

## **Effect of high intensity interval training and L-Arginine supplementation on serum levels of fibroblast growth factor 21 and atrial natriuretic peptide in overweight and obese young men**

**Sadegh Cheragh Birjandi<sup>1</sup>, Marziyeh Saghebjoo<sup>2</sup>, Mehdi Hedayati<sup>3</sup>**

**Background and Aim:** Activation of brown adipose tissue can be a new approach in reducing obesity and related complications. The aim of the current study was to investigate the effect of high intensity interval training (HIIT) supplemented with L-Arginine (L-Arg) on serum levels of fibroblast growth factor 21 (FGF21) and atrial natriuretic peptide (ANP) in overweight and obese men.

**Materials and Methods:** In this semi experimental study, 40 overweight and obese men (with mean age  $24.58 \pm 6.52$  years and mean body mass index  $29.43 \pm 3.66$  kg/m<sup>2</sup>) were selected through purposive sampling method and were randomly divided into 4 equal groups of HIIT, supplementation with L-Arg, HIIT+L-Arg, and placebo. The training program consisted of 6 weeks of HIIT training (3 days per week). L-Arg supplementation (6 gr/day) was taken orally. Blood sampling was done 24 hours before and 48 hours after intervention and the blood serum was used for the measurement of FGF21 and ANP levels. The obtained data was analyzed using ANOVA, ANCOVA and post-hoc Bonferroni tests at a significant level of  $P < 0.05$ .

**Results:** It was found that the serum level of ANP significantly increased in L-Arg and HIIT+L-Arg groups ( $P$  values were 0.02 and 0.01, respectively), but HIIT did not cause a significant change in the level of ANP. The serum level of FGF21 had no significant changes after HIIT and use of L-Arg.

**Conclusion:** It seems that L-Arg supplementation and HIIT together with L-Arg supplementation with increased level of ANP can be considered as an effective step to activate brown adipose tissue.

**Key Words:** High intensity interval training, L-Arginine, Obese men, Fibroblast growth factor 21, Atrial natriuretic peptide.

*Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2016; 23 (3): 211-221.*

*Received: May 23, 2016*

*Accepted: October 8, 2016*

---

<sup>1</sup> Department of Sport Science, Faculty of Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran.

<sup>2</sup> Corresponding Author; Department of Sport Science, Faculty of Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran.

Email: m\_saghebjoo@birjand.ac.ir Tel: 05632202042 Fax: 05632202032

<sup>3</sup> Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

# تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل ال-آرژنین بر سطوح سرمی فاکتور رشدی فیبروبلاست ۲۱ و پتید دهیزی دفع کننده سدیم مردان جوان دارای اضافه وزن و چاق

صادق چراغ بیرجندی<sup>۱</sup>, مرضیه ثاقب‌جو<sup>۲</sup>, مهدی هدایتی<sup>۳</sup>

## چکیده

زمینه و هدف: فعال کردن بافت چربی قهوه‌ای می‌تواند رویکرد جدیدی در کاهش مشکلات مربوط به چاقی فراهم نماید. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف ال-آرژنین (L-Arg) بر سطوح سرمی فاکتور رشدی فیبروبلاست ۲۱ (FGF21) و پتید دهیزی دفع کننده سدیم (ANP) مردان دارای اضافه وزن و چاق بود.

روش تحقیق: در این مطالعه نیمه تجربی، ۴۰ مرد دارای اضافه وزن و چاق (میانگین سن ۵۲/۵۸±۶ سال و نمایه توده بدن ۲۹/۴۳±۳/۶۶ کیلوگرم بر متر مربع) به طور هدفمند انتخاب و به صورت تصادفی در ۴ گروه HIIT+ L-Arg, L-Arg, HIIT و دارونما قرار گرفتند. برنامه تمرین، ۳ جلسه در هفته به مدت ۶ هفته HIIT بود. L-Arg، روزانه ۶ گرم به صورت خوراکی مصرف شد. نمونه‌گیری خون ۲۴ ساعت قبل و ۴۸ ساعت پس از مداخله، انجام و سرم حاصل برای اندازه‌گیری سطوح FGF21 و ANP استفاده شد. داده‌ها به وسیله آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه، آنالیز کواریانس و تحقیقی بونفرونی تحلیل شدند. سطح معنی‌دایی  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد مصرف L-Arg و HIIT+ باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی ANP شد (سطح معنی‌داری بهتری:  $0.02$  و  $0.01$ ؛ اما انجام HIIT تغییر معنی‌داری در سطح ANP ایجاد نکرد. سطح سرمی FGF21 نیز متعاقب HIIT و مصرف L-Arg تغییر معنی‌داری نداشت).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد مصرف L-Arg و هماهنودن HIIT با مصرف L-Arg، به واسطه افزایش سطح ANP می‌تواند به عنوان گامی مؤثر در فعال کردن بافت چربی قهوه‌ای مورد مطالعه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، ال-آرژنین، مردان چاق، فاکتور رشدی فیبروبلاست ۲۱، پتید دهیزی دفع کننده سدیم

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ۱۳۹۵؛ ۲۳(۳): ۲۱۱-۲۲۱.

پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۱۷

دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۰۳

<sup>۱</sup> گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

<sup>۲</sup> نویسنده مسؤول؛ گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

آدرس: بیرجند- انتهای بلوار شهید آوینی- پردیس دانشگاه بیرجند- دانشکده علوم ورزشی- کدبستی ۹۷۱۷۴۳۴۷۶۵

تلفن: ۰۵۶۳۲۰۲۰۴۲- نامبر: ۰۵۶۳۲۰۲۰۳۲- پست الکترونیکی: m\_saghebjoo@birjand.ac.ir

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات سلوی و مولکولی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

## مقدمه

پیتید دهلیزی دفع کننده سدیم<sup>۶</sup> (ANP)، یک بازکننده عروقی قوی و یک هورمون پیتیدی است. مشخص شده است که گیرنده‌های ANP در بافت چربی بیان می‌شوند. براساس شواهد، ANP نه تنها لیپولیز را تحریک می‌کند؛ بلکه باعث قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید (WAT)<sup>۷</sup> می‌گردد (۶). افزایش ANP ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند در افزایش میزان اکسیداسیون چربی‌ها نقش داشته باشد که این افزایش به شدت فعالیت ورزشی وابسته می‌باشد. Moro و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که ۱۶ هفته تمرین استقامتی باعث افزایش سطح ANP پلاسمایی در زنان مبتلا به سندروم تخمداهن پلی کیستیک گردید (۷). در تحقیقی دیگر نشان داده شد که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، تغییری در سطوح استراحتی هورمون‌های قلبی ANP و BNP ایجاد نکرد (۸).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مصرف مکمل غذایی ال-آرژنین<sup>۸</sup> (L-Arg) می‌تواند باعث افزایش بیوژنز میتوکندریایی و توسعه بافت چربی قهوه‌ای (۹)، کاهش چربی بدن (۱۰) و افزایش بیان ژن‌های کلیدی مسئول اکسیداسیون اسیدهای چرب و گلوکز گردد؛ همچنین مصرف آن می‌تواند باعث کاهش فشار خون در بیماران مبتلا به پرفشاری خون گردد. این اعمال متابولیکی آرژنین، با افزایش نیتریک‌اکساید<sup>۹</sup> نیتریک‌اکساید<sup>۹</sup> (NO) و به دنبال آن فرآیندهایی که باعث افزایش PGC1α می‌شود، مرتبط می‌باشد (۱۱).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که علاوه بر تمرینات طولانی‌مدت هوایی که باعث بهبود عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی و کاهش وزن می‌شوند، تمرینات تناوبی شدید، نیز که مدت‌زمان کمتری برای اجرای آنها مورد نیاز است، می‌توانند در کاهش توده چربی بدن، مؤثر باشند و مورد استفاده قرار گیرند. برای مثال، ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید، باعث کاهش توده چربی و افزایش توده بدون چربی بدن افراد

بافت چربی قهوه‌ای (BAT)<sup>۱</sup>، محل مصرف انرژی و تبدیل آن به گرماست که این فرآیند را از طریق پروتئین جداکننده ۱ (UCP1)<sup>۲</sup> انجام می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که فعالکننده‌های مختلفی مانند کوفاکتور یک آلفا، فعالکننده گیرنده تکثیری گاماپراکسیزومی (PGC1α)<sup>۳</sup>، بر فرآیند تمایز پری‌آدیپوسیت‌ها به سلول‌های سفید و قهوه‌ای تأثیر می‌گذارند (۱).

فاکتور رشدی فیبروبلاست ۲۱ (FGF21)<sup>۴</sup>، یک هورمون درگیر در فرآیندهای متابولیکی است که عمدتاً در کبد ساخته می‌شود و می‌تواند بیان PGC1α را تحریک کند که این عمل نشان‌دهنده نقش کلیدی FGF21 در میانجی‌گری گلوکونئوژن و اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد و بیوژنز میتوکندریایی در بافت چربی سفید می‌باشد (۲). تأثیر فعالیت‌های مختلف ورزشی بر FGF21، ناهمسو و نیازمند مطالعه بیشتر می‌باشد. در مطالعه‌ای سطح پلاسمایی FGF21 در ۹ فرد جوان، قبل و بعد از سه هفته تمرین اینترووال سرعتی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این تمرینات باعث کاهش سطح پلاسمایی FGF21 گردید (۳). ناهمسو با این نتایج، در مطالعه‌ای نشان داده شد که دو هفته فعالیت هوایی شدید باعث افزایش سطح سرمی FGF21 گردید (۴). در مطالعه دیگری نشان داده شد که ۸ هفته تمرین استقامتی (۳ جلسه در هفته) بر سطح سرمی FGF21 تأثیری نداشت (۵). با توجه به عدم تشابه یافته‌ها بهدلیل استفاده از روش‌های تمرینی مختلف و همچنین استفاده از تمرینات تناوبی شدید<sup>۵</sup> (HIIT) به عنوان تمریناتی مؤثر در پیشگیری و درمان چاقی، لزوم بررسی تأثیر این نوع تمرینات بر سطح FGF21 احساس می‌گردد.

<sup>1</sup> Brown adipose tissue

<sup>2</sup> Uncoupling protein 1

<sup>3</sup> Peroxisome proliferator-activated receptorγ coactivator-1 α

<sup>4</sup> Fibroblast Growth Factor 21

<sup>5</sup> High intensity interval training

<sup>6</sup> Atrial Natriuretic Peptide

<sup>7</sup> White adipose tissue

<sup>8</sup> L-Arginine

<sup>9</sup> Nitric oxide

یعنی سطح سرمی FGF21 تعیین شد. بر اساس توان ۸۰ درصد، خطای نوع اول ۵ درصد، اختلاف ۳ پیکوگرم در FGF21 میلی لیتر و انحراف استاندارد ۱/۳ (انحراف استاندارد FGF21 در پایلوت توسط نویسنده‌گان این مقاله تعیین شد)، تعداد نمونه در هر گروه ۹ نفر و در مجموع ۳۶ نفر محاسبه شد. با احتساب ۱۰ درصد افزایش، تعداد کل نمونه‌ها ۴۰ نفر و در هر گروه ۱۰ نفر در نظر گرفته شد. البته در مطالعات مشابه نیز حجم نمونه در هر گروه، همین حدود بوده است.

