

Original Article

The effect of 8 weeks of continuous exercise combined with omega-3 consumption on the expression of bile acid transporters and the amount of bile acids in the liver tissue of male rats with an induced non-alcoholic fatty liver disease model**Hamid Mohammadi¹, Rouhollah Ranjbar^{1*}, Mohammad Reza Tabandeh², Abdolhamid Habibi¹**¹ Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran² Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran**Abstract**

Background and Purpose: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common metabolic disorders associated with fat accumulation, inflammation, and impaired bile acid metabolism. Alterations in the expression of hepatic bile acid transporters play an important role in the progression of this disease. The aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of moderate-intensity continuous exercise combined with omega-3 supplementation on the expression of bile acid transporters and bile acid levels in the liver tissue of rats with NAFLD.

Materials and Methods: Thirty adult male Wistar rats were randomly divided into five groups: healthy control, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), NAFLD with moderate-intensity continuous exercise (MICT), NAFLD with omega-3 supplementation (OM3), and NAFLD with continuous exercise and omega-3. NAFLD was induced with a high-fat diet and 25% sucrose solution for 12 weeks. The continuous exercise protocol was performed four sessions per week for 8 weeks. The expression of hepatic bile acid transporters including sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) and bile salt export pump (BSEP), bile acid concentrations, blood glucose, and lipid profile were measured following all protocols. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test.

Results: NAFLD increased bile acids, impaired metabolic profile, and decreased expression of bile transporters significantly ($P < 0.05$). Continuous exercise training and omega-3 intake independently improved metabolic indices, decreased bile acids, and modulated NTCP and BSEP expression. The changes for all variables were significantly ($P < 0.05$) higher following combined exercise and omega-3 than either protocols separately.

Conclusion: The combination of continuous exercise and omega-3 supplementation by regulating bile acid homeostasis and improving liver function can be considered as an effective non-pharmacological strategy in the management of NAFLD.

* Corresponding Author's E-mail: ro.ranjbar@scu.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2026.242561.1411>

Received: 19/11/2025

Revised: 29/12/2025

Accepted: 13/01/2026



Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Keywords: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Continuous training, Omega-3, Bile acid transporter, liver

How to cite this article: Mohammadi H, Ranjbar R, Tabandeh M R, Habibi A. The effect of 8 weeks of continuous exercise combined with omega-3 consumption on the expression of bile acid transporters and the amount of bile acids in the liver tissue of male rats with an induced non-alcoholic fatty liver disease model. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(2):32-51.

تأثیر هشت هفته تمرین تداومی همراه با دریافت امگا ۳ بر بیان برخی ناقلان اسید صفراوی و میزان اسیدهای صفراوی در بافت کبد موش‌های نر صحرایی با الگوی کبد چرب غیرالکلی القایی

حمید محمدی^۱، روح‌اله رنجبر^{۱*}، محمدرضا تابنده^۲، عبدالحمید حبیبی^۱

^۱ گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۲ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) یکی از شایع‌ترین اختلالات سوخت‌وسازی است که با انباشت چربی، التهاب و اختلال در سوخت‌وساز اسیدهای صفراوی همراه است. تغییر در بیان ناقلان اسید صفراوی کبدی نقش مهم و ارزنده‌ای در پیشرفت این بیماری دارد. از این‌رو، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تداومی با شدت متوسط همراه با دریافت مکمل امگا-۳ بر بیان ناقلان اسید صفراوی و میزان اسیدهای صفراوی در بافت کبد موش‌های مبتلا به NAFLD انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ و بیستار به‌طور تصادفی به پنج گروه کنترل سالم، کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)، NAFLD همراه با تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)، NAFLD همراه با مکمل امگا-۳ (OM3) و NAFLD همراه با تمرین تداومی و امگا-۳ جایگزین شدند. القای NAFLD با رژیم غذایی پرچرب و دریافت محلول سوکروز ۲۵ درصد به مدت ۱۲ هفته انجام گرفت. تمرین تداومی به مدت هشت هفته، چهار جلسه در هفته اجرا شد. متغیرهای پژوهش شامل بیان ناقلان اسیدهای صفراوی کبدی، مانند پلی‌پپتید ناقل هم انتقال‌دهنده سدیم-توروکولات (NTCP) و پمپ خروج نمک صفراوی (BSEP)، غلظت اسیدهای صفراوی، قند خون و نیمرخ لیپیدی بود. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $P < 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: NAFLD موجب افزایش اسیدهای صفراوی، اختلال نیمرخ سوخت‌وسازی و کاهش بیان ناقلان صفراوی شد ($P < 0.05$). تمرین تداومی و مصرف امگا-۳ به‌طور مستقل و جداگانه سبب بهبود نشانگرهای سوخت‌وسازی، کاهش اسیدهای صفراوی و تعدیل بیان NTCP و BSEP شدند. بیشترین تأثیرات مطلوب در گروه ترکیبی دیده شد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که ترکیب تمرین تداومی و مکمل امگا-۳ احتمالاً می‌تواند با تنظیم هومئوستاز اسیدهای صفراوی و بهبود عملکرد کبد به‌عنوان راهبردی غیردارویی و مؤثر در مدیریت NAFLD مطرح شود.

واژه‌های کلیدی: امگا-۳، تمرین تداومی، کبد چرب غیرالکلی، ناقلان اسیدهای صفراوی.

نحوه استناد به این مقاله: محمدی ح، روح‌اله رنجبر ر، تابنده م، عبدالحمید حبیبی ع. تأثیر هشت هفته تمرین تداومی همراه با دریافت امگا ۳ بر بیان برخی ناقلان اسید صفراوی و میزان اسیدهای صفراوی در بافت کبد موش‌های با الگوی کبد چرب غیرالکلی القایی. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۲): ۳۲-۵۱.

