against BPA. So that it may change the negative effects induced by BPA. In addition, more than the other two methods alone, the interaction of aerobic exercise + zinc supplementation could improve this disorder.

in press

## مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال؟، شماره؟

؟ و ؟؟؟؟؛ صفحات؟-؟

Open Access

مقاله پژوهشی

## تاثیر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل روی بر مقادیر برخی هپتوکاین‌ها و آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرائی نر ویستار آلوده شده با بیس فنول-A

محمد سلماسی<sup>۱</sup>، اصغر توفیقی<sup>۱</sup>، سیامک عصری رضایی<sup>۲</sup>، جواد طلوعی آذر<sup>۱\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۰

## چکیده

**هدف:** بیس فنول-A (BPA) مونومری است که در ساخت لایه رزینی محافظ در پلاستیک‌های پلی کربناته کاربرد دارد و بر سیستم اندوکرینی اثر منفی می‌گذارد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط و مکمل‌یاری با نانوذره و ذره‌نمکی اکسید روی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی و هپتوکاین‌های منتخب (FGF-21 و Fetuin-A) موش‌های صحرائی نر ویستار آلوده شده با BPA بود. **روش پژوهش:** مطالعه حاضر از نوع تجربی بود. ۶۰ سر موش در ۱۲ گروه ۵ تایی: (۱) کنترل، (۲) BPA، (۳) تمرین هوازی، (۴) تمرین هوازی+BPA، (۵) نانوذره، (۶) نانوذره+BPA، (۷) ذره نمکی اکسید روی، (۸) ذره نمکی اکسید روی+BPA، (۹) تمرین+ نانوذره، (۱۰) تمرین+ نانوذره+BPA، (۱۱) تمرین+ذره نمکی اکسید روی و (۱۲) تمرین+ذره نمکی اکسید روی+BPA قرار گرفتند. تمرین هوازی به مدت هشت هفته، هر هفته پنج جلسه با شدت ۵۰ الی ۷۵ درصد VO<sub>2</sub>max و به مدت ۲۵-۶۴ دقیقه اجرا شد. مکمل نمکی و نانو (۳ mg/kg)، پنج روز در هفته به مدت هشت هفته تزریق شد. مقادیر ALT، AST، Fetuin-A و FGF-21 با روش الایزا سنجش شد. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه بین گروهی و جهت تعیین اختلاف در گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. **یافته‌ها:** BPA باعث افزایش معنی‌دار فعالیت ALT، AST و افزایش Fetuin-A کبدی نسبت به گروه کنترل شد (p=۰/۰۰۱)، اما تاثیری بر مقادیر کبدی FGF-21 نداشت (p>۰/۰۵). از طرفی، مکمل به تنهایی و ترکیب مکمل با تمرین منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت ALT و AST شد (p=۰/۰۰۱). تمرین به تنهایی، مکمل به تنهایی و ترکیب آن‌ها نیز منجر به کاهش معنی‌دار Fetuin-A شد (p=۰/۰۰۱). **نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی، مکمل‌یاری با روی و به‌ویژه ترکیب این دو (تمرین هوازی + مکمل‌یاری با روی) احتمالاً بتواند آثار منفی القاء شده با BPA را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: بیسفنول A، تمرین ورزشی، فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۱، فتوئین A.

**نحوه ارجاع:** سلماسی، محمد، توفیقی، اصغر، عصری رضایی، سیامک، طلوعی آذر، جواد. "تاثیر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل روی بر مقادیر برخی هپتوکاین‌ها و آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرائی نر ویستار آلوده شده با بیس فنول-A". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ؟؟؟؟؛ (؟)-؟؟.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28824.1572

DOR: 20.1001.



## مقدمه

نتیجه مقاومت به انسولین را تحریک می‌کند. به علاوه، با افزایش استرس اکسایشی و التهاب منجر به تشدید اختلالات متابولیکی می‌شود (۱۷). در رابطه با تاثیر مداخلات ورزشی بر Fet-A مطالعات متعددی انجام شده است. در این میان، در مطالعه فراتحلیلی نشان داده شده است که مقادیر Fet-A در گردش بواسطه فعالیت ورزشی کاهش می‌یابد (۱۸). در مطالعه دیگری گزارش شده است که فعالیت ورزشی کوتاه مدت - با اینکه تاثیری بر وزن بدن و محتوای تری‌گلیسرید کبدی نداشته - پاسخ مثبتی در کاهش غلظت سرمی Fet-A به وجود می‌آورد (۱۹). به‌طور کلی، نتایج بسیاری از مطالعات پیشین بیانگر کاهش Fet-A بواسطه تمرینات ورزشی هستند (۱۶، ۱۸، ۲۰). FGF-21 نیز به عنوان یک پپتید ۲۰۹ اسید آمینه‌ای است که عمدتاً در کبد بیان و تولید می‌شود و نقش مهمی در سازوکارهای متابولیکی دارد (۲۱، ۲۲). یکی از مهم‌ترین این سازوکارها، تحریک فعالیت عصب سمپاتیک از طریق فاکتور آزادکننده کورتیکوتروپین (CRF)<sup>۶</sup> است که منجر به بهبود متابولیسم کل بدن می‌شود. این اثرات FGF-21 به پیام‌رسانی از طریق کو - رسپتور غنی شده در کبد و چربی<sup>۷</sup>، βKlotho و یکی از گیرنده‌های FGF مانند FGFR1، FGFR2، یا FGFR4 نیاز دارد (۲۳). با این حال، مقادیر این شاخص در پاسخ به عوامل استرس‌زای متنوع فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی از جمله اختلالات کبدی، ابتلا به T2DM، مسمومیت‌های دارویی و فعالیت‌های ورزشی تعدیل می‌شود (۲۴، ۲۵). پیشنهاد شده است که افزایش رهایش FGF-21 می‌تواند در جلوگیری از سمیت لیپیدی<sup>۸</sup> کمک کننده باشد (۲۶). از طرفی، FGF-21 تاثیر مثبت و معنی‌داری بر کاهش وزن بدن و کاهش مقادیر انسولین ناشتایی دارد و به طور مستقیم متابولیسم چربی را تنظیم نموده و تجمع چربی‌های کبدی را به صورت مستقل از انسولین کاهش می‌دهد (۲۷). همانطور که FGF-21 به عنوان یک هدف درمانی قوی تلقی می‌شود، رهایش FGF-21 ناشی از فعالیت ورزشی نیز می‌تواند یکی از پیوندهای مولکولی باشد که تاثیرات مفید تمرینات ورزشی را به سطح کل بدن میانجی‌گری می‌کند (۱۶، ۲۵، ۲۸-۳۰). به علاوه، این تاثیر با مداخله فعالیت ورزشی در موش‌های با نقص FGF-21 با قوت بیشتری حمایت شده است که به بهبود تحمل گلوکز و کاهش میزان تری‌گلیسرید کبدی کمک می‌کند (۲۹). به علاوه، پژوهش‌های متعددی نیز نشان داده‌اند که شیوه‌های مختلف تمرین ورزشی و به‌ویژه شیوه هوازی میزان mRNA و محتوای FGF-21 را افزایش می‌دهد (۱۶، ۲۲، ۳۱، ۳۲).