از همه افراد مورد مطالعه، رضایت‌نامه آگاهانه کتبی شرکت در پژوهش اخذ گردید. ملاک انتخاب افراد، نداشتن سابقه بیماری شناخته شده قلبی-عروقی، کبدی، کلیوی، ریوی و دیابت، کم کاری غده تیروئید و ضایعه جسمی و ارتوپدی جدی، عدم مصرف مکمل‌های غذایی و دارویی و همچنین عدم اجرای فعالیت ورزشی منظم در یک سال منتهی به پژوهش بود که این اطلاعات بهوسیله پرسشنامه به‌دست آمد. عدم تمايل به ادامه همکاری در طول مطالعه و یا بروز هرگونه آسیب در حین اجرای تمرینات نیز از معیارهای خروج از مطالعه در نظر گرفته شد. خوشبختانه مورد خروج از مطالعه در این پژوهش وجود نداشت.

پروتکل این پژوهش در سایت کارآزمایی بالینی ایران کد IRCT2016041327365N1 ثبت گردیده است. قبل از شروع برنامه تمرین، ابتداء اندازه‌گیری قد بدون کفش، توسط قدسنج Seca (ساخت کشور آلمان) با حساسیت یک سانتی‌متر انجام شد. وزن و نمایه توده بدن و درصد چربی (به روش مقاومت الکتریکی زیستی توسط دستگاه سنجش ترکیب بدن<sup>۱</sup> Boca ساخت کشور کره جنوبی) نیز در ابتداء و انتهای پژوهش اندازه‌گیری شد.

#### تمرین تناوبی شدید

افراد مورد مطالعه در این گروه‌ها، در یک مسافت ۲۰ متری که توسط ۳ مخروط مشخص شده بود، به مدت ۳۰ ثانیه به صورت رفت و برگشتی با حداکثر سرعت دویده و

مورد مطالعه گردید. همچنین ۱۲ هفته تمرین هوازی و تناوبی شدید، اثرات مشابهی را بر شاخص‌های سلامتی نوجوانان چاق نشان داد (۱۲، ۱۳).

در سال‌های اخیر، مطالعات مختلفی روی بافت چربی قهقهه‌ای به عنوان بافتی مؤثر در تنظیم مصرف انرژی و پیشگیری و درمان چاقی انجام شده است. هورمون‌های FGF21 و ANP به عنوان فعال‌کننده‌های بافت چربی قهقهه‌ای مذکور می‌باشند. با توجه به جستجوی انجام شده در میان مقالات چاپ شده در پایگاه‌های علمی PubMed، Scopus، Google scholar، Medline تا جولای ۲۰۱۶ با استفاده از واژه‌های کلیدی «تمرین تناوبی شدید»، «مکمل ال-آرژنین»، «FGF21» و «ANP»، تاکنون در مطالعه‌ای تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف ال-آرژنین به‌طور همزمان بر فعال شدن بافت چربی قهقهه‌ای بررسی نشده است. همچنین احتمال دارد تمرین تناوبی شدید و مصرف ال-آرژنین بتواند بر سطوح ANP و FGF21 تأثیر داشته باشد و در نتیجه باعث فعال شدن بافت چربی قهقهه‌ای گردد؛ از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل ال-آرژنین بر سطوح سرمی ANP و FGF21 در مردان جوان دارای اضافه وزن و چاق انجام گرفت.

#### روش تحقیق

در این مطالعه نیمه‌تجربی، تعداد ۴۰ نفر (دامنه سنی ۲۰ تا ۲۸ سال و نمایه توده بدن بیشتر از ۲۵ کیلوگرم بر متر مربع) از دانشجویان مرد جوان دارای اضافه وزن و چاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بیرجند، از طریق فراخوان به‌طور هدفمند انتخاب شدند. افراد انتخاب شده به صورت تصادفی ساده در ۴ گروه مساوی (۱۰ نفر در هر گروه) شامل: تمرین تناوبی شدید، مصرف مکمل ال-آرژنین، تمرین تناوبی شدید+ مکمل ال-آرژنین و دارونما قرار گرفتند. برای تعیین حجم نمونه در هر گروه، از نرم‌افزار Medcalc (ویرایش ۱، ۸، ۱۴) استفاده شد. حجم نمونه بر اساس متغیر اصلی و مهم تحقیق

<sup>۱</sup> Body composition analyzer

صرف کردند (۱۵)؛ به صورتی که نیم ساعت قبل از صرف صبحانه و یک ساعت قبل از وعده غذایی ناھار و شام، ۲ کپسول یک گرمی به همراه ۴۰۰ میلی لیتر آب مصرف نمودند. با توجه به اینکه آل-آرژنین پس از مصرف شدن، در بدن تبدیل به NO می‌شود و اثرات فیزیولوژیک خود را اعمال می‌کند (۱۶)، ۲۴ ساعت قبل از شروع دوره پژوهش، لیست مواد غذایی که حاوی نیترات و نیتریت هستند در اختیار افراد قرار گرفت و به آنها توصیه گردید در طول دوره پژوهش تا حد امکان در رژیم غذایی خود از این مواد استفاده نکنند.

از گروه دارونما (نشاسته ذرت در قالب کپسول خوارکی) خواسته شد تا در طول مدت پژوهش از انجام فعالیت‌های بدنی منظم پرهیز و از رژیم غذایی معمولی خود پیروی نمایند. برای از بین بردن اثرات روانی احتمالی مصرف مکمل، به افرادی که در گروه‌های مصرف مکمل نبودند نیز دارونما داده شد.