* رایانامه نویسنده مسئول: ro.ranjbar@scu.ac.ir

مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)^۱ شامل انواع بیماری‌های کبد چرب بالینی و پاتولوژیک، از استئاتوز ساده گرفته تا استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH)^۲ است که می‌تواند به سیروز و سرطان کبد منجر شود (۱). NAFLD با انباشت و ذخیره بیش از اندازه چربی در سلول‌های کبدی در صورت دریافت نکردن الکل مشخص می‌شود. NAFLD شایع‌ترین بیماری مزمن کبدی در جهان است که ۱۵ تا ۴۰ درصد از جمعیت عمومی را تحت تأثیر قرار داده می‌دهد و دست کم ۱۰ تا ۲۰ درصد از این افراد به استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) مبتلا می‌شوند (۲). امروزه شیوع و گسترش جهانی NAFLD ۳۰/۲ درصد در جمعیت بالغان برآورد شده است (۳). گمان می‌رود شیوع و گسترش واقعی NAFLD به دلیل تغییرات رژیم غذایی، تمایل به سبک زندگی بی‌تحرک و افزایش نشانگان سوخت‌وسازی در سراسر جهان به‌طور چشمگیری بالاتر است. سازوکارهای حفظ تعادل سوخت‌وسازی، فعالیت بدنی و تغذیه، همگی همبستگی نزدیکی با بیماری NAFLD و سایر اختلالات و بیماری‌های سوخت‌وسازی مانند چاقی، دیابت و اختلالات چربی خون دارند. دریافت کالری بیش از اندازه و نداشتن فعالیت بدنی، تعادل بین مسیرهای لیپوژنیک و لیپولیتیک کبد را مختل می‌کند و به انباشت لیپیدها، به‌ویژه تری‌گلیسیریدها منجر می‌شود (۴، ۵).

اسیدهای صفراوی ترکیباتی هستند که در کبد تولید می‌شوند و نقش مهم و برجسته‌ای در هضم چربی‌ها و جذب ویتامین‌های محلول در چربی دارند. اسیدهای صفراوی به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند: اسیدهای صفراوی اولیه و ثانویه. اسیدهای صفراوی اولیه مانند کولیک اسید^۳ و کینودئوکسی‌کولیک اسید^۴ در کبد از کلسترول سنتز می‌شوند. این اسیدها پس از تولید در کبد، به صفرا ترشح شده و در روده‌ها به اسیدهای صفراوی ثانویه مانند دئوکسی‌کولیک اسید^۵ و

لیتوکولیک^۶ اسید تبدیل می‌شوند. این فرایند با کمک باکتری‌های روده‌ای انجام می‌شود (۶، ۷). فرایند پیچیده‌ای برای حفظ هومئوستاز اسیدهای صفراوی در بدن وجود دارد. از جمله سازوکارهای اصلی هومئوستاز اسید صفراوی می‌توان به بازجذب اسیدهای صفراوی در روده اشاره کرد که از طریق ناقل‌های خاصی مانند ناقل هم انتقال‌دهنده سدیم-توروکولات (NTCP)^۷ و ناقل وابسته به سدیم اسیدهای صفراوی در سطح رآسی روده^۸ انجام می‌شود. این فرایند از انباشت بیش از اندازه اسیدهای صفراوی در روده و کبد جلوگیری کرده و به حفظ تعادل آن‌ها در بدن کمک می‌کند. اسیدهای صفراوی همچنین به‌عنوان پیام‌رسان‌های سوخت‌وسازی عمل می‌کنند. آن‌ها از طریق گیرنده‌های ویژه مانند گیرنده فارنزوئید^۹ و گیرنده جفت‌شونده با پروتئین G اسیدهای صفراوی^{۱۰} در تنظیم سوخت‌وساز کلسترول، چربی‌ها و گلوکز نقش دارند. FXR به‌ویژه در تنظیم تولید اسیدهای صفراوی و حفظ هومئوستاز کلسترول نقش دارد، زیرا بازخورد منفی بر سنتز اسیدهای صفراوی و کلسترول اعمال می‌کند (۸). هومئوستاز اسید صفراوی نقش مهمی در حفظ سلامت کبد و سوخت‌وساز بدن ایفا می‌کند. اختلال در این هومئوستاز می‌تواند به اختلالات سوخت‌وسازی و بیماری‌های مزمن مانند NAFLD منجر شود. در شرایط NAFLD، هومئوستاز اسید صفراوی مختل می‌شود. یکی از آثار رایج در این بیماری، کاهش ترشح اسیدهای صفراوی از کبد به صفراست که سبب انباشته شدن اسیدهای صفراوی در کبد می‌شود. این انباشت سبب تحریک التهاب، فشار اکسایشی و آسیب به هیپاتوسیت‌ها می‌شود. در نتیجه، تولید لیپیدها در کبد افزایش می‌یابد که از عوامل اصلی انباشت چربی در کبد است. افزون بر این، در بیماری NAFLD، بیان پروتئین FXR کاهش می‌یابد که سبب کاهش بازخورد

