

## 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 Saghebjo<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±6.52 years and mean body mass index 29.43±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\_saghebjo@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 پپتید دهلیزی دفع کننده سدیم مردان جوان دارای اضافه وزن و چاق

صادق چراغ بیرجندی<sup>۱</sup>، مرضیه ثاقب جو<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 پپتید دهلیزی دفع کننده سدیم (ANP) مردان دارای اضافه وزن و چاق بود.

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

یافته‌ها: نتایج نشان داد مصرف L-Arg و HIIT+ L-Arg باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی ANP شد (سطح معنی‌داری به‌ترتیب: ۰/۰۲ و ۰/۰۱)؛ اما انجام HIIT تغییر معنی‌داری در سطح ANP ایجاد نکرد. سطح سرمی FGF21 نیز متعاقب HIIT و مصرف L-Arg تغییر معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد مصرف L-Arg و همراه نمودن HIIT با مصرف L-Arg، به‌واسطه افزایش سطح ANP می‌تواند به‌عنوان 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، پپتید دهلیزی 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 - کدپستی ۹۷۱۷۴۳۴۷۶۵

تلفن: ۰۵۶۳۲۲۰۲۰۴۲. شماره: ۰۵۶۳۲۲۰۲۰۲۲. پست الکترونیکی: m\_saghebjoob@birjand.ac.ir

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

## مقدمه

پپتید دهلیزی دفع‌کننده سدیم<sup>۶</sup> (ANP)، یک بازکننده عروقی قوی و یک هورمون پپتیدی 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 تخمدان پلی‌کیستیک 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 PGC1 $\alpha$  می‌شود، مرتبط می‌باشد (۱۱).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که علاوه بر تمرینات طولانی‌مدت هوازی 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 تکثیر گامای پراکسی‌زومی (PGC1 $\alpha$ )<sup>۳</sup>، بر فرآیند تمایز پری‌آدیپوسیت‌ها به سلول‌های سفید و قهوه‌ای تأثیر می‌گذارند (۱).

فاکتور رشدی فیروپلاست ۲۱ (FGF21)<sup>۴</sup>، یک هورمون درگیر در فرآیندهای متابولیکی است که عمدتاً در کبد ساخته می‌شود و می‌تواند بیان PGC1 $\alpha$  را تحریک کند که این عمل نشان‌دهنده نقش کلیدی FGF21 در میانجی‌گری گلوکونئوژنز 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 اینتروال 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 هوازی 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 به دلیل 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 protein1

<sup>3</sup> Peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$  coactivator-1  $\alpha$

<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 میلی‌لیتر و انحراف استاندارد ۱/۳ (انحراف استاندارد FGF21 در پایلوت توسط نویسندگان 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 شناخته‌شده قلبی-عروقی، کبدی، کلیوی، ریوی و دیابت، کم‌کاری 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 تمایل 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 با کد IRCT2016041327365N1 ثبت گردیده است. قبل از شروع برنامه تمرین، ابتدا 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 ابتدا 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 قهوه‌ای به‌عنوان بافتی مؤثر در تنظیم مصرف انرژی و پیشگیری و درمان چاقی انجام شده است. هورمون‌های FGF21 و ANP به‌عنوان فعال‌کننده‌های بافت چربی قهوه‌ای مد نظر می‌باشند. با توجه به جستجوی انجام‌شده در میان مقالات چاپ‌شده در پایگاه‌های علمی PubMed، Scopus، Google scholar و 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 قهوه‌ای 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 قهوه‌ای 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 انتخاب‌شده به‌صورت 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>1</sup> Body composition analyzer

صرف کردند (۱۵)؛ به صورتی که نیم ساعت قبل از صرف صبحانه و یک ساعت قبل از وعده غذایی نهار و شام، ۲ کپسول یک گرمی به همراه ۴۰۰ میلی لیتر آب مصرف نمودند. با توجه به اینکه ال-آرژنین پس از مصرف شدن، در بدن تبدیل به NO می شود و اثرات فیزیولوژیک خود را اعمال می کند (۱۶)، ۲۴ ساعت قبل از شروع دوره پژوهش، لیست مواد غذایی که حاوی نیترات و نیتريت 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 خوراکی) خواسته شد تا در طول مدت پژوهش از انجام فعالیت های بدنی منظم پرهیز و از رژیم غذایی معمولی خود پیروی نمایند. برای از بین بردن اثرات روانی احتمالی مصرف مکمل، به افرادی که در گروه های 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 ۴۵ 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 کرده اند. همچنین نتایج به دست آمده از پرسشنامه فعالیت بدنی نشان داد که سطح فعالیت بدنی همه افراد پایین تر از مقدار متوسط بود (میانگین نمره آزمون > ۳۵). بیست و چهار ساعت قبل از اولین جلسه تمرین و مصرف مکمل ال-آرژنین و ۴۸ ساعت متعاقب این پروتکل، در شرایط ۱۲ ساعت ناشتایی، نمونه گیری خون به میزان ۱۰ میلی لیتر از ورید بازویی انجام شد. نمونه های خونی در لوله های آزمایشی بدون ماده ضد انعقادی ریخته شد. به منظور کاهش زمان ماندن نمونه در شرایط آزمایشگاهی، طی ۵ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط و تشکیل لخته، بلافاصله نمونه ها سانتریفیوژ شد (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه) و محلول سرم از لخته