علاوه بر تمرینات ورزشی، عوامل متعددی وضعیت متابولیک بدن را تحت تاثیر می‌گذارند (۳۳) که از جمله آن‌ها می‌توان به مصرف مکمل‌ها اشاره کرد. در این راستا، روی یکی از عناصر کمیاب ضروری و حیاتی برای

بیس‌فنول-A (BPA)<sup>۱</sup> به طور گسترده‌ای در تولید پلاستیک‌های پلی-کربنات و رزین‌های اپوکسی<sup>۲</sup> استفاده می‌شود (۱). گزارش شده است که هر ساله بیش از ۲/۲ میلیون تن از این ترکیبات در سرتاسر جهان برای ساخت پلاستیک‌های پلی‌کربنات و رزین‌ها، پوشاندن سطوح داخلی قوطی‌های فلزی، محصولات پلاستیکی، بسته‌بندی‌های غذایی، تجهیزات پزشکی و دندانپزشکی و ورزشی استفاده می‌گردد (۲). بر این اساس، BPA می‌تواند به محتویات آن‌ها نفوذ کند و با استفاده و یا حتی تماس فیزیکی با آن‌ها وارد بدن انسان شود. در این راستا، معلوم شده است که قرارگیری درازمدت و یا مداوم در معرض BPA منجر به اختلالات متعددی مانند عدم تحمل گلوکز و مقاومت انسولینی می‌شود (۳). همچنین، بین مقادیر افزایش یافته BPA در ادرار و سرم - هر چو - و خطر ابتلا به دیابت نوع دو (T2DM) همبستگی معنی‌داری وجود دارد (۴). ارتباط بین مقادیر BPA و T2DM می‌تواند به لحاظ بیولوژیکی امکان‌پذیر باشد. چرا که، BPA در توسعه ابتلا به چاقی، T2DM و از جمله اختلال در هومئوستاز گلوکز، مقاومت انسولینی، التهاب و استرس اکسیداتیو نقش دارد و در بافت‌های حساس به انسولین نظیر کبد اثر می‌گذارد (۵) و با اختلال عملکرد کبدی نیز همراه است (۶). در این راستا، ارتباط معنی‌داری بین غلظت ادراری BPA و اختلالات آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های دیابتی مشاهده شده است (۷) و در مطالعات مبتنی بر جمعیت انسانی گزارش شده است که قرارگرفتن در معرض BPA با ایجاد ناهنجاری آنزیم‌های کبدی، نشان‌دهنده آسیب‌های وارده بر کبد است (۸، ۹). به‌طوری که افزایش غلظت سرمی آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و اسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) بیانگر افزایش بار کار کبد در پی آلوده‌شدن با BPA است (۱۰). از شاخص‌های دیگری که بیانگر وضعیت و میزان فعالیت کبد است، و می‌تواند تحت تاثیر BPA قرار بگیرد، می‌توان به پروتئین‌های مشتق شده از کبد اشاره کرد که به عنوان هپتوکاین<sup>۳</sup> شناخته می‌شوند (۱۱). هپتوکاین‌ها، به عنوان هدفی برای توسعه درمان‌های جدید T2DM، مقاومت انسولینی و اختلالات عملکرد کبدی مطرح هستند. از جمله این هپتوکاین‌ها می‌توان به Fetuin-A و فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۱ (FGF-21)<sup>۴</sup> اشاره کرد. Fetuin-A (به اختصار Fet-a)، یک گلیکوپروتئین ۶۴ کیلودالتونی است که به عنوان هپتوکاینی چند پتانسیله<sup>۵</sup> شناخته می‌شود (۱۲-۱۴). مقادیر این هپتوکاین در اختلالاتی مانند سندرم متابولیک و T2DM افزایش می‌یابد و با اختلال حساسیت انسولینی و عدم تحمل گلوکز همبستگی قوی دارد (۱۵، ۱۶). به عبارتی، سلول‌های کبدی با افزایش تولید و رهایش Fet-A، پیام‌رسانی انسولین را مهار کرده و در

<sup>۶</sup> corticotrophin releasing factor<sup>۷</sup> liver- and adipose-enriched co-receptor<sup>۸</sup> lipotoxicity<sup>۱</sup> Bisphenol<sup>۲</sup> epoxy resins<sup>۳</sup> Hepatokin<sup>۴</sup> Fibroblast growth factor-21<sup>۵</sup> Multi-potential

قبل از شروع مداخله‌ها، موش‌ها به‌طور تصادفی به ۱۲ گروه ۵ تایی آلوده با BPA یا بدون آلودگی شامل؛ ۱. تزریق سرم فیزیولوژی (کنترل) ۲. تمرین هوازی ۳. مکمل نمکی اکسید روی ۴. مکمل نانوذره اکسید روی ۵. مکمل نمکی اکسید روی + تمرین هوازی ۶. مکمل نانوذره اکسید روی + تمرین هوازی تقسیم بندی شدند. سپس، با همین گروه‌بندی‌ها به مدت یک هفته در کنار هم قرار گرفتند تا با شرایط محیطی سازش پیدا کنند و احتمالاً آثار استرس‌های محیطی بر نتیجه آزمایش‌ها کمتر شود. دوز آلوده کردن موش‌ها با BPA ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز ( $100 \mu\text{g/kg/day}$ ) به مدت ۳۰ روز بود (۴۰). سپس، مداخلات تمرینی و دریافت مکمل برای هشت هفته ادامه یافت. دوز دریافت مکمل‌های روی ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای ۶۰ روز بود. همه تزریق‌ها بصورت درون صفاقی انجام شد (۴۱). قبل از شروع برنامه تمرینی به منظور آشناسازی حیوانات گروه تمرینی با نحوه دویدن و راه رفتن بر روی تردمیل به مدت دو هفته و ۳ جلسه در هفته با سرعت ۵ تا ۸ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه بر روی تردمیل دویدند (۴۲). برنامه تمرین اصلی به صورت پیشرونده و شامل ۲۵ دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته اول، تا ۶۴ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه در هفته هشتم و ۵ جلسه در هفته در طی هشت هفته بود. همچنین، در ابتدای هر جلسه تمرین به منظور گرم کردن موش‌ها با سرعت ۷ متر بر دقیقه به مدت ۳ دقیقه می‌دویدند و تا رسیدن به سرعت مورد نظر، به ازای هر دقیقه، ۲ متر بر دقیقه به سرعت تردمیل افزوده می‌شد. عمل سردکردن نیز در انتهای هر جلسه تمرین با کاهش پلکانی سرعت تا رسیدن به سرعت اولیه، در انتهای هر جلسه تمرین انجام می‌گرفت. شدت تمرین با اقتباس از مطالعات قبلی در طول مداخله معادل ۵۰ الی ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۴۲-۴۵). ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ورزشی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی (شبانه)، نمونه برداری‌ها انجام گرفت. برای جمع آوری نمونه‌ها، ابتدا حیوانات تحت مطالعه با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش و آسان کشی شدند (۴۵). برای اندازه‌گیری ALT و AST نمونه‌های خون به‌طور مستقیم از قلب اخذ و به لوله‌های فاقد ماده ضدانعقاد انتقال یافتند. متعاقب لخته شدن و سانتریفوژ ( $1500 \text{g}$  به مدت ۱۰ دقیقه) نمونه‌های سرم جداسازی و تا زمان آنالیز در دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس، بافت کبد برداشته شد و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک وزن کشی گردید. نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد گردیده و جهت انجام آزمایشات سلولی مولکولی در فریزر  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور ارزیابی مقادیر هپتوکاین‌ها در بافت کبد، نمونه‌های بافت کبد در بافر PBS هموزنایز شده