منفی بر سنتز اسیدهای صفراوی می‌شود. در نتیجه، سنتز اسیدهای صفراوی افزایش و ترشح آن‌ها کاهش می‌یابد که به انباشت چربی در کبد کمک می‌کند (۹). گیرنده‌های اسید صفراوی در کبد نقش حیاتی در حفظ تعادل سوخت‌وسازی و هومئوستاز صفراوی ایفا می‌کنند. گیرنده NTCP و BSEP^{۱۱} از جمله گیرنده‌های مهم و ارزشمند در فرایندهای مربوط به جذب و ترشح اسیدهای صفراوی هستند. تغییرات در بیان این گیرنده‌ها می‌تواند تأثیرات عمده‌ای بر عملکرد کبد و پیشرفت بیماری‌هایی همچون NAFLD داشته باشد. NTCP یک ناقل اسید صفراوی است که در سلول‌های کبدی به‌ویژه در هپاتوسیت‌ها نقش مهم و برجسته‌ای در جذب اسیدهای صفراوی، به‌ویژه اسید تاروکولات ایفا می‌کند. در بیماران مبتلا به NAFLD، بیان این گیرنده شاید کاهش یابد. کاهش بیان NTCP می‌تواند سبب کاهش جذب اسیدهای صفراوی به سلول‌های کبدی شود که در نهایت به اختلال در تنظیم هومئوستاز صفراوی و انباشت چربی در کبد منجر می‌شود. این تغییرات می‌تواند به افزایش تولید چربی در کبد و توسعه التهاب و فیبروز منجر شود که از علائم اصلی NAFLD هستند (۱۰). افزون بر این، کاهش NTCP می‌تواند موجب اختلال در پیام‌رسانی اسید صفراوی و نقش آن در تنظیم سوخت‌وساز چربی و گلوکز شود که خود عاملی در ایجاد مقاومت به انسولین و سایر اختلالات سوخت‌وسازی است BSEP پروتئینی است که مسئول ترشح اسیدهای صفراوی از هپاتوسیت‌ها به صفا است. در شرایط NAFLD، کاهش بیان BSEP سبب انباشت اسیدهای صفراوی در کبد می‌شود. این انباشت می‌تواند به آسیب اکسایشی و التهاب در کبد منجر شود و در نهایت به پیشرفت بیماری‌هایی مانند NAFLD و فیبروز کبدی کمک کند. همچنین کاهش ترشح اسیدهای صفراوی از کبد می‌تواند موجب اختلال در فرایندهای هضم و جذب چربی‌ها شود که این نیز بر عملکرد کبد و سلامت سوخت‌وسازی تأثیر منفی

می‌گذارد (۱۱).

یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که ورزش با شدت متوسط و شدید می‌تواند به‌طور مؤثر عملکرد سلول‌های کبدی را بازیابی کند و نیمرخ لیپیدی، مقاومت به انسولین و آنزیم‌های کبدی را کاهش دهد. ورزش با شدت متوسط (حدود ۱۵۰ دقیقه در هفته) با کاهش التهاب کبد و استئاتوز کبدی در بیماران NAFLD همبستگی دارد (۱۲). در موش‌هایی با رژیم غذایی پرچرب، ورزش منظم با کاهش سطح تری‌گلیسیرید، آسیب کبدی و اندازه قطرات چربی کبد همراه است. ورزش، به‌ویژه تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)^{۱۲}، تأثیر مثبتی بر سوخت‌وساز لیپیدها و کاهش اختلال عملکرد کبد در اختلالات سوخت‌وسازی مختلف، از جمله NAFLD، دارد. تمرین ورزشی MICT وابسته به تعدیل مسیرهای سوخت‌وسازی دخیل در ساخت و سوخت‌وساز اسیدهای صفراوی است و به‌طور بالقوه و نهفته هومئوستاز اسیدهای صفراوی و سلامت کبد را بهبود می‌بخشد. بر اساس یافته‌های پیشین مداخله ۱۴ هفته‌ای ترکیبی از رژیم غذایی و تمرین هوازی به کاهش سطوح سرمی اسیدهای صفراوی در زنان دارای مقاومت به انسولین منجر می‌شود. این یافته‌های پژوهشی نشان می‌دهند که فعالیت بدنی منظم و ظرفیت هوازی بالا شاید با تغییر ترکیب یا سطح اسیدهای صفراوی به بهبود سوخت‌وساز کبد و حساسیت به انسولین کمک کنند. اطلاعات موجود درباره تأثیر شدت تمرین بر هومئوستاز اسیدهای صفراوی محدود و اندک است. پژوهش‌ها نشان داده است که تمرین شدید (استقامتی یا مقاومتی) سبب کاهش گذرای سطح اسیدهای صفراوی در سرم انسان می‌شود (۱۳). شی^{۱۳} و همکاران (۲۰۲۵) نشان دادند که تمرین هوازی مداوم تأثیر بیشتری بر بهبود شاخص‌های عملکرد کبدی و سطوح خاصی از اسیدهای صفراوی نسبت به تمرین مقاومتی یا ترکیب دو نوع تمرین دارد (۱۳)؛ بنابراین گمان می‌رود تمرین با شدت متوسط تا

بالای هوازی و استمرار آن (تمرین تداومی) در زمینه سوخت‌وساز اسید صفراوی و سلامت کبد مؤثرتر باشد تا تمرین مقاومتی منفرد یا ترکیبی با شدت متفاوت. البته تاکنون تأثیر ورزش بر ناقلان اسیدهای صفراوی در کبد در شرایط NAFLD بررسی نشده است.

افزون بر ورزش، اسیدهای چرب امگا ۳ به‌عنوان یک مداخله غذایی برای NAFLD توجه چشمگیری را به خود جلب کرده‌اند. پژوهش‌های همه‌گیرشناسی، همبستگی منفی و وارونه‌ای را بین دریافت اسیدهای چرب امگا ۳ با بیماری‌های سوخت‌وسازی، قلبی-عروقی و NAFLD گزارش کرده‌اند (۱۴). اسیدهای چرب امگا ۳ با کاهش لیپوژنز کبدی، افزایش اکسایش اسیدهای چرب و بهبود هومئوستاز اسیدهای صفراوی، سوخت‌وساز لیپید را تعدیل می‌کنند (۱۵). به‌تازگی پژوهش‌های انجام‌شده گزارش داده‌اند که امگا ۳ آسیب سلول‌های کبدی را در موش‌های کلستاتیک مبتلا به انسداد مجرای صفراوی کاهش می‌دهد (۱۶، ۱۷). اسیدهای چرب غیراشباع مانند اسیدهای ایکوزاپنتانوئیک (EPA^{۱۴}) و دوکوزاهگزانوئیک (DHA^{۱۵}) همچنین بیان ژن‌های دخیل در ساخت، انتقال و سوخت‌وساز اسیدهای صفراوی را در الگوهای روده و سلول‌های کلیه انسان تعدیل می‌کنند. از سوی دیگر، اسیدهای چرب غیراشباع می‌توانند به‌عنوان یک عامل محافظتی در برابر انباشت متوسط اسیدهای صفراوی در شرایط کلستاز مزمن عمل می‌کنند (۱۸). با این همه، تا به امروز پژوهشی درباره تأثیر ترکیبی تمرین تداومی با شدت متوسط و مصرف امگا ۳ بر بیان ناقلان اسیدهای صفراوی در دسترس نیست. از این‌رو، در این پژوهش تلاش شده است با بررسی و اندازه‌گیری عوامل درگیر در کبد چرب با مداخله مکمل امگا ۳ و تمرینات تداومی درک بهتری از مسیرهای سوخت‌وسازی به‌دست آید. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تعیین تأثیر هشت هفته تمرین تداومی