سپس ۳۰ ثانیه راه می رفتند. در ابتدای برنامه تمرین، مدت اجرای بدنه اصلی تمرین (به جز زمان گرم کردن و سرد کردن) ۴ دقیقه به طول می انجامید 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 ثانیه ای و یک راه رفتن ۳۰ ثانیه ای به تمرین اضافه می شد؛ به طوری که در هفته ششم این میزان به ۶ دویدن ۳۰ ثانیه ای و ۶ راه رفتن ۳۰ ثانیه ای رسید. در مجموع پروتکل تمرینی، ۶ هفته 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 می نمود. بدین منظور ضربان قلب فعالیت هر فرد در محدوده حداکثر ضربان قلب (سن - ۲۲۰) بود و شمارش ضربان قلب نیز بلافاصله بعد از پایان هر تناوب با کنترل نبض گردنی توسط محقق انجام می گرفت. 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 می گرفت. شایان ذکر است که این پروتکل تمرینی، از وهله های تکراری آزمون شاتل ران بیشینه ۴۰ متر تشکیل شده است که یک آزمون معتبر برای ارزیابی عملکرد بی هوازی می باشد (۱۴).

جدول ۱- نحوه اجرای برنامه تمرین تناوبی شدید

| مراحل تمرین          | گرم کردن (دقیقه) | ۳۰ ثانیه دویدن با حداکثر سرعت (تکرار) | ۳۰ ثانیه راه رفتن (تکرار) | سرد کردن (دقیقه) |
|----------------------|------------------|---------------------------------------|---------------------------|------------------|
| هفته های اول و دوم   | ۱۰               | ۴                                     | ۴                         | ۵                |
| هفته های سوم و چهارم | ۱۰               | ۵                                     | ۵                         | ۵                |
| هفته های پنجم و ششم  | ۱۰               | ۶                                     | ۶                         | ۵                |

### مصرف ال-آرژنین

گروه های مصرف مکمل، در مدت ۶ هفته اجرای پروتکل، مکمل ال-آرژنین (Puritan's pride، ساخت کشور آمریکا) را به میزان ۶ گرم در روز در قالب کپسول های 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 کنترل‌نمودن مقادیر پیش‌آزمون (به‌عنوان 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 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین سطح سرمی ANP در گروه مکمل ال-آرژنین در مقایسه با گروه تمرین تناوبی شدید به‌طور 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 به‌روش الایزا با استفاده از کیت‌های پژوهشی مخصوص نمونه‌های انسانی (ساخت کمپانی Cusabio چین، تهیه‌شده از شرکت پادگین طب، تهران، ایران) به‌ترتیب: با حساسیت ۳/۹ و ۷/۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۸/۴ و ۸/۳ درصد اندازه‌گیری گردید. با توجه به طبیعی‌بودن 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 میانگین این متغیرها در پیش‌آزمون گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P>0/05$ ).