عملکرد بیش از ۳۰۰ آنزیم است و اهمیت آن برای بسیاری از فرایندهای سلولی، از جمله تقسیم سلولی و آپوپتوز<sup>۹</sup> به اثبات رسیده است (۳۴). روی به عنوان یکی از مهم‌ترین عناصر موثر در سیستم‌های آنزیمی، متابولیسم کربوهیدرات و چربی‌ها، مقاومت انسولینی و چاقی می‌باشد. به‌طوری که تجویز آن می‌تواند اختلال ایجاد شده در متابولیسم گلوکز و حساسیت انسولینی به دنبال دریافت BPA را تعدیل کند (۳۵). عنصر روی به‌طور مستقیم در عملکرد فیزیولوژیکی انسولین نقش اساسی دارد و می‌تواند در تعدیل وضعیت T2DM و عوارض ناشی از آن درگیر باشد (۳۶). همچنین، مکمل روی با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی، سنتز پروتئین را تسریع و موجب بهبود عملکرد کبد می‌شود (۳۷). به‌طور کلی، مکمل‌های روی در اشکال نمکی و نانوذره اکسید روی موجود است و در سال‌های اخیر، استفاده از این مواد در مقیاس نانو به سرعت توسعه یافته و نانو ذرات عناصر اکسید شده مانند نانو اکسید روی (NanoZno) بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۸).

با توجه به نقش مفید تمرینات ورزشی و مکمل روی بر سلامت متابولیک و فقدان مطالعه‌ای که تاثیر تمرینات ورزشی و مکمل روی را بر هپتوکاین‌های نمونه انسانی یا حیوانی آلوده شده با BPA روشن کند، در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا تغییرات هپتوکاین‌های منتخب (FGF-1، Fetuin-A) را به عنوان 21 و فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز کبدی (ALT و AST) را به عنوان نشانگرهای اختلال عملکردی کبد به دنبال آلوده شدن با BPA و متعاقب آن تاثیرات هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل روی (ذره‌نمکی و اشکال نانو اکسید روی) را در بافت کبد موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار بررسی کنیم.

### روش پژوهش

پژوهش حاضر توسط کمیته اخلاق در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (IR.UMSU.REC.1397.070) مورد تایید قرار گرفت. تعداد ۶۰ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار در این پژوهش مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌ها در اتاق پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تحت شرایط استاندارد در دمای  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰ درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ساعت ۷ و شروع تاریکی ساعت ۱۹) در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. جیره غذایی نرمال موش‌ها قبل از شروع مطالعه از نقطه نظر محتوای روی مورد آنالیز قرار گرفته و مقدار عنصر روی در حد ۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره متعادل گردید. این میزان بر اساس کتاب NRC مطابق با مقدار مورد نیاز روی در موش‌ها بود (۳۹).

<sup>9</sup> Apoptosis



با یکدیگر و گروه‌های BPA نیز با هم مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین گروه BPA تنها با گروه‌های کنترل سالم مورد مقایسه قرار گرفت. بین گروه‌های مختلف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و گروه‌های سالم با یکدیگر و گروه‌های BPA نیز با هم مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین گروه BPA تنها با گروه‌های کنترل سالم مورد مقایسه قرار گرفت. تغییرات آنزیم‌های کبدی در گروه‌های دوازده‌گانه پژوهش در جدول ۱ نشان داده شده است (همچنین، شکل ۱ A و B را ببینید). بر اساس این نتایج مشاهده شد که تجویز BPA سبب افزایش معنی‌دار AST و ALT نسبت به گروه کنترل سالم ( $P=0/001$ ) و سایر گروه‌های بدون BPA ( $P=0/001$ ) شد. همچنین، در بررسی گروه‌های سالم مشاهده شد که گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل سالم باعث افزایش معنی‌دار هر دو آنزیم ALT و AST شد ( $P=0/001$  برای هر دو متغیر)، هر چند که این تغییرات معنی‌دار بود اما محدوده این افزایش زیاد نبود. با وجود این، دریافت مکمل‌های روی (Zno و NanoZno) همراه با تمرین ورزشی توانست از افزایش فعالیت AST در مقایسه با تمرین بدون مکمل تا حد معنی‌داری جلوگیری کند و این مکمل‌ها به تنهایی برای ALT سبب کاهش معنی‌دار آن‌ها نسبت به گروه تمرین ورزشی به تنهایی شدند.

در مقایسه گروه‌های آلوده شده با BPA نیز یافته‌ها نشان داد که گروه‌های BPA + Exercise + Zno، BPA + NanoZno، BPA + Zno و BPA + Exercise + NanoZno در مقایسه با گروه BPA به تنهایی منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت ALT و AST شدند (برای هر دو  $P=0/001$ ). این در حالی بود که گروه تمرین ورزشی آلوده شده با BPA در مقایسه با گروه BPA به تنهایی نتوانست کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های کبدی ایجاد کند (شکل ۱ A و B).