همراه با دریافت امگا ۳ بر بیان برخی ناقلان اسید صفراوی و میزان اسیدهای صفراوی در بافت کبد موش‌های صحرایی نر با الگوی کبد چرب غیرالکلی القایی انجام گرفت.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: این پژوهش از نوع پژوهش‌های تجربی با طرح پس آزمون شامل دو گروه کنترل (کنترل سالم و کنترل بیمار) و سه گروه تجربی (NAFLD+ تمرین تداومی، NAFLD+ تمرین تداومی+امگا ۳ و NAFLD+امگا ۳) بود. در این پژوهش ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (شش سر در هر گروه)، از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز با دامنه وزنی ۱۸۰-۲۰۰ گرم خریداری و نگهداری شد. موش‌ها در شرایط استاندارد (دمای ۲۲±۳ درجه سانتی‌گراد، چرخه ۱۲ ساعته روشنایی- تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذا و بر پایه شیوه‌نامه نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی و سازگاری با محیط جدید، موش‌های گروه کنترل سالم از رژیم غذایی استاندارد با ترکیب جیره روزانه و همیشگی بر پایه محتوای انرژی (چربی ۱۱ درصد، کربوهیدرات ۶۹ درصد، و پروتئین ۲۰ درصد) (خوراک پارس‌دام) تغذیه شدند. سایر موش‌های صحرایی به‌منظور القای NAFLD به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (۴۵ درصد چربی، ۳۶ درصد کربوهیدرات و ۱۹ درصد پروتئین) از شرکت رویان اصفهان و ۲۵ درصد سوکروز در آب آشامیدنی قرار گرفتند (۱۹).

روش اجرای پژوهش: به‌منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوار گردان، رت‌ها به مدت یک هفته، پنج روز در هفته و روزانه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر در دقیقه روی نوار گردان دویدند. اکسیژن

NAFLD استفاده شد (۲۱).

روش‌های آزمایشگاهی: در پایان دوره، به‌منظور از بین بردن اثر حاد تمرین، نمونه‌گیری‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ناشتایی شبانه انجام شد. پس از بی‌هوش کردن حیوانات با تزریق درون‌صفافی ترکیبی از زایلانین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و کتامین (۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن)، خون‌گیری از قلب انجام شد. نمونه‌ها به‌منظور جداسازی سرم به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم به‌دست‌آمده برای انجام مراحل آتی پژوهش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. همچنین کبد برداشته شده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بخشی از لوب میانی به‌منظور ارزیابی بافت‌شناسی در محلول فرمالین ۱۰ درصد به‌منظور تثبیت بافتی قرار داده شد.

سطوح سرمی نیمرخ لیپیدی (کلسترول، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین کم‌چگالی LDL و لیپوپروتئین پرچگالی HDL)، گلوکز خون و آنزیم‌های کبدی (ALT: آلانین آمینوترانسفراز، AST: آسپارات آمینوترانسفراز و ALP: فسفاتاز قللی) با استفاده از اتوانالایزر Hitachi 7600 (ژاپن) و کیت‌ها و بسته‌های آزمایشگاهی Biorex Fars، ایران اندازه‌گیری شد. حساسیت کیت‌ها برای کلسترول، تری‌گلیسیرید، LDL و HDL به‌ترتیب ۱، ۲، ۱ و ۱ mg/dL و ضریب تغییرات درون‌کیت (CV) کمتر از ۵ درصد بود. حساسیت کیت گلوکز ۲ mg/dL و ۴% CV و حساسیت بسته‌های آزمایشگاهی آنزیم‌های کبدی (ALT، AST، ALP)، ۲، ۳ و ۵ U/L با CV کمتر از ۵ درصد بود (بایورکس فارس^{۱۶}، ایران).

برای ارزیابی غلظت اسیدهای صفراوی در بافت کبد، ابتدا نمونه‌های بافت کبد با استفاده از هموژنایزر (Heidoplph، آلمان) با دور ۲۵۰۰ دور در دقیقه و با استفاده از بافر فسفات بر روی یخ هموژنیزه و پس از

مصرفی بیشینه حیوانات، به‌دلیل نبود ابزار اندازه‌گیری مستقیم، با استفاده از آزمون فزاینده روی نوار گردان برآورد شد. به‌طوری‌که ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد VO₂max انجام گرفت که این شدت بر پایه سرعت متناظر با درصدی از VO₂max برآورد شده در آزمون فزاینده نوار گردان تعیین شد. سپس موش‌های صحرایی با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت دو دقیقه شروع به دویدن کردند و هر دو دقیقه یک بار به میزان دو متر بر دقیقه تا سر حد واماندگی سرعت افزایش یافت. ناتوانی در دویدن روی نوار گردان و رفتن به فضای انتهایی نوار گردان به‌عنوان پیشینه توان تمرین در نظر گرفته شد. پس از به پایان رسیدن مرحله آشناسازی، سرعتی که موش‌های صحرایی در آن دویدند (آخرین سرعت در مرحله واماندگی) ثبت شد.