رژیم غذایی توسط پرسشنامه بسامد غذایی و میزان فعالیت بدنی نیز توسط پرسشنامه فعالیت بدنی Beck کنترل شد. بر اساس نتایج به دست آمده از پرسشنامه بسامد غذایی، مشخص شد که درصد افراد از رژیم غذایی غربی، ۴۰ درصد از رژیم غذایی سنتی و ۱۵ درصد از رژیم غذایی سالم در طی یک سال گذشته استفاده کرده‌اند. همچنین نتایج به دست آمده از پرسشنامه فعالیت بدنی نشان داد که سطح فعالیت بدنی همه افراد پایین‌تر از مقدار متوسط بود (میانگین نمره آزمون <۳۵). بیست و چهار ساعت قبل از اولین جلسه تمرین و مصرف مکمل آل-آرژنین و ۴۸ ساعت متعاقب این پروتکل، در شرایط ۱۲ ساعت ناشتابی، نمونه‌گیری خون به میزان ۱۰ میلی لیتر از ورید بازویی انجام شد. نمونه‌های خونی در لوله‌های آزمایشی بدون ماده خدّ انعقادی ریخته شد. به منظور کاهش زمان ماندن نمونه در شرایط آزمایشگاهی، طی ۵ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط و تشکیل لخته، بلا فاصله نمونه‌ها سانتریفیوژ شد (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه) و محلول سرم از لخته

سپس ۳۰ ثانیه راه می‌رفتند. در ابتدای برنامه تمرین، مدت اجرای بدنی اصلی تمرین (به جز زمان گرم کردن و سرد کردن) ۴ دقیقه به طول می‌انجامید که شامل ۲ دقیقه دویدن با حداکثر سرعت و ۲ دقیقه راه رفتن بود. در هر ۲ هفته بعد از شروع برنامه تمرین، یک دویدن ۳۰ ثانیه‌ای و یک راه رفتن ۳۰ ثانیه‌ای به تمرین اضافه می‌شد؛ به طوری که در هفته ششم این میزان به ۶ دویدن ۳۰ ثانیه‌ای و ۶ راه رفتن ۳۰ ثانیه‌ای رسید. در مجموع پروتکل تمرینی، عهقه و هر هفته ۳ جلسه به طول انجامید. جزئیات برنامه تمرین در جدول یک آمده است. ذکر این نکته ضروری است که هر فرد با حداکثر توان خود فعالیت می‌نمود. بدین مضفور ضربان قلب فعالیت هر فرد در محدوده حداکثر ضربان قلب (سن ۲۲۰- بود و شمارش ضربان قلب نیز بلا فاصله بعد از پایان هر تناب و با کنترل نیص گردنی توسط محقق انجام می‌گرفت. قبل از شروع تمرین در هر جلسه، ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه برنامه گرم کردن و در پایان هر جلسه تمرینی نیز به مدت ۵ دقیقه برنامه سرد کردن انجام می‌گرفت. شایان ذکر است که این پروتکل تمرینی، از وله‌های تکراری آزمون شاتل ران بیشینه ۴۰ متر تشکیل شده است که یک آزمون معتبر برای ارزیابی عملکرد بی‌هوایی می‌باشد (۱۴).

جدول ۱- نحوه اجرای برنامه تمرین تنابوی شدید

| مراحل تمرین           | گرم کردن (دقیقه) | سرعت (تکرار) | راهنمایی (دقیقه) | دویدن ۳۰ ثانیه | دویدن ۳۰ ثانیه | سرد کردن |
|-----------------------|------------------|--------------|------------------|----------------|----------------|----------|
| هفتنه‌های اول و دوم   | ۱۰               | ۴            | ۴                | ۴              | ۵              |          |
| هفتنه‌های سوم و چهارم | ۱۰               | ۵            | ۵                | ۵              | ۵              |          |
| هفتنه‌های پنجم و ششم  | ۱۰               | ۶            | ۶                | ۶              | ۵              |          |

### صرف آل-آرژنین

گروه‌های مصرف مکمل، در مدت عهقه اجرای پروتکل، مکمل آل-آرژنین (Puritan's pride)، ساخت کشور آمریکا را به میزان ۶ گرم در روز در قالب کپسول‌های یک گرمی

پژوهش و اطلاعات حاصل از آزمون آنالیز کواریانس در جدول ۳ آورده شده است. بر اساس یافته‌ها، بین سطح سرمی ANP در پس‌آزمون گروه‌ها با کنترل نمودن مقادیر پیش‌آزمون (به عنوان متغیر هم‌پراش) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ( $P=0.001$ ).

یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی بونفرونی (جدول ۴) نشان داد که تمرین تناوبی شدید، تأثیر معنی‌داری در پس‌آزمون سطح سرمی ANP ایجاد نکرد ( $P=0.25$ )؛ اما مقادیر پس‌آزمون سطح سرمی ANP در گروه‌های ال-آرژنین ( $P=0.02$ ) و تمرین تناوبی شدید+ مکمل ال-آرژنین ( $P=0.01$ ) در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین سطح سرمی ANP در گروه مکمل ال-آرژنین در مقایسه با گروه تمرین تناوبی شدید به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P=0.03$ ). بین مقادیر پس‌آزمون سطح سرمی ANP در گروه ال-آرژنین در مقایسه با گروه تمرین تناوبی شدید+ مکمل ال-آرژنین نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P=0.45$ ). همچنین بر اساس یافته‌ها، بین مقادیر پس‌آزمون سطح سرمی FGF21 گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P=0.48$ ).

جدا گردید. سرم حاصل برای اندازه‌گیری سطوح سرمی FGF21 و ANP مورد استفاده قرار گرفت. سطوح سرمی FGF21 و ANP به روش الایزا با استفاده از کیت‌های پژوهشی مخصوص نمونه‌های انسانی (ساخت کمپانی Cusabio چین، تهیه شده از شرکت پادگین طب، تهران، ایران) به ترتیب: با حساسیت  $3/9$  و  $7/8$  پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تعییرات  $8/4$  و  $8/3$  درصد اندازه‌گیری گردید.

با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها (آزمون شاپیرو ویلک) و برقراری فرض برابری واریانس‌ها (آزمون لون)، داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه، کواریانس و تعقیبی بونفرونی تحلیل شدند. همه آزمون‌های آماری توسط نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۹) انجام گردید. سطح معنی‌داری  $P<0.05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

ویژگی‌های فردی افراد مورد مطالعه در ابتدای پژوهش در جدول ۲ آمده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میانگین‌های این متغیرها در پیش‌آزمون گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P>0.05$ ).