و پس از سانتیفریژ، مایع رویی (سوپرناتانت) حاصل جدا و برای سنجش مقادیر این آنالیت‌ها استفاده شد. مقادیر بافتی FGF-21 با استفاده از روش آزمایشگاهی الایزا و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت کشور چین با شماره کاتالوگ (Cat. No: E1362Ra) و حساسیت ۲/۶۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. مقادیر بافتی Fet-a با استفاده از روش آزمایشگاهی الایزا و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت کشور چین با شماره کاتالوگ (Cat. No: E0580Ra) و حساسیت ۰/۲۶ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. همچنین، برای تعیین مقادیر ALT و AST از کیت‌های اختصاصی ساخت شرکت Man (ایران) و دستگاه اتونالیزور BT-1500 ساخت کشور ایتالیا استفاده شد. از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) برای مقایسه بین گروهی و در ادامه جهت تعیین اختلاف در گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. کلیه محاسبات آماری از طریق نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۲ و گراف‌پد پریزم ویرایش ۹ انجام گرفت. سطح معنی‌داری  $P<0/05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها**

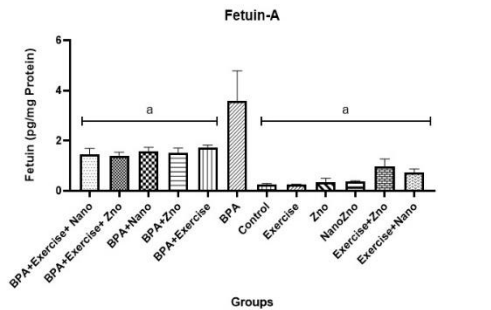
مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی و هپتوکین‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود گروه‌های BPA به شدت تحت تاثیر این ماده قرار گرفته‌اند. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقادیر ALT ( $F=54/39, P=0/001$ )، AST ( $F=46/69, P=0/001$ )، Fet-A ( $F=28/16, P=0/001$ ) و FGF-21 ( $F=91/44, P=0/001$ ) در گروه‌های دوازده‌گانه پژوهش وجود دارد (جدول ۱). برای مقایسه تفاوت بین گروه‌های مختلف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و گروه‌های سالم

**جدول ۱. آمار توصیفی مربوط به آنزیم‌های کبدی و هپتوکین‌ها (میانگین ± انحراف معیار)**

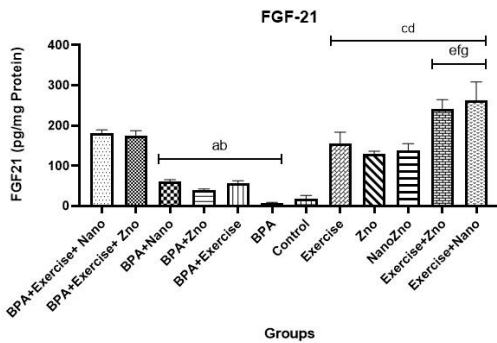
FGF-21 (pg/mg Protein)	Fetuin-A (pg/mg Protein)	AST (U/L)	ALT (U/L)	متابولیت گروه
۷/۱۸±۱/۸۰	۳/۵۷±۱/۲۰	۸۴/۵۶±۲۱/۴۵	۱۱۲/۴۳±۲۸/۸۹	BPA
۵۶/۱۷±۷/۰۳	۱/۷۳±۰/۰۹	۸۰/۹۹±۴/۴۸	۱۰۵/۸۹±۵/۴۲	BPA + Exercise
۳۹/۳۸±۳/۱۵	۱/۵۰±۰/۱۹	۳۵/۶۵±۱/۸۵	۴۲/۶۸±۲/۶۳	BPA + ZnO
۶۰/۹۷±۴/۴۶	۱/۵۷±۰/۱۵	۳۴/۶۹±۲/۷۲	۴۶/۳۵±۳/۵۷	BPA + Nano
۱۷۳/۸۰±۱۳/۳۹	۱/۴۰±۰/۱۳	۴۰/۰۳±۶/۲۴	۴۷/۰۹±۲/۶۶	BPA + Exercise + ZnO
۱۸۱/۶۴±۷/۶۰	۱/۴۶±۰/۲۲	۳۶/۲۳±۵/۶۸	۴۵/۰۹±۵/۵۷	BPA + Exercise + Nano
۱۸/۵۴±۷/۵۸	۰/۲۶±۰/۰۲	۲۰/۴۶±۱/۴۷	۲۱/۱۰±۱/۴۰	Control
۱۵۶/۴۰±۲۷/۲۹	۰/۲۶±۰/۰۰	۳۸/۷۴±۱/۰۶	۵۱/۵۳±۱/۸۰	Exercise



۱۳۹/۷۳±۶/۷۹	۰/۳۴±۰/۱۵	۲۳/۳۸±۲/۳۸	۲۷/۸۰±۳/۲۹	ZnO
۱۳۷/۳۴±۱۷/۵۵	۰/۳۶±۰/۰۳	۲۴/۲۰±۶/۲۱	۲۸/۱۳±۶/۷۸	Nano-ZnO
۲۴۲/۱۵±۲۲/۳۵	۰/۹۶±۰/۳۰	۲۱/۱۵±۳/۳۹	۲۷/۹۰±۴/۵۷	Exercise + ZnO
۲۶۱/۹۸±۴۶/۵۹	۰/۷۴±۰/۱۳	۱۸/۲۱±۱/۳۳	۲۳/۸۵±۱/۸۹	Exercise + Nano
۹۱/۴۴	۲۸/۱۶	۴۶/۶۹	۵۴/۳۹	F
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	P



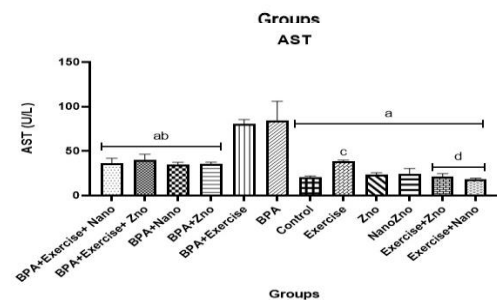
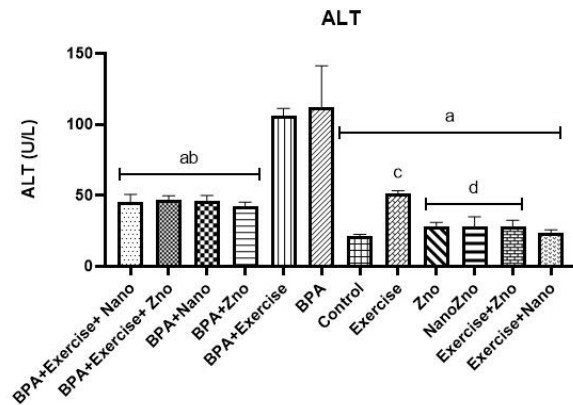
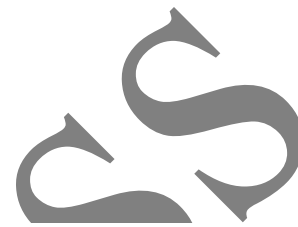
شکل ۲. اثر تمرین ورزشی و هر دو مکمل روی (نمکی و نانوذره) بر Fet-A کبد موش های صحرائی نر و بیستار آلوده شده با BPA: a: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه BPA. (p≤0.05).