مقادیر میانگین و انحراف‌استاندارد متغیرهای وابسته

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

| گروه‌ها                                 | تمرین تناوبی شدید<br>(تعداد=۱۰)<br>(انحراف معیار±میانگین) | مکمل ال-آرژنین<br>(تعداد=۱۰)<br>(انحراف معیار±میانگین) | تمرین تناوبی شدید+مکمل<br>ال-آرژنین (تعداد=۱۰)<br>(انحراف معیار±میانگین) | دارونما<br>(تعداد=۱۰)<br>(انحراف معیار±میانگین) | سطح<br>معنی‌داری |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------|
| سن (سال)                                | ۲۳/۹۰±۱/۴۵                                                | ۲۵/۱۰±۲/۴۵                                             | ۲۶/۴۰±۲/۵۶                                                               | ۲۴/۹۰±۰/۷۲                                      | ۰/۰۷             |
| نمایه توده بدن<br>(کیلوگرم بر متر مربع) | ۲۹/۶۳±۱/۲۶                                                | ۳۰/۵۳±۱/۳۵                                             | ۲۸/۱۴±۰/۹۸                                                               | ۲۹/۴۵±۱/۰۵                                      | ۰/۵۸             |
| چربی بدن (درصد)                         | ۳۰/۱۸±۱/۵۱                                                | ۳۰/۴۸±۱/۳۵                                             | ۲۸/۴۷±۱/۰۵                                                               | ۲۸/۳۵±۰/۴۹                                      | ۰/۵۵             |

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

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

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

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

| متغیر                                  | گروه                              | میانگین تعدیل شده | انحراف معیار<br>تعدیل شده | سطح معنی داری |
|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------------------|---------------|
|                                        | تمرین تناوبی شدید                 | ۸/۳۹              | ۱/۶۵                      | ۰/۲۵          |
|                                        | دارونما                           | ۷/۹۶              | ۱/۵۱                      |               |
|                                        | مکمل ال-آرژنین                    | ۱۰/۷۴             | ۰/۷۸                      | *۰/۰۲         |
|                                        | دارونما                           | ۷/۹۶              | ۱/۵۱                      |               |
| سطح سرمی ANP<br>(پیکوگرم در میلی لیتر) | تمرین تناوبی شدید+ مکمل ال-آرژنین | ۱۰/۰۳             | ۰/۵۷                      | *۰/۰۱         |
|                                        | دارونما                           | ۷/۹۶              | ۱/۵                       |               |
|                                        | تمرین تناوبی شدید+ مکمل ال-آرژنین | ۱۰/۰۳             | ۰/۵۷                      | ۰/۴۵          |
|                                        | مکمل ال-آرژنین                    | ۱۰/۷۴             | ۰/۷۸                      |               |
|                                        | تمرین تناوبی شدید                 | ۸/۳۹              | ۱/۶۵                      | *۰/۰۳         |
|                                        | مکمل ال-آرژنین                    | ۱۰/۷۴             | ۰/۷۸                      |               |

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

## بحث

در رابطه با تأثیر تمرین تناوبی شدید بر سطوح ANP

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

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

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). ناهمسویی نتایج می‌تواند به‌دلیل تفاوت افراد مورد مطالعه باشد که در مطالعه حاضر از افراد سالم استفاده گردید، اما در مطالعه ذکرشده 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 میوسیت‌های قلبی و تنظیم افزایشی ترشح پپتیدهای قلبی می‌گردد که مصرف مکمل ال-آرژنین می‌تواند با افزایش NO و کاهش مقاومت عروق، سطوح آنها را کاهش دهد (۲۳). پپتید دهلیزی دفع‌کننده سدیم به‌طور پیوسته از قلب ترشح می‌شود؛ اما میزان آن در پاسخ به محرک‌های مناسب تغییر می‌کند و عوامل مختلفی در کنترل سنتز و ترشح آن نقش دارند. پژوهش‌های قلبی نشان داده‌اند که کشش دیواره دهلیزی محرک اصلی برای ترشح هورمون‌های قلبی می‌باشد. یکی دیگر از عوامل مهم تحریک ترشح ANP، پپتید مشتق‌شده از سلول‌های اندوتلیال 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 به‌تنهایی، تأثیر معنی‌داری بر سطح سرمی FGF21 ایجاد نکرد. فاکتور رشدی فیبروبلاست 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 هوازی گزارش کرد (۱۹). در پژوهشی دیگر احمدی‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین مقاومتی، تغییری در سطوح استراحتی هورمون‌های قلبی ANP و BNP 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 این‌گونه 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 تعدیل 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 بیمار بودن آنها، روش سنجش و مدت و نوع تمرین انجام‌شده باشد. بعضی از پژوهش‌ها بلافاصله 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 نوروهای هیپوتالامیک موش‌ها بلافاصله 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 تولیدکننده ATP را فعال می‌کند و از انجام واکنش‌های آنابولیک جلوگیری می‌کند؛ از این رو پیام‌دهی AMPK برای تنظیم اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد و عضله اسکلتی و همچنین بیوزنز میتوکندریایی، جذب گلوکز و کنترل حساسیت به انسولین در عضله اسکلتی، حیاتی است (۲۹). فعال شدن AMPK می‌تواند باعث فعال شدن گیرنده آلفای فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زومی (PPAR $\alpha$ )<sup>۲</sup> به‌عنوان یک فاکتور رونویسی مهم کبدی شود و در نتیجه می‌تواند باعث افزایش FGF21 گردد (۳۰). از آنجایی که FGF21 علاوه بر کبد در بافت‌های پیرامونی دیگر از قبیل بافت چربی سفید و قهوه‌ای، پانکراس و عضله اسکلتی نیز تولید می‌شود و تولید شدن آن بسته به شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی بدن مانند: فعالیت ورزشی، قرارگیری در هوای سرد، آسیب و بیماری‌های کبدی و کلیوی و استرس میتوکندریایی، تغییر می‌کند، انجام مطالعات بیشتر در زمینه پاسخ این هورمون به عوامل مختلف مورد نیاز می‌باشد (۴).