مقادیر میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای وابسته

جدول ۲- مقایسه میانگین سن، نمایه توده بدن و درصد چربی بدن در ۴ گروه مورد مطالعه

| گروه‌ها | تمرين تناوبی شدید<br>(تعداد=۱۰) | تمرين تناوبی شدید+مکمل<br>ال-آرژنین (تعداد=۱۰) | دارونما<br>(تعداد=۱۰) | تمرين تناوبی شدید+مکمل<br>ال-آرژنین (انحراف معیار±میانگین) | سن (سال)<br>نمایه توده بدن<br>(کیلوگرم بر متر مربع) |
|---------|---------------------------------|--|-----------------------|--|---|
|         | $23/90\pm1/45$                  | $25/10\pm2/45$                                 | $26/40\pm2/56$        | $24/90\pm0/72$   | $0/07$  |
|         | $79/83\pm1/26$                  | $30/53\pm1/35$                                 | $28/14\pm0/98$        | $29/45\pm1/05$   | $0/58$  |
|         | $30/18\pm1/51$                  | $30/48\pm1/35$                                 | $28/47\pm1/05$        | $28/35\pm0/49$   | $0/55$  |

جدول ۳- مقادیر میانگین و انحراف معیار و نتایج آزمون آنالیز واریانس و کواریانس مربوط به متغیرهای پژوهش

| متغیر                           | گروه                            | (انحراف استاندارد ± میانگین) |           | (پیش آزمون آزمون آنالیز واریانس)   | سطح معنی داری        |
|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------|-----------|------------------------------------|----------------------|
|                                 |                                 | (انحراف استاندارد ± میانگین) | پس آزمون  |                                    |                      |
| ANP<br>(پیکوگرم در میلی لیتر)   | تمرين تناوبی شدید               | ۷/۰۵±۰/۶۸                    | ۷/۸۱±۱/۶۲ | ۱۴/۳۵                              | آزمون آنالیز واریانس |
|                                 | مکمل ال-آرژین                   | ۱۰/۱۹±۱/۸۲                   | ۷/۷۸±۱/۱۳ |                                    | انحراف استاندارد     |
|                                 | تمرين تناوبی شدید+مکمل ال-آرژین | ۱۰/۵۸±۲/۵۴                   | ۷/۴۳±۱/۲۲ |                                    | F                    |
|                                 | دارونما                         | ۷/۶۲±۱/۸۵                    | ۷/۵۰±۱/۱۱ |                                    | مقدار                |
| *۰/۰۰۱                          |                                 | *۰/۰۰۰۱                      | ۰/۷۱      | سطح معنی داری آزمون آنالیز واریانس |                      |
| FGF21<br>(پیکوگرم در میلی لیتر) | تمرين تناوبی شدید               | ۳/۶۴±۰/۹۹                    | ۶/۱۱±۱/۷۹ | ۰/۸۵                               | آزمون آنالیز واریانس |
|                                 | مکمل ال-آرژین                   | ۳/۲۴±۰/۵۰                    | ۸/۰۵±۳/۲۹ |                                    | انحراف استاندارد     |
|                                 | تمرين تناوبی شدید+مکمل ال-آرژین | ۳/۸۳±۰/۶۱                    | ۵/۰۱±۱/۳۴ |                                    | F                    |
|                                 | دارونما                         | ۵/۲۵±۱/۰۵                    | ۶/۲۴±۲/۳۴ |                                    | مقدار                |
| *۰/۴۸                           |                                 | ۰/۶۴                         | *۰/۰۲     | سطح معنی داری آزمون آنالیز واریانس |                      |

\* وجود تفاوت معنی دار بین مقادیر میانگین ها ( $P < 0.05$ )

جدول ۴- مقادیر میانگین و انحراف معیار تعديل شده پس آزمون و نتایج حاصل از آزمون تعقیبی بونفرونی

| متغیر | گروه                            | میانگین تعديل شده |           | انحراف معیار تعديل شده | سطح معنی داری |
|-------|---------------------------------|-------------------|-----------|------------------------|---------------|
|       |                                 | تعديل شده         | تعديل شده |                        |               |
| *۰/۰۲ | تمرين تناوبی شدید               | ۱/۶۵              | ۸/۳۹      | ۰/۲۵                   | ۰/۰۲          |
|       | دارونما                         | ۱/۵۱              | ۷/۹۶      |                        |               |
| *۰/۰۱ | مکمل ال-آرژین                   | ۰/۷۸              | ۱۰/۷۴     | *۰/۰۱                  | *۰/۰۱         |
|       | دارونما                         | ۱/۵۱              | ۷/۹۶      |                        |               |
| *۰/۰۳ | تمرين تناوبی شدید+مکمل ال-آرژین | ۰/۵۷              | ۱۰/۰۳     | ۰/۴۵                   | ۰/۰۳          |
|       | دارونما                         | ۱/۵               | ۷/۹۶      |                        |               |
| *۰/۰۳ | تمرين تناوبی شدید+مکمل ال-آرژین | ۰/۵۷              | ۱۰/۰۳     | *۰/۰۳                  | *۰/۰۳         |
|       | مکمل ال-آرژین                   | ۰/۷۸              | ۱۰/۷۴     |                        |               |
|       | تمرين تناوبی شدید               | ۱/۶۵              | ۸/۳۹      |                        |               |
|       | مکمل ال-آرژین                   | ۰/۷۸              | ۱۰/۷۴     |                        |               |

\* وجود تفاوت معنی دار بین دو گروه مورد مطالعه ( $P < 0.05$ )

در رابطه با تأثیر تمرين تناوبی شدید بر سطوح ANP

تاكنون مطالعه‌ای انجام نشده است. اما در زمینه تأثیر تمرينات استقامتی، مقاومتی و سرعتی بر سطح ANP، پژوهش‌های قبلی نتایج ناهمسوی داشته‌اند. Pan (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای، تأثیر شدت‌های مختلف تمرين استقامتی را بر سطح پلاسمایی ANP در موش‌ها بررسی کرد. نتایج به دست آمده

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ۶ هفته مصرف ال-آرژین و مصرف ال-آرژین همراه با انجام تمرين تناوبی شدید، باعث افزایش معنی دار سطح سرمی ANP در مقایسه با گروه کنترل گردید؛ در حالی که ۶ هفته تمرين تناوبی شدید بر سطح سرمی ANP تأثیر معنی داری نداشت.