شکل ۳. اثر تمرین ورزشی و هر دو مکمل روی (نمکی و نانوذره) بر FGF-21 بافت کبد موش های صحرائی نر و بیستار آلوده شده با BPA:

a: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه BPA + Exercise + NanoZno. b: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه BPA + Exercise + ZnO. c: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه BPA. d: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه Control. e: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه Exercise. f: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه ZnO. g: تغییر معنی دار در مقایسه با گروه NanoZno.

تغییرات مقادیر Fet-a در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج این بخش از پژوهش حاضر نشان داد که تزریق BPA به طور معنی داری منجر به افزایش مقادیر بافتی Fet-a نسبت به گروه کنترل سالم و تمام گروه های



B

شکل ۱. اثر تمرین ورزشی و هر دو مکمل روی (نمکی و نانوذره) بر AST (A) و ALT (B) سرمی موش های صحرائی نر و بیستار آلوده شده با BPA: a: تغییر معنی دار نسبت به گروه BPA + Exercise. b: تغییر معنی دار نسبت به گروه BPA + Exercise + NanoZno. c: تغییر معنی دار نسبت به گروه Control. d: تغییر معنی دار نسبت به گروه Exercise. (p≤0.05).



بدون دریافت BPA می‌شود ( $P=0/001$ ). در بررسی گروه‌های دریافت کننده BPA با اعمال مداخله‌های تمرین ورزشی و مکمل نیز مشاهده شد که تجویز BPA با انجام تمرین ورزشی، مکمل Zn و nano-Zn، و ترکیب تمرین ورزشی با NanoZn و تمرین ورزشی با Zn به طور معنی‌داری مقادیر Fet-a را نسبت به گروه BPA تنها کاهش می‌دهد ( $P=0/001$  برای همه گروه‌ها). این در حالی بود که در بررسی گروه‌های سالم مشاهده شد تمرین ورزشی به تنهایی و مکمل به تنهایی و یا ترکیبی نتوانست سبب کاهش معنی‌دار Fet-a نسبت به گروه کنترل سالم شود ( $P>0/05$ ).

تغییرات مقادیر بافتی FGF-21 در شکل ۳ نشان داده شده است. در بررسی تغییرات FGF-21 در گروه‌های سالم مشاهده شد که تغییرات این شاخص در گروه کنترل سالم در مقایسه با گروه BPA معنی‌دار نیست، اما تمرین ورزشی به تنهایی، NanoZn Zn و ترکیب تمرین ورزشی با Nano و Zn در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم و BPA تنها سبب افزایش معنی‌دار FGF-21 شد ( $P=0/001$ ). همچنین، ترکیب تمرین ورزشی با مکمل Nano و Zn در مقایسه با گروه‌های تمرین ورزشی و مکمل به تنهایی افزایش بیشتری در FGF-21 ایجاد کرد ( $P=0/001$ ). علاوه بر این، در مقایسه گروه‌های دریافت کننده BPA + تمرین ورزشی و مکمل Nano و Zn نیز مشاهده شد که تمامی گروه‌ها به جز گروه BPA + Zn نسبت به گروه تنها BPA افزایش معنی‌داری در مقادیر FGF-21 نشان دادند که بیشترین افزایش نیز مربوط به گروه‌های ترکیبی (تمرین ورزشی + NanoZn و تمرین ورزشی با Zn) بود (شکل ۳).

## بحث

در بافت‌های متعددی قادر به تخریب عملکرد سلولی است که به ویژه بر سلول‌های کبدی اثر منفی می‌گذارد. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تزریق داخل صفاقی BPA به مدت ۳۰ روز با دوز  $100 \mu\text{g/kg/day}$  منجر به افزایش غلظت آنزیم ALT و AST در مقایسه با گروه کنترل گردیده است که نشان دهنده بار کاری زیاد بر سلول‌های کبد است. همسو با نتایج پژوهش حاضر، کیم<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که افزایش مقادیر ادراری BPA با افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی و در نتیجه با بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)<sup>۲</sup> در ارتباط است (۴۶). مهدوی‌نیا و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که گاوژ  $250 \text{ mg/kg}$  از BPA به نمونه حیوانی سبب افزایش سمیت و افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌شود که در این بین استفاده از مکمل کورلکتین می‌تواند این تاثیرات تخریبی را خنثی کند (۴۷). همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، موراد<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان دادند که القاء خوراکی BPA در دوز

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد مقادیر Fet-A در تمام گروه‌های آلوده شده با BPA افزایش چشمگیری داشت و چنانچه قبلاً نیز اشاره شد این افزایش با اختلال عملکرد سلول‌های کبدی پیوند خورده است. به‌طوری که، در دیگر گروه‌های بدون آلودگی با BPA مقادیر Fet-A تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نداشت. همان‌طور که قبلاً بیان شد،

<sup>۱</sup> Mourad

<sup>۱</sup> Kim

<sup>۲</sup> Nonalcoholic fatty liver disease



میزان تری گلیسیرید کبدی کمک می‌کند (۲۹). علاوه بر این، مقادیر FGF-21 در همه گروه‌های غیرآلوده با BPA نیز نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری یافت. در این زمینه، همسو با یافته‌های پژوهش حاضر در چندین پژوهش نشان داده شده است که مقادیر FGF-21 در اثر تمرینات ورزشی افزایش می‌یابد و در بهبود اختلالات متابولیکی امیدوارکننده است (۲۸). پیش از این، ایسی<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۳) همبستگی معکوس قوی بین مقادیر FGF-21 در گردش و شدت فیبروز کبدی یافتند (۵۴). در این زمینه، نشان داده شده است که عامل نکروز توموری آلفا (TNF- $\alpha$ ) و فاکتورهای رونویسی فعال شده - استرس اکسیداتیو (NFE2) ممکن است موجب کاهش رونویسی و رهایش FGF-21 شود (۵۵، ۵۶). فیشر<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۴) مطالعه‌ای بر روی حذف FGF-21 موش‌ها انجام دادند که نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد در غیاب FGF-21، تجمع اسیدهای چرب غیرفعال شده موجب سمیت لیبیدی و افزایش استئاتوز می‌شود (۵۷). فلچر<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان دادند که ۱۰ هفته تمرین ورزشی روزانه می‌تواند مقادیر FGF-21 کبدی را تعدیل کند که این تغییرات مرتبط با مداخلات فوق می‌تواند توضیحی در جهت مزایای حاصل از تمرینات ورزشی در اختلالات کبدی باشد (۵۸).