تمرین مداوم با شدت متوسط (MICT) بر پایه پژوهش‌های منتشرشده پیشین انجام گرفت (۲۰). جلسات تمرینی چهار روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام شد. شدت تمرین بر پایه درصدی از سرعت بیشینه حاصل از آزمون فزاینده نوار گردان تعیین شد. هر جلسه با گرم کردن پنج دقیقه‌ای با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آغاز می‌شد و به‌دنبال آن دویدن مداوم با سرعت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه و با سرعت ۱۸ تا ۲۲ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه انجام می‌شد. به‌منظور اعمال اضافه بار تدریجی، سرعت دویدن در طول دوره تمرین به‌تدریج افزایش یافت، به‌طوری‌که در هفته‌های نخست شدت تمرین در دامنه پایین‌تر (۱۸ متر در دقیقه) آغاز شد و تا پایان هفته هشتم به ۲۲ متر در دقیقه افزایش یافت، درحالی‌که مدت تمرین ثابت نگه داشته شد.

از مکمل امگا ۳ (Mega DHA® Vitafor، برزیل با ترکیب ۱۰٪ EPA و ۵۰٪ DHA) با دوز ۵۰۰ mg/kg به‌صورت گاوژ روزانه به مدت هشت هفته پس از القای

سانتریفیوژ در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه، مایع رویی جداسازی و برای ارزیابی مقادیر اسیدهای صفراوی استفاده شد. مقدار پروتئین در نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد. غلظت اسید کولیک و اسید کینودئوکسی کولیک اسید با استفاده از کیت ELISA مطابق با پروتکل شرکت سازنده (Cell Biolabs, Inc, USA) اندازه‌گیری شد. حساسیت کیت CA و CDCA به ترتیب ۰/۰۱ و ۰/۰۵ $\mu\text{g/mL}$ و ضریب تغییرات درون کیت (CV) کمتر از ۷ درصد بود. به منظور مطالعات میکروسکوپی، به روش معمول تهیه مقاطع بافتی، برش‌هایی به ضخامت ۵-۶ میکرومتر تهیه و با روش هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت، اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Nikon، YS100، ژاپن) با بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر به منظور ارزیابی تغییرات بافت‌شناسی، از جمله وجود سلول‌های التهابی، قطرات چربی در سلول‌های کبدی، خونریزی، آسیب سلولی و اتساع سینوزوئیدهای بین‌سلولی بررسی شدند (۳۸). تصاویر با استفاده از دوربین Microbion 10 و نرم‌افزار Microbion تهیه شد. به منظور ارزیابی بیان ناقلان صفراوی BSEP و NTCP از روش وسترن بلات استفاده شد. به منظور انجام وسترن بلات ابتدا نمونه‌ها با استفاده از بافر لیزکننده RIPA و با استفاده از هموژنایزر، هموژنیزه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی برای بررسی‌های آتی استفاده شد. مقدار پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد سنجیده شد. SDS-PAGE به روش متعارف با استفاده از ژل ۱۰ درصد و سازوکار بافری پیوسته انجام گرفت. پس از انجام SDS-PAGE نمونه‌ها با استفاده از روش متعارف و در دستگاه بلاتینگ (Padideh NowGene, Iran) به کاغذهای PVDF منتقل شد. آماده‌سازی کاغذها در بافر انتقال دو ساعت پیش از انجام آزمون انجام شد. پس از انتقال

نمونه‌ها به کاغذهای بلاتینگ انجام مراحل شست‌وشو و مسدودسازی با 5% Skimed milk انجام شد. به منظور ردیابی پروتئین‌های موردنظر از آنتی‌بادی اولیه پلی‌کلونال ضد پروتئین‌های BSEP (Santacruz) و NTCP (Biotechnology, Inc, sc-51815) با رقت ۱/۵۰۰ و آنتی‌بادی ثانویه پلی‌کلونال ضد IgG خرگوش کانزوگه با HRP استفاده شد. آشکارسازی با استفاده از کیت ECL (پارس‌طوس، ایران) و دستگاه FUSION FX (Vilber، آمریکا) انجام شد. از پروتئین GAPDH به عنوان کالیبراتور استفاده شد. ارزیابی نسبت چگالی باندهای پروتئین‌های هدف نسبت به GAPDH با استفاده از نرم‌افزار FUSION FX انجام گرفت و نتایج با واحد قراردادی و نسبت به بیان پروتئین کالیبراتور گزارش شد (۳۴).

تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه ۹ انجام شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شد. از آزمون شاپیرو ویلک برای تعیین وضعیت بهنجار توزیع داده‌ها و از آزمون لون برای اطمینان از برابری واریانس‌ها استفاده شد. از تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) برای بررسی تغییرات بین‌گروهی و همچنین از آزمون تعقیبی Tukey برای تشخیص تفاوت گروه‌های دوگانه استفاده شد. سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