## بحث

بر اساس نتیجه مطالعه حاضر، ۶ هفته مصرف ال-آرژنین باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی ANP گردید که ناهمسو با نتایج مطالعه Nagaya و همکاران (۲۰۰۱) می‌باشد. Nagaya و همکاران نشان دادند یک هفته مکمل‌دهی ال-آرژنین (۱/۵ گرم بهازای هر کیلوگرم از وزن بدن در روز) در بیماران با فشار خون بالای ریوی باعث کاهش سطح ANP گردید (۲۲). ناهمسوی نتایج می‌تواند به‌دلیل تفاوت افراد مورد مطالعه باشد که در مطالعه حاضر از افراد سالم استفاده گردید، اما در مطالعه ذکر شده افراد با بیماری پرفشار خونی ریوی شرکت کردند. در بیماران پرفشار خون ریوی، مقاومت عروق ریوی افزایش می‌یابد و افزایش مقاومت عروقی موجب افزایش حجم پایان دیاستولی بطن چپ، کشش بیشتر می‌بیوسیت‌های قلبی و تنظیم افزایشی ترشح پیتیدهای قلبی می‌گردد که مصرف مکمل ال-آرژنین می‌تواند با افزایش NO و کاهش مقاومت عروق، سطوح آنها را کاهش دهد (۲۳). پیتید دهلیزی دفع‌کننده سدیم به‌طور پیوسته از قلب ترشح می‌شود؛ اما میزان آن در پاسخ به محرك‌های مناسب تغییر می‌کند و عوامل مختلفی در کنترل سنتز و ترشح آن نقش دارند. پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که کشش دیواره دهلیزی محرك اصلی برای ترشح هورمون‌های قلبی ANP، می‌باشد. یکی دیگر از عوامل مهم تحریک ترشح پیتید مشتق شده از سلول‌های اندوتیال یعنی اندوتلین می‌باشد که باعث افزایش ترشح ANP می‌گردد و مهار گیرنده‌های آن باعث کاهش پاسخ ANP به شرایط هایپوکسی می‌شود. شواهد اخیر پیشنهاد می‌کند که ال-آرژنین با افزایش سیگنال‌دهی NO می‌تواند به‌عنوان فعال‌کننده اندوتلین عمل نماید (۲۴) و در نتیجه می‌توان افزایش ANP در اثر مصرف ال-آرژنین را به افزایش اندوتلین نسبت داد.

مطالعه حاضر نشان داد که ۶ هفته تمرین تناوبی شدید با و بدون مصرف ال-آرژنین و همچنین مصرف ال-آرژنین به‌نهایی، تأثیر معنی‌داری بر سطح سرمی FGF21 ایجاد نکرد. فاکتور رشدی فیربولاست ۲۱، یک عامل تنظیم‌کننده

نشان داد با افزایش شدت تمرین، سطح ANP افزایش بیشتری داشت (۱۷). در مطالعه دیگری، Jónsdóttir و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که ۵ ماه تمرینات استقامتی و مقاومتی (۲ جلسه در هفته) تأثیری بر سطح ANP در افراد دارای نارسایی قلبی نداشت (۱۸). مطالعه دیگری نیز عدم تغییر سطح استراحتی ANP را پس از انجام ۶ هفته تمرینات هوایی گزارش کرد (۱۹). در پژوهشی دیگر احمدی‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، ANP و BNP در سطوح استراحتی هورمون‌های قلبی و ANP مردان سالم ایجاد نکرد (۹). بر خلاف این نتایج، مطالعه Lafontan و همکاران (۲۰۰۵) کاهش سطح ANP را در اثر تمرینات استقامتی گزارش کرد. محققین این گونه نتیجه‌گیری کردند که کاهش سطح ANP در این مطالعات به‌دلیل استفاده از افراد دارای بیماری‌های قلبی-عروقی به‌عنوان فرد مورد مطالعه بود. در این بیماران، سطح استراحتی ANP به‌دلیل افزایش پس‌بار قلبی بالا می‌باشد؛ در نتیجه تمرین احتمالاً از طریق تعديل این فشار باعث کاهش سطح استراحتی ANP شده است (۲۰).

تفاوت‌های موجود در نتایج مطالعات می‌تواند به دلیل تفاوت گروه‌های مورد بررسی و تعداد نمونه در هر مطالعه، سن افراد مورد مطالعه، سالم یا بیماربودن آنها، روش سنجش و مدت و نوع تمرین انجام‌شده باشد. بعضی از پژوهش‌ها بلافضله قبل و پس از دوره تمرین، نمونه‌گیری خونی یا بافتی را انجام داده‌اند که در این زمینه می‌توان از مطالعه Lipari و همکاران (۲۰۱۰) نام برد. آنها، سطح هورمون ANP را در نورون‌های هیپوталامیک موش‌ها بلافضله پس از تمرین اندازه‌گیری کردند (۲۱)؛ اما در مطالعه Jobgen و همکاران (۲۰۰۸) مانند مطالعه حاضر، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه‌گیری انجام شد (۹). تمرینات ورزشی می‌تواند بر کارایی سیستم گیرنده ANP نیز از طریق افزایش تعداد آنها و افزایش حساسیت به ANP تأثیرگذار باشد که در مطالعه حاضر این گیرنده‌ها سنجش نشدند.