اما بحث پژوهش حاضر با بررسی آثار برجسته فعالیت ورزشی هوازی بر Fet-a و FGF-21 خاتمه نمی‌یابد. به طور خلاصه، در مطالعه حاضر یافته‌های ما نشان داد تمرین به تنهایی، هر دو مکمل به تنهایی و یا همراه با تمرین هوازی به طور معنی‌داری منجر به کاهش Fet-A در گروه آلوده شده با BPA می‌شود. با وجود این، همین مداخلات در گروه‌های غیرآلوده منجر به تغییر معنی‌دار این هپتوکاین نشد. همچنین، مقادیر FGF-21 در اثر مداخلات تمرین ورزشی و ترکیبی از تمرین ورزشی با مکمل روی در گروه‌های آلوده شده با BPA و سالم - هر دو - افزایش می‌یابد. با وجود این، اشکال نمکی روی و یا نانوذره روی به تنهایی در گروه آلوده شده با BPA تاثیر معنی‌داری بر مقادیر FGF-21 ندارد، اما مکمل نانوذره روی به تنهایی منجر به تغییر جزئی ولی معنی‌دار مقادیر FGF-21 نسبت به گروه کنترل سالم می‌شود. با توجه به ایجاد اختلال در متابولیسم کبد به دنبال دریافت BPA (با تغییر مقادیر برخی هپتوکاین‌ها؛ در اینجا FGF-21 و Fet-a)، می‌توان مکمل‌یاری با روی و تمرینات ورزشی هوازی با شدت متوسط را در تقلیل این آثار نامطلوب موثر دانست.

### نتیجه‌گیری

از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان می‌توان به عدم کنترل رژیم غذایی موش‌ها اشاره کرد. هرچند نوع غذایی که می‌خورند یکسان بود،

همبستگی قوی و معنی‌داری بین مقادیر Fet-a و NAFLD وجود دارد (۱۱، ۲۲) و علاوه بر این، بین مقادیر Fet-A در گردش و خطر ابتلا به T2DM ارتباط مستقیمی است. در پژوهش حاضر، هشت هفته تمرین هوازی، مصرف مکمل نمکی روی و اشکال نانوذره اکسید روی، تمرین هوازی همراه با مکمل نمکی روی و اشکال نانو اکسید روی مقادیر Fet-A موش‌های صحرایی نر ویستار آلوده شده با BPA را کاهش داده است، که می‌تواند نتیجه‌ای از آثار سودمند تمرین هوازی و مصرف مکمل روی باشد. در این راستا، همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، جنکینز<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۱) نیز با ارزیابی غلظت Fet-A پلاسما می‌مردان جوان، سالمندان دارای فعالیت‌های بدنی و یا کم‌تحرک گزارش کردند که بین VO<sub>2max</sub> و مقادیر Fet-A پلاسما می‌رابطه معکوس و معنی‌داری وجود دارد و نیز نشان دادند که غلظت Fet-A در افراد کم‌تحرک، بیشتر از افرادی است که فعالیت زیادی دارند. همچنین، کاهش اختلالات متابولیکی و بهبود مقاومت انسولینی ناشی از فعالیت بدنی را تا حدودی به کاهش Fet-A نسبت دادند (۵۲). با این حال، نقش دقیق فعالیت‌های ورزشی در تنظیم مقادیر Fet-a هنوز به طور کامل درک نشده است. اما یک ارتباط بیولوژیکی احتمالی بین انجام تمرین ورزشی و مقادیر Fet-A وجود دارد. به طوری که آمادگی قلبی-تنفسی و قدرت عضلانی ارتباط معکوسی با تجمع چربی در کبد و چاقی شکمی دارد. برخی از تغییرات بیولوژیکی، تاثیرات محافظتی حاصل از تمرینات ورزشی را تقویت می‌کنند که ممکن است با تغییرات مقادیر Fet-A در گردش و اسیدهای چرب آزاد توجیه شود (۵۳). Fet-a به عنوان یک تنظیم‌کننده برای اسیدهای چرب اشباع عمل می‌کند و با فعال‌سازی گیرنده TLR-4 موجب القای پیام‌رسانی التهابی، مقاومت انسولینی و دیگر اختلالات متابولیکی می‌شود (۱۶). پس بر این اساس، در شرایط آسیب‌زا مانند مواجهه با BPA می‌توان تنظیم‌منفی مقادیر Fet-a حاصل از مداخلات تمرین ورزشی و مکمل‌یاری را در کبد مثبت قلمداد کرد که می‌تواند آثار محافظتی در پی داشته باشد.

همچنین در مطالعه حاضر مقادیر FGF-21 در گروه‌های تمرین هوازی با هر دو مکمل‌یاری (نانوذره و ذره نمکی اکسید روی) در موش‌های صحرایی نر ویستار آلوده شده با BPA به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همان‌طور که قبلاً نیز بیان شد، FGF-21 به عنوان یک هدف درمانی بالقوه به ویژه برای T2DM و NAFLD به شمار می‌رود (۲۶، ۲۷)، تولید و رهایش این هپتوکاین در اثر فعالیت ورزشی نیز می‌تواند یکی از پیوندهای مولکولی باشد که تاثیرات مفید فعالیت ورزشی را به سطح کل بدن میانجی‌گری می‌کند. این تاثیر با مداخله فعالیت ورزشی در موش‌های با نقص FGF-21 حمایت شده است که به بهبود تحمل گلوکز و کاهش

<sup>۱</sup> Fisher

<sup>۲</sup> Fletcher

<sup>۱</sup> Jenkins

<sup>۲</sup> Alisi



عوارض ناشی از BPA مورد بررسی قرار گیرد. به علاوه، طول مدت مداخلات تمرین ورزشی و مکمل یاری (به صورت حاد و مزمن) نیز در این-باره مورد توجه واقع شود.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان نامه رشته فیزیولوژی ورزشی می باشد. پژوهش حاضر، توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه با کد (IR.UMSU.REC.1397.070) به تصویب رسید. از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

### تضاد منافع

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

9. Serdar B, LeBlanc WG, Norris JM, Dickinson LM. Potential effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and selected organochlorine pesticides (OCPs) on immune cells and blood biochemistry measures: a cross-sectional assessment of the NHANES 2003-2004 data. *Environmental health : a global access science source*. 2014;13:114.
10. Hassan ZK, Elobeid MA, Virk P, Omer SA, ElAmin M, Daghestani MH, et al. Bisphenol A induces hepatotoxicity through oxidative stress in rat model. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2012;2012:194829.
11. Stefan N, Haring HU. The role of hepatokines in metabolism. *Nature reviews Endocrinology*. 2013;9(3):144-52.
12. Mori K, Emoto M, Inaba M. Fetuin-A and the cardiovascular system. *Advances in clinical chemistry*. 2012;56:175-95.
13. Dogru T, Genc H, Tapan S, Aslan F, Ercin CN, Ors F, et al. Plasma fetuin-A is associated with endothelial dysfunction and subclinical atherosclerosis in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical endocrinology*. 2013;78(5):712-7.
14. Roos M, Oikonomou D, von Eynatten M, Luppia PB, Heemann U, Lutz J, et al. Associations of fetuin-A levels with vascular disease in type 2 diabetes patients with early diabetic nephropathy. *Cardiovascular diabetology*. 2010;9:48.
15. Mathews ST, Singh GP, Ranalletta M, Cintron VJ, Qiang X, Goustin AS, et al. Improved insulin sensitivity and resistance to weight gain in mice null for the Ahsg gene. *Diabetes*. 2002;51(8):2450-8.
16. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J, Ehsani far M. The Effect of Three Different Exercise training on Blood Lipid Profile, Fetuin-A, and Fibroblast Growth Factor 21 (FGF-21) in Visceral Adipose