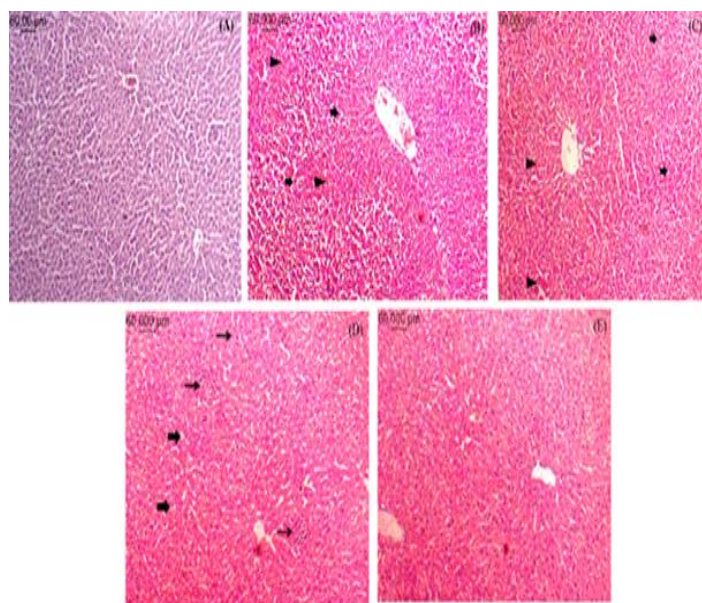
نتایج

ارزیابی هیستوپاتولوژیک

نتایج این پژوهش تغییرات معنادار و چشمگیری را در ساختار سلولی بافت کبد در موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب القایی نشان داد. هایپرتروفی سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) همراه با بزرگ شدن و یوکروماتینیزاسیون شدید هسته‌ها، بی‌نظمی طناب‌های کبدی به‌ویژه در اطراف ورید مرکزی همراه با اتساع مویرگ‌های سینوسی

MICT و مکمل امگا ۳ کاهش یافت. بهترین نتایج در گروه‌های NAFLD + مکمل امگا ۳ و NAFLD + مکمل امگا ۳ MICT + دیده شد. گفتنی است که این یافته تنها بر پایه بررسی کیفی نمونه‌های بافتی (مشاهده میکروسکوپی) و شدت ضایعات هیستولوژیک گزارش شده است، بنابراین، این نتایج باید به عنوان توصیف بصری (دیداری) و کیفی در نظر گرفته شوند (شکل ۱).

در این ناحیه و پرخونی، و وجود قطرات بزرگ چربی در سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها به شکل دژنراسیون میکرو و ماکروواکوئلی و تورم شدید همراه با نفوذ گسترده سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای و اتساع فضای سینوسی دیده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تغییرات پاتولوژیک دیده شده در گروه NAFLD پس از تمرین MICT، دریافت مکمل امگا ۳ و ترکیب تمرین



شکل ۱. تأثیر تمرین تداومی (MICT) و مکمل امگا ۳ بر ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک کبد موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب. (الف) گروه کنترل: بافت کبد بیشتر هپاتوسیت‌ها ساختار طبیعی دارند و هیچ عارضه خاصی ندارند؛ (ب) گروه کبد چرب: کبد متورم سلولی (دژنراسیون واکوئلی) با درصد شدید در هپاتوسیت‌ها (پیکان‌های سیاه) و پرخونی (پیکان‌ها) با نفوذ سلول‌های التهابی گسترده و اتساع فضای سینوسی؛ (ج) گروه کبد چرب + MICT: در بافت کبد تورم سلولی (دژنراسیون واکوئلار) (نشانگر انباشت لیپیدی) با درصد کمتر نسبت به گروه کبد چرب در هپاتوسیت‌ها (مشکی) و پرخونی و نفوذ متوسط سلول‌های التهابی مشاهده می‌شود؛ (د) گروه کبد چرب + مکمل امگا: تورم سلولی (دژنراسیون واکوئلی) (نشانگر انباشت چربی) با درصد متوسط در هپاتوسیت‌ها (پیکان سیاه ضخیم) و پرخونی بالا (نوک سیاه باریک) و وجود خفیف سلول‌های تک‌هسته‌ای؛ (ه) گروه کبد چرب + MICT + مکمل امگا ۳: در بافت کبد تورم سلولی (دژنراسیون واکوئلار) (نشانگر انباشت چربی) با درصد متوسط در هپاتوسیت‌ها (پیکان مشکی ضخیم) و پرخونی (نوک مشکی باریک) و حضور خفیف سلول‌های تک‌هسته‌ای مشاهده می‌شود. رنگ آمیزی H&E با بزرگ‌نمایی ۱۰۰×، نوار مقیاس = ۶۰ میکرومتر. NAFLD؛ بیماری کبد چرب غیرالکلی

نیمرخ سوخت‌وسازی، آنزیم‌های کبدی و

سطح اسیدهای صفراوی

HDL کاهش نشان داد ($P < 0.05$) که نشان‌دهنده اختلال سوخت‌وسازی ناشی از NAFLD بود. مداخلات درمانی شامل MICT، مکمل امگا ۳ و ترکیب آن‌ها به کاهش معنادار گلوکز، LDL، کلسترول و تری‌گلیسیرید منجر شد و HDL تا

در الگوی کبد چرب، شاخص‌های سوخت‌وسازی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید و LDL به‌طور معنادار و چشمگیری افزایش یافتند، در حالی‌که

اندازه‌ای بهبود یافت، با بیشترین اثر در گروه ترکیبی MICT+ امگا ۳.

همچنین آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP در گروه کبد چرب به طور معنادار و چشمگیری افزایش یافتند ($P < 0.05$)، درحالی‌که مداخلات درمانی سبب کاهش معنادار آن‌ها شد. اسیدهای صفراوی کولیک

و کینو دوکسی کولیک نیز در گروه کبد چرب افزایش و با مداخلات به‌ویژه ترکیبی، به‌طور معناداری کاهش یافتند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ترکیب تمرین MICT و مکمل امگا ۳ بیشترین اثر محافظتی را بر سوخت‌وساز گلوکز و لیپید، عملکرد آنزیم‌های کبدی و تنظیم اسیدهای صفراوی دارد (جدول ۱).