فعال شدن آن مسیرهای متابولیکی تولید کننده ATP را فعال می کند و از انجام واکنش های آنابولیک جلوگیری می کند؛ از این رو پیامدهی AMPK برای تنظیم اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد و عضله اسکلتی و همچنین بیوژنز میتوکندریایی، جذب گلوکز و کنترل حساسیت به انسولین در AMPK عضله اسکلتی، حیاتی است (۲۹). فعال شدن AMPK می تواند باعث فعال شدن گیرنده الای فعال کننده تکثیر پر اکسی زومی (PPAR $\alpha$ )<sup>۲</sup> به عنوان یک فاکتور رونویسی مهم کبدی شود و در نتیجه می تواند باعث افزایش FGF21 گردد (۳۰). از آنجایی که FGF21 علاوه بر کبد در بافت های پیرامونی دیگر از قبیل بافت چربی سفید و قهوه ای، پانکراس و عضله اسکلتی نیز تولید می شود و تولید شدن آن بسته به شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی بدن مانند: فعالیت ورزشی، قرار گیری در هوای سرد، آسیب و بیماری های کبدی و کلیوی و استرس میتوکندریایی، تغییر می کند، انجام مطالعات بیشتر در زمینه پاسخ این هورمون به عوامل مختلف مورد نیاز می باشد (۴).

### نتیجه گیری

در مجموع به نظر می رسد اگر چه مصرف ال- آرژنین به تنها یی و همراه با تمرين تناوبی شدید توانست نقش مؤثری در افزایش ANP به عنوان فعال کننده بافت چربی قهوه ای و در نتیجه مقابله با چاقی داشته باشد، اما تأثیری بر سطح سرمی FGF21 افراد چاق و دارای اضافه وزن ندارد. بنابراین پیشنهاد می شود به منظور شناخت دقیق اثر این مداخلات بر میزان بافت چربی سفید و قهوه ای، اثرات تمرين تناوبی شدید و مصرف ال- آرژنین در دوره های زمانی طولانی تر مورد بررسی قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

نویسندها مراتب سپاس و قدردانی خود را از اداره کل

متابولیکی مهم با اثرات مفید متعدد بر هومئوستاز گلوکز و متابولیسم چربی می باشد. اگر چه اثرات مفید FGF21 در مطالعات مختلف مشخص شده است (۲، ۲۵، ۲۶)، اما مطالعات مقطعی ارتباط مستقیم بین سطح در گرددش این هورمون با شاخص توده بدنش را نشان داده اند (۲۷، ۲۸). همچنین مدل های حیوانی چاق، سطح افزایش یافته FGF21 را نشان داده اند و باعث طرح این پیشنهاد شدند که افزایش سطح این هورمون در چاقی، ممکن است اثرات مفیدی نداشته باشد. این مطالعات بیان کردن که افزایش سطح سرمی FGF21 در افراد چاق می تواند باعث افزایش مقاومت نسبت به آن و کاهش اثرات درمانی آن شود و در نتیجه به سوخت و ساز نامتناسب گلوکز و چربی منجر شود. هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، Besse-Patin و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که ۸ هفته تمرين استقامتی، تغییری در سطح FGF21 پلاسمای ایجاد نکرد (۵)؛ اما Cuevas-Ramos و همکاران (۲۰۱۲) چنین نتیجه گرفتند که انجام ۲ هفته تمرين هوازی، باعث افزایش سطح سرمی FGF21 زنان جوان دارای وزن طبیعی شد (۴). تفاوت در نتایج می تواند به دلیل تفاوت در وضعیت چاقی افراد مورد مطالعه باشد. در مطالعه حاضر از افراد دارای اضافه وزن و چاق استفاده گردید؛ اما در مطالعه ذکر شده افراد دارای وزن طبیعی بودند. همانطور که بیان گردید سطح سرمی FGF21 در افراد چاق بالاتر می باشد و می تواند دلیلی بر عدم افزایش این هورمون در اثر تمرينات تناوبی باشد (۲۸).

تاكنون تأثیر مصرف ال- آرژنین روی سطح FGF21 بررسی نشده است. گزارش هایی وجود دارد که غلظت های فیزیولوژیکی آرژنین، بیان و فعالیت پروتئین کیناز فعال شده (AMPK)<sup>۳</sup> را در کبد موش افزایش می دهد. این آنزیم یک تعديل کننده کلیدی متابولیسم چربی و تعادل انرژی است. پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP با افزایش در نسبت AMP/ATP داخل سلولی فعال می شود و

<sup>2</sup> Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$

<sup>1</sup> ۵' Adenosine monophosphate-activated protein kinase

ورزش و جوانان استان خراسان جنوبی بهدلیل حمایت مالی از پژوهش، اعلام می‌دارند.  
این پژوهش و همچنین از دانشجویان محترم شرکت‌کننده در  
**منابع:**