این حال مقدار غذایی که هر موش مصرف می کرد اندازه گیری نشد. کنترل نکردن فعالیت شبانه موش ها، و به ویژه موش های گروه بدون تمرین ورزشی از دیگر محدودیت های پژوهش حاضر بود. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد تزریق BPA باعث افزایش فعالیت آنزیم های ALT و AST، تغییرات نامطلوب در غلظت هیپتوکاین-های منتخب (افزایش Fet-A و کاهش FGF-21) می شود. اما با وجود این، چنانچه در پژوهش های پیشین بر مفید بودن شرکت در تمرینات ورزشی هوازی با شدت متوسط و مصرف مکمل یاری روی تاکید شده بود (۴۴)، نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل های نانوذره و دره نمکی اکسید روی می تواند به عنوان یکی از عوامل محافظتی در برابر عواملی مانند بیس فنول ها باشد، به طوری که ممکن است آثار منفی القاء شده با BPA را با تعدیل مقادیر برخی پروتئین-ها و شاخص ها تغییر دهد و بهبودی وضعیت هپاتوسیت ها را به دنبال داشته باشد. در ضمن، اثر بر هم کنش تمرین هوازی و اشکال روی (شکل نمکی و نانوذره)، بیشتر از دو روش دیگر توانست این اختلال را بهبود دهد. با این حال، پیشنهاد می شود که آثار دوزهای مختلف مکمل روی بر

### Reference

1. Meng Z, Tian S, Yan J, Jia M, Yan S, Li R, et al. Effects of perinatal exposure to BPA, BPF and BPAF on liver function in male mouse offspring involving in oxidative damage and metabolic disorder. *Environmental Pollution*. 2019.
2. Rochester JR, Bolden AL. Bisphenol S and F: a systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. *Environmental health perspectives*. 2015;123(7):643-50.
3. Wei J, Lin Y, Li Y, Ying C, Chen J, Song L, et al. Perinatal exposure to bisphenol A at reference dose predisposes offspring to metabolic syndrome in adult rats on a high-fat diet. *Endocrinology*. 2011;152(8):3049-61.
4. Hwang S, Lim JE, Choi Y, Jee SH. Bisphenol A exposure and type 2 diabetes mellitus risk: a meta-analysis. *BMC endocrine disorders*. 2018;18(1):81.
5. Alonso-Magdalena P, Morimoto S, Ripoll C, Fuentes E, Nadal A. The estrogenic effect of bisphenol A disrupts pancreatic beta-cell function in vivo and induces insulin resistance. *Environ Health Perspect*. 2006;114(1):106-12.
6. Chitra KC, Rao KR, Mathur PP. Effect of bisphenol A and co-administration of bisphenol A and vitamin C on epididymis of adult rats: a histological and biochemical study. *Asian journal of andrology*. 2003;5(3):203-8.
7. Andersen HM. Effects of plastic additives on precision cut liver slices (PCLS) from Atlantic cod (*Gadus morhua*): Norwegian University of Life Sciences, Ås; 2019.
8. Harley KG, Aguilar Schall R, Chevrier J, Tyler K, Aguirre H, Bradman A, et al. Prenatal and postnatal bisphenol A exposure and body mass index in childhood in the CHAMACOS cohort. *Environmental health perspectives*. 2013;121(4):514-20.



FGF-21 and myostatin and improves insulin resistance in elderly men with and without type 2 diabetes mellitus: A randomised controlled clinical trial. *European journal of sport science*. 2021;21(4):636-45.

31. Tofighi A, Alizadeh R, Tolouei Azar J. The effect of eight weeks high intensity interval raining (HIIT) on serum amounts of FGF21 and irisin in sedentary obese women. *The Journal of Urmia University of Medical Sciences*. 2017;28(7):453-66. [In Persian]

32. Kim KH, Kim SH, Min YK, Yang HM, Lee JB, Lee MS. Acute exercise induces FGF21 expression in mice and in healthy humans. *PloS one*. 2013;8(5):e63517.

33. Khalafi M, Habibi Maleki A, Sakhaei MH, Rosenkranz SK, Pourvaghari MJ, Ehsanifar M, et al. The effects of exercise training on body composition in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14:1183765.

34. Sunderman FW, Jr. The influence of zinc on apoptosis. *Annals of clinical and laboratory science*. 1995;25(2):134-42.

35. Kumar SD, Vijaya M, Samy RP, Dheen ST, Ren M, Watt F, et al. Zinc supplementation prevents cardiomyocyte apoptosis and congenital heart defects in embryos of diabetic mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 2012;53(8):1595-606.

36. Brandão-Neto J, Silva CAB, Rezende AA, Almeida MG, Sales VSP, Marchini JÚS. Zinc pharmacokinetics in insulin-dependent diabetes mellitus patients after oral zinc tolerance test. *Nutrition Research*. 2003;23(2):141-50.

37. Hu HL, Chen RD, Ma LH. Protective effect of zinc on liver injury induced by D-galactosamine in rats. *Biological trace element research*. 1992;34(1):27-33.

38. Handy RD, von der Kammer F, Lead JR, Hasselov M, Owen R, Crane M. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology (London, England)*. 2008;17(4):287-314.

39. Council NR. *Nutrient requirements of poultry*: 1994: National Academies Press; 1994.

40. Nazarizadeh A, Asri-Rezaei S. Comparative Study of Antidiabetic Activity and Oxidative Stress Induced by Zinc Oxide Nanoparticles and Zinc Sulfate in Diabetic Rats. *AAPS PharmSciTech*. 2015;DOI: 10.1208/s12249-015-0405-y.

41. Asri-Rezaei S, Tamaddonfard E, Ghasemsoltani-Momtaz B, Erfanparast A, Gholamalipour S. Effects of crocin and zinc chloride on blood levels of zinc and metabolic and oxidative parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Avicenna journal of phytomedicine*. 2015;5(5):403.

42. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J. The effect of 12 weeks of high intensity interval training and high intensity continuous training on vegf, pedf and pai-1 levels of visceral and subcutaneous adipose tissues in rats fed with high fat diet. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2020;12(1):101-20. [In Persian]

Tissue of Obese Rats. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2020;19(1):109-22. [In Persian]

17. Heinrichsdorff J, Olefsky JM. Fetuin-A: the missing link in lipid-induced inflammation. *Nature medicine*. 2012;18(8):1182-3.