جدول ۱. تأثیرات MICT و مکمل امگا ۳ بر شاخص‌های سوخت‌وسازی، آنزیم‌های کبدی و اسیدهای صفراوی (میانگین $\pm$ SD)

متغیر	کنترل	NAFLD	NAFLD + MICT	NAFLD + OM3	NAFLD + MICT + OM3
گلوکز (mg/dl)	۸۹/۷۶ $\pm$ ۳/۰۵	۱۸۰ $\pm$ ۱۲/۱۲*	۱۵۵ $\pm$ ۱۴†	۱۴۵ $\pm$ ۷‡	۱۱۸/۷ $\pm$ ۸/۳۲§
کلسترول (mg/dl)	۸۴/۳۳ $\pm$ ۷/۰۹	۱۹۳/۳ $\pm$ ۱۶/۶۲*	۱۵۳/۳ $\pm$ ۱۰/۹۷†	۱۲۰ $\pm$ ۱۲/۵۳‡	۱۰۶/۷ $\pm$ ۱۱/۲۴§
تری‌گلیسیرید (mg/dl)	۵۷/۳۸ $\pm$ ۷/۰۸	۲۵۵/۳ $\pm$ ۸/۲۸*	۲۰۲/۴ $\pm$ ۲۱/۷۸†	۱۷۹/۷ $\pm$ ۱۰/۸۹‡	۱۱۱/۸ $\pm$ ۱۲/۴۹§
LDL (mg/dl)	۲۵/۳۸ $\pm$ ۴/۳۲	۹۲/۵۷ $\pm$ ۱۳/۶۳*	۶۹/۲۵ $\pm$ ۲/۵۸†	۵۵/۸۹ $\pm$ ۶/۲۰‡	۵۰/۳۳ $\pm$ ۰/۷۷§
HDL (mg/dl)	۴۶/۳۳ $\pm$ ۴/۷۲	۲۹ $\pm$ ۴/۵۸*	۳۴/۳۳ $\pm$ ۲/۰۸†	۴۱ $\pm$ ۳‡	۳۹/۳۳ $\pm$ ۳/۰۵§
ALT (U/l)	۳۴/۳۳ $\pm$ ۳/۷۸	۱۸۴/۷ $\pm$ ۲۶/۶۳*	۱۴۶ $\pm$ ۷/۰۶†	۱۱۴ $\pm$ ۷‡	۸۹/۳۳ $\pm$ ۱۱/۰۵§
AST (U/l)	۸۶/۶۷ $\pm$ ۷/۷۶	۲۴۸/۳ $\pm$ ۲۲/۵*	۱۶۲/۷ $\pm$ ۷/۳۷†	۱۴۰/۷ $\pm$ ۸/۵‡	۱۱۷/۷ $\pm$ ۱۵/۶۳§
ALP (U/l)	۱۳۷ $\pm$ ۲/۶۴	۲۸۲/۷ $\pm$ ۱۶/۵۰*	۲۰۷/۳ $\pm$ ۱۲/۳۴†	۱۹۰/۳ $\pm$ ۱۱/۵۹‡	۱۶۵ $\pm$ ۷/۸۱§
کولیک اسید ($\mu\text{mol/mg}$)	۷۴/۹۶ $\pm$ ۸/۳۷	۲۷۳/۵ $\pm$ ۳۰/۲۴*	۱۹۰/۴ $\pm$ ۱۱/۱۲†	۱۶۳/۶ $\pm$ ۸/۲۵‡	۱۱۵/۷ $\pm$ ۷/۲۴§
کینودوکسی کولیک اسید ($\mu\text{mol/mg}$)	۲/۱۱ $\pm$ ۰/۵۸	۶/۳ $\pm$ ۰/۹*	۴/۰۷ $\pm$ ۰/۵۴†	۳/۷۶ $\pm$ ۰/۱۵‡	۲/۷۹ $\pm$ ۰/۲۸§

علامت:

* $P < 0.05$ نسبت به کنترل

† $P < 0.05$ نسبت به NAFLD

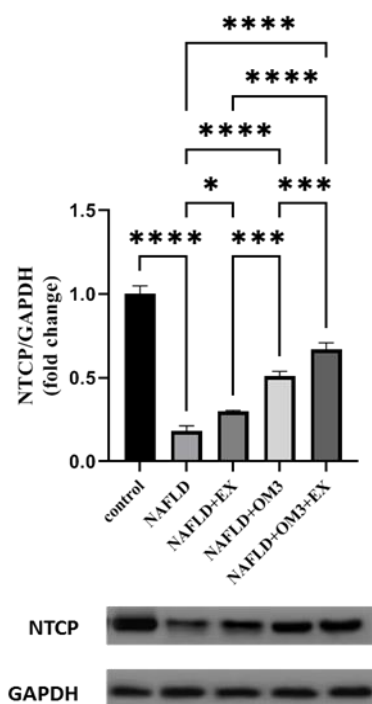
‡ $P < 0.05$ نسبت به NAFLD + MICT

§ $P < 0.05$ نسبت به NAFLD + OM3

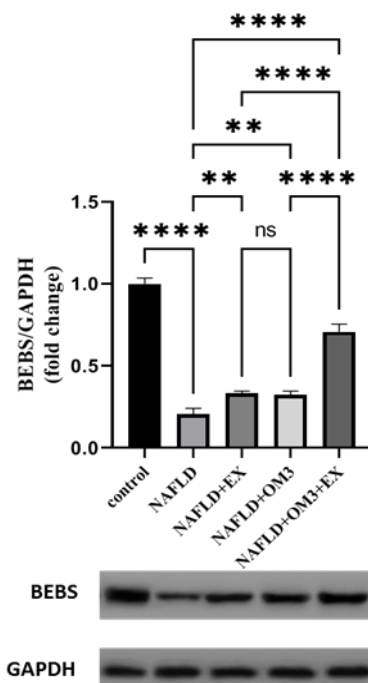
بیان ناقلان اسیدهای صفراوی در بافت کبد

یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان بیان پروتئین NTCP در بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور معناداری کاهش یافته بود ($P < 0.001$). تجویز مکمل امگا-۳ به‌تنهایی (گروه NAFLD+Om3) و همچنین ترکیب آن با تمرین تداومی (گروه NAFLD+Exe+Om3) به افزایش معنادار بیان پروتئین NTCP نسبت به گروه NAFLD منجر شد ($P = 0.003$) و $P = 0.002$ ، به‌ترتیب). افزون بر این، تمرین تداومی به مدت هشت هفته نیز بیان NTCP را در گروه NAFLD+Exe نسبت به گروه NAFLD به‌طور معنادار