- 1- Seale P, Bjork B, Yang W, Kajimura S, Chin S, Kuang S, et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*. 2008; 454(7207): 961-7.
- 2- Cariello M, Moschetta A. Fibroblast growth factor 21: a new liver safeguard. *Hepatology*. 2014; 60(3): 792-4.
- 3- Scalzo RL, Peltonen GL, Giordano GR, Binns SE, Klochak AL, Paris H, et al. Regulators of human white adipose browning: evidence for sympathetic control and sexual dimorphic responses to sprint interval training. *PloS one*. 2014; 9(3): e90696.
- 4- Cuevas-Ramos D, Almeda-Valdés P, Meza-Arana CE, Brito-Córdova G, Gómez-Pérez FJ, Mehta R, et al. Exercise increases serum fibroblast growth factor 21 (FGF21) levels. *PLoS One*. 2012; 7(5): e38022.
- 5- Besse-Patin A, Montastier E, Vinel C, Castan-Laurell I, Louche K, Dray C, et al. Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *Int J obes (Lond)*. 2014; 38(5): 707-13.
- 6- Bordicchia M, Liu D, Amri E-Z, Ailhaud G, Dessì-Fulgheri P, Zhang C, et al. Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *J Clin Inves*. 2012; 122(3): 1022-36.
- 7- Moro C, Pasarica M, Elkind-Hirsch K, Redman LM. Aerobic exercise training improves atrial natriuretic peptide and catecholamine-mediated lipolysis in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrin Metab*. 2009; 94(7): 2579-86.
- 8- Ahmadizad S, Zahediasl S, Sajadi SM, Ebramin K, Bassami M. Effects of twelve weeks of resistance training on the resting levels of cardiac and related hormones in healthy men. *Physiol Pharmacol*. 2012; 15(4): 517-26.
- 9- Jobgen W, Meininger CJ, Jobgen SC, Li P, Lee MJ, Smith SB, et al. Dietary L-Arginine supplementation reduces white fat gain and enhances skeletal muscle and brown fat masses in diet-induced obese rats. *J Nutr*. 2009; 139(2): 230-7.
- 10- Lucotti P, Setola E, Monti LD, Galluccio E, Costa S, Sandoli EP, et al. Beneficial effects of a long-term oral L-Arginine treatment added to a hypocaloric diet and exercise training program in obese, insulin-resistant type 2 diabetic patients. *Am J Physiol-Endoc Metab*. 2006; 291(5): E906-12.
- 11- Rajapakse NW, Mattson DL. Role of cellular L-arginine uptake and nitric oxide production on renal blood flow and arterial pressure regulation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013; 22(1): 45-50.
- 12- Heydari M, Freund J, Boutcher SH. The effect of high-intensity intermittent exercise on body composition of overweight young males. *J Obes*. 2012; 2012. ID 480467.
- 13- Corte de Araujo AC1, Roschel H, Picanço AR, do Prado DM, Villares SM, de Sá Pinto AL, et al. Similar health benefits of endurance and high-intensity interval training in obese children. *PLoS One*. 2012; 7(8): e42747.
- 14- Buchan DS, Ollis S, Young JD, Thomas NE, Cooper SM, Tong TK, et al. The effects of time and intensity of exercise on novel and established markers of CVD in adolescent youth. *Am J Hum Biol*. 2011; 23(4): 517-26.
- 15- Alvares TS, Conte-Junior CA, Silva JT, Paschoalin VM. L-arginine does not improve biochemical and hormonal response in trained runners after 4 weeks of supplementation. *Nutr Res*. 2014; 34(1): 31-9.
- 16- Tan B, Li X, Yin Y, Wu Z, Liu C, Tekwe CD, et al. Regulatory roles for L-Arginine in reducing white adipose tissue. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2012; 17: 2237-46.
- 17- Pan SS. Alterations of atrial natriuretic peptide in cardiomyocytes and plasma of rats after different intensity exercise. *Scand J Med Sci Sports*. 2008; 18(3): 346-53.

- 18- Jónsdóttir S, Andersen KK, Sigurðsson AF, Sigurðsson SB. The effect of physical training in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2006; 8(1): 97-101.
- 19- Geny B, Saini J, Mettauer B, Lampert E, Piquard F, Follenius M, et al. Effect of short-term endurance training on exercise capacity, haemodynamics and atrial natriuretic peptide secretion in heart transplant recipients. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1996; 73(3-4): 259-66.
- 20- Lafontan M, Moro C, Sengenes C, Galitzky J, Crampes F, Berlan M. An unsuspected metabolic role for atrial natriuretic peptides the control of lipolysis, lipid mobilization, and systemic nonesterified fatty acids levels in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(10): 2032-42.
- 21- Lipari EF, Lipari D, Valentino B. Modifications of atrial natriuretic peptide and vasopressin peptides in the rat hypothalamic supraoptic nucleus during resistance training. *Ital J Anat Embryol.* 2010; 115(3): 211-7.
- 22- Nagaya N, Uematsu M, Oya H, Sato N, Sakanaki F, Kyotani S, et al. Short-term oral administration of L-Arginine improves hemodynamics and exercise capacity in patients with precapillary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163(4): 887-91.
- 23- Sloop GD, Weidman JJ, St Cyr JA. The systemic vascular resistance response: a cardiovascular response modulating blood viscosity with implications for primary hypertension and certain anemias. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2015; 9(6):403-11.
- 24- Bourque SL, Davidge ST, Adams MA. The interaction between endothelin-1 and nitric oxide in the vasculature: new perspectives. *Am J Physiol-Regul Integ Comp Physiol.* 2011; 300(6): R1288-95.
- 25- Loyd C, Magrisso IJ, Haas M, Balusu S, Krishna R, Itoh N, et al. Fibroblast growth factor 21 is required for beneficial effects of exercise during chronic high-fat feeding. *J Appl Physiol (1985).* 2016; 121(3): 687-98.
- 26- Samms RJ, Murphy M, Fowler MJ, Cooper S, Emmerson P, Coskun T, et al. Dual effects of fibroblast growth factor 21 on hepatic energy metabolism. *J Endocrinol.* 2015; 227(1): 37-47.
- 27- Gallego-Escuredo JM, Gómez-Ambrosi J, Catalan V, Domingo P, Giralt M, Frühbeck G, et al. Opposite alterations in FGF21 and FGF19 levels and disturbed expression of the receptor machinery for endocrine FGFs in obese patients. *Int J Obes (Lond).* 2015; 39(1): 121-9.
- 28- Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, Stejskal D, Zhou ZG, Liu F, et al. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes.* 2008; 57(5): 1246-53.
- 29- Long YC, Zierath JR. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. *J Clin Invest.* 2006; 116(7): 1776-83.
- 30- Berglund ED, Kang L, Lee-Young RS, Hasenour CM, Lustig DG, Lynes SE, et al. Glucagon and lipid interactions in the regulation of hepatic AMPK signaling and expression of PPAR $\alpha$  and FGF21 transcripts in vivo. *Am Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 299(4): E607-14.