18. Ramírez-Vélez R, García-Hermoso A, Hackney AC, Izquierdo M. Effects of exercise training on Fetuin-a in obese, type 2 diabetes and cardiovascular disease in adults and elderly: a systematic review and Meta-analysis. *Lipids Health Dis*. 2019;18(1):23.

19. Malin SK, Mulya A, Fealy CE, Haus JM, Pagadala MR, Scelsi AR, et al. Fetuin-A is linked to improved glucose tolerance after short-term exercise training in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2013;115(7):988-94.

20. Malin SK, del Rincon JP, Huang H, Kirwan JP. Exercise-induced lowering of fetuin-A may increase hepatic insulin sensitivity. *Medicine and science in sports and exercise*. 2014;46(11):2085-90.

21. Dushay J, Chui PC, Gopalakrishnan GS, Varela-Rey M, Crawley M, Fisher FM, et al. Increased fibroblast growth factor 21 in obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2010;139(2):456-63.

22. Ehsani far M, Habibi Maleki A, Tofighi A, Khadem Ansari M. *Studies in Medical Sciences*. 2019;30(6):487-501. [In Persian]

23. Lin X, Liu YB, Hu H. Metabolic role of fibroblast growth factor 21 in liver, adipose and nervous system tissues. *Biomed Rep*. 2017;6(5):495-502.

24. Patel R, Bookout AL, Magomedova L, Owen BM, Consiglio GP, Shimizu M, et al. Glucocorticoids regulate the metabolic hormone FGF21 in a feed-forward loop. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2015;29(2):213-23.

25. Khalafi M, Alamdari KA, Symonds ME, Nobari H, Carlos-Vivas J. Impact of acute exercise on immediate and following early post-exercise FGF-21 concentration in adults: systematic review and meta-analysis. *Hormones*. 2021;20(1):23-33.

26. Camporez JP, Asrih M, Zhang D, Kahn M, Samuel VT, Jurczak MJ, et al. Hepatic insulin resistance and increased hepatic glucose production in mice lacking Fgf21. *The Journal of endocrinology*. 2015;226(3):207-17.

27. Falamarzi K, Malekpour M, Tafti MF, Azarpira N, Behboodi M, Zarei M. The role of FGF21 and its analogs on liver associated diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:967375.

28. Kharitononkov A, Adams AC. Inventing new medicines: The FGF21 story. *Molecular metabolism*. 2014;3(3):221-9.

29. Loyd C, Magrisso IJ, Haas M, Balusu S, Krishna R, Itoh N, et al. Fibroblast growth factor 21 is required for beneficial effects of exercise during chronic high-fat feeding. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2016;121(3):687-98.

30. Shabkhiz F, Khalafi M, Rosenkranz S, Karimi P, Moghadami K. Resistance training attenuates circulating





in obese youth: associations with liver fat content and markers of liver damage. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013;98(7):2993-3000.

57. Fisher FM, Chui PC, Nasser IA, Popov Y, Cunniff JC, Lundasen T, et al. Fibroblast growth factor 21 limits lipotoxicity by promoting hepatic fatty acid activation in mice on methionine and choline-deficient diets. *Gastroenterology*. 2014;147(5):1073-83.e6.

58. Fletcher JA, Meers GM, Laughlin MH, Ibdah JA, Thyfault JP, Rector RS. Modulating fibroblast growth factor 21 in hyperphagic OLETF rats with daily exercise and caloric restriction. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2012;37(6):1054-62.

43. Koch LG, Meredith TA, Fraker TD, Metting PJ, Britton SL. Heritability of treadmill running endurance in rats. *The American journal of physiology*. 1998;275(5):R1455-60.

44. Salmasi M, Tofighi A, Asri S, Tolouei Azar J. Response of Liver Tissue Oxidative Indices to Bisphenol-A intoxicated Rats to Eight Weeks of Aerobic Training with and without Zinc Supplementation (Zinc Nanoparticles and Nanoparticles). *Metabolism and Exercise*. 2022;12(2). [In Persian]

45. Azar JT, Maleki AH, Moshari S, Razi M. The effect of different types of exercise training on diet-induced obesity in rats, cross-talk between cell cycle proteins and apoptosis in testis. *Gene*. 2020;754:144850.

46. Kim D, Yoo ER, Li AA, Cholankeril G, Tighe SP, Kim W, et al. Elevated Urinary Bisphenol A Levels are Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease among Adults in the United States. *Liver International*. 2019.

47. Mahdavinia M, Alizadeh S, Dehghani MA, Alipour M, Shahmohammadi HA, Rafiei Asl S. Effects of quercetin on bisphenol A-induced mitochondrial toxicity in rat liver. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2019;22(5):499-505. [In Persian]

48. Mourad IM, Khadrawy YA. The sensitivity of liver, kidney and testis of rats to oxidative stress induced by different doses of bisphenol A. *Life*. 2012;50:19.

49. Mathuria N, Verma RJ. Ameliorative effect of curcumin on aflatoxin-induced toxicity in serum of mice. *Acta poloniae pharmaceutica*. 2008;65(3):339-43.

50. Ehsani FM, Habibi MA, Tofighi A, Khadem AMH, Tolouei AJ. Evaluation Of Hepatokine And Liver Enzymes Changes In Obese Rats With The High-Fat Diet To Different Training Modalities: An Experimental Study. 2019. [In Persian]

51. Fortson WC, Tedesco FJ, Starnes EC, Shaw CT. Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *Journal of clinical gastroenterology*. 1985;7(6):502-5.

52. Jenkins NT, McKenzie JA, Hagberg JM, Witkowski S. Plasma fetuin-A concentrations in young and older high- and low-active men. *Metabolism: clinical and experimental*. 2011;60(2):265-71.

53. Lee S, Norheim F, Gulseth HL, Langlete TM, Kolnes KJ, Tangen DS, et al. Interaction between plasma fetuin-A and free fatty acids predicts changes in insulin sensitivity in response to long-term exercise. *Physiological reports*. 2017;5(5).

54. Alisi A, Ceccarelli S, Panera N, Prono F, Petrini S, De Stefanis C, et al. Association between serum atypical fibroblast growth factors 21 and 19 and pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *PloS one*. 2013;8(6):e67160.

55. Tanaka N, Takahashi S, Zhang Y, Krausz KW, Smith PB, Patterson AD, et al. Role of fibroblast growth factor 21 in the early stage of NASH induced by methionine- and choline-deficient diet. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2015;1852(7):1242-52.

56. Giannini C, Feldstein AE, Santoro N, Kim G, Kursawe R, Pierpont B, et al. Circulating levels of FGF-21