### نتیجه‌گیری

در مجموع به‌نظر می‌رسد اگر چه مصرف ال-آرژنین به‌تنهایی و همراه با تمرین تناوبی شدید توانست نقش مؤثری در افزایش ANP به‌عنوان فعال‌کننده بافت چربی قهوه‌ای و در نتیجه مقابله با چاقی داشته باشد، اما تأثیری بر سطح سرمی FGF21 افراد چاق و دارای اضافه وزن ندارد. بنابراین پیشنهاد می‌شود به‌منظور شناخت دقیق اثر این مداخلات بر میزان بافت چربی سفید و قهوه‌ای، اثرات تمرین تناوبی شدید و مصرف ال-آرژنین در دوره‌های زمانی طولانی‌تر مورد بررسی قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از اداره کل

متابولیکی مهم با اثرات مفید متعدد بر هومئوستاز گلوکز و متابولیسم چربی می‌باشد. اگر چه اثرات مفید FGF21 در مطالعات مختلف مشخص شده است (۲، ۲۵، ۲۶)، اما مطالعات مقطعی ارتباط مستقیم بین سطح در گردش این هورمون با شاخص توده بدنی را نشان داده‌اند (۲۷، ۲۸). همچنین مدل‌های حیوانی چاق، سطح افزایش یافته FGF21 را نشان داده‌اند و باعث طرح این پیشنهاد شدند که افزایش سطح این هورمون در چاقی، ممکن است اثرات مفیدی نداشته باشد. این مطالعات بیان کردند که افزایش سطح سرمی FGF21 در افراد چاق می‌تواند 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. هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر، Besse-Patin و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که ۸ هفته تمرین استقامتی، تغییری در سطح FGF21 پلاسما ایجاد نکرد (۵)؛ اما Cuevas-Ramos و همکاران (۲۰۱۲) چنین نتیجه گرفتند که انجام ۲ هفته تمرین هوازی، باعث افزایش سطح سرمی FGF21 زنان جوان دارای وزن طبیعی شد (۴). تفاوت در نتایج می‌تواند به‌دلیل تفاوت در وضعیت چاقی افراد مورد مطالعه باشد. در مطالعه حاضر از افراد دارای اضافه وزن و چاق استفاده گردید؛ اما در مطالعه ذکرشده افراد دارای وزن طبیعی بودند. همانطور که بیان گردید سطح سرمی FGF21 در افراد چاق بالاتر می‌باشد و می‌تواند دلیلی بر عدم افزایش این هورمون در اثر تمرینات تناوبی باشد (۲۸).

تاکنون تأثیر مصرف ال-آرژنین روی سطح FGF21 بررسی نشده است. گزارش‌هایی وجود دارد که غلظت‌های فیزیولوژیکی آرژنین، بیان و فعالیت پروتئین کیناز فعال‌شده توسط AMP<sup>۱</sup>(AMPK) را در کبد موش افزایش می‌دهد. این آنزیم یک تعدیل‌کننده کلیدی متابولیسم چربی و تعادل انرژی است. پروتئین کیناز فعال‌شده توسط AMP با افزایش در نسبت AMP/ATP داخل سلولی فعال می‌شود و

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

<sup>1</sup> 5' Adenosine monophosphate-activated protein kinase

ورزش و جوانان استان خراسان جنوبی به دلیل حمایت مالی از پژوهش، اعلام می‌دارند.  
این پژوهش و همچنین از دانشجویان محترم شرکت کننده 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 (Land)*. 2014; 38(5): 707-13.
- 6- Bordicchia M, Liu D, Amri E-Z, Ailhaud G, Dessi-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, Sengenès 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.