و چشمگیری افزایش داد ($P = 0.007$) (شکل ۲). بررسی بیان پروتئین BSEP در بافت کبد نشان داد که میزان بیان این پروتئین در گروه NAFLD نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معناداری داشته است ($P < 0.001$). تجویز مکمل امگا-۳ و تمرین تداومی به‌تنهایی موجب افزایش بیان BSEP در گروه‌های NAFLD+Om3 و NAFLD+Exe نسبت به گروه NAFLD شد (به‌ترتیب $P = 0.018$ و $P = 0.025$). ترکیب تمرین تداومی و مکمل امگا-۳ (گروه NAFLD+Exe+Om3) نیز بیشترین افزایش بیان BSEP را نسبت به گروه NAFLD ایجاد کرد ($P < 0.001$) (شکل ۳).



شکل ۲. میزان بیان پروتئین NTCP در بافت کبد (نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده است؛ گروه‌ها شامل کنترل سالم (Control)، کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)، کبد چرب با تمرین (NAFLD+Exe)، کبد چرب با مکمل امگا-۳ (NAFLD+Om3) و کبد چرب با تمرین و مکمل (NAFLD+Exe+Om3) هستند. اختلاف آماری معنادار بین گروه‌ها با علامت‌های *، **، *** و **** به ترتیب با سطوح معناداری $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ و $P < 0.0001$ مشخص شده است.



شکل ۳. میزان بیان پروتئین BSEP در بافت کبد (نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده است؛ در هر گروه. گروه‌ها مشابه توضیح نمودار ۱ هستند. سطوح معناداری با علامت‌های *، **، *** و **** به ترتیب نشان‌دهنده مقادیر $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ و $P < 0.0001$ هستند.

بحث و نتیجه گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که القای بیماری کبد چرب غیرالکلی در موش‌های صحرایی موجب بروز تغییرات شدید هیستوپاتولوژیک در بافت کبد، از جمله دژنراسیون چربی (میکرو و ماکروواکوئلی)، هایپرتروفی سلول‌های کبدی، اختلال در آرایش طناب‌های هپاتوسیستی، اتساع سینوزوئیدها و نفوذ گسترده سلول‌های التهابی شد. این تغییرات نشان‌دهنده اختلال جدی در عملکرد کبد و آغاز پاسخ‌های التهابی وابسته به انباشت بیش از اندازه لیپیدهاست که از ویژگی‌های اصلی NAFLD محسوب می‌شود. ورزش مداوم با شدت متوسط و مکمل‌سازی امگا-۳ هر دو به‌طور مستقل و جداگانه موجب بهبود چشمگیر ساختار بافتی کبد شدند، به‌گونه‌ای که میزان انباشت چربی، التهاب و نکرور سلولی کاهش یافت. این یافته با یافته‌های پژوهشی پیشین همخوانی دارد که نشان داده‌اند فعالیت بدنی منظم می‌تواند با افزایش اکسایش اسیدهای چرب، بهبود حساسیت به انسولین و کاهش فشار اکسایشی، آسیب‌های بافتی ناشی از NAFLD را کاهش دهد. از سوی دیگر، امگا-۳ با دارا بودن ویژگی ضدالتهابی و تنظیم بیان ژن‌های درگیر در سوخت‌وساز چربی، مانند SREBP-1c و PPAR α ، نقش مهمی در کاهش انباشت چربی در کبد دارد. گمان می‌رود که اثر هم‌افزایی دیده‌شده در گروه ترکیبی MICT + امگا-۳ ناشی از تعامل مثبت بین تأثیرات فیزیولوژیکی ورزش و خواص ضدالتهابی و لیپوتروپیک امگا-۳ است. در این گروه، نه‌تنها شاخص‌های بافتی کبدی بهبود یافت، بلکه نیم‌رخ سوخت‌وسازی و سطوح آنزیم‌های کبدی (ALT، AST و ALP) نیز به‌طور معناداری کاهش یافتند. کاهش همزمان در گلوکز، تری‌گلیسیرید و کلسترول نشان می‌دهد که این مداخله دوگانه می‌تواند مسیرهای سوخت‌وسازی کلیدی در NAFLD را تنظیم کند. یکی از یافته‌های شایان توجه این پژوهش، تغییر بیان

ناقلان اسیدهای صفراوی (NTCP و BSEP) در پاسخ به مداخلات بود. کاهش بیان این ناقلان در گروه NAFLD بیانگر اختلال در ورود و خروج اسیدهای صفراوی در هپاتوسیت‌هاست که می‌تواند سبب انباشت صفراوی و التهاب بافتی شود. در مقابل، تمرین مداوم و امگا-۳ موجب افزایش بیان NTCP و BSEP شدند که احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیر FXR/TGR5 و بهبود هومئوستاز اسیدهای صفراوی عمل کرده است. در گروه ترکیبی، افزایش همزمان در بیان این ناقلان و کاهش سطح اسیدهای کولیک و CDCA در بافت کبد، بیانگر بازیابی نسبی تعادل صفراوی و عملکرد طبیعی کبد بود.

یافته‌های ناهمسو و متناقضی درباره تأثیر ورزش و امگا ۳ بر عوامل سوخت‌وسازی منتشر شده است. برخلاف یافته‌های پژوهش حاضر، مختاری و همکاران (۲۰۲۱) هیچ تغییری در سطح آنزیم‌های کبدی ALT و AST پس از هشت هفته تمرین مداوم مشاهده نکردند (۲۳). در همین زمینه یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج میراحمد و همکاران (۲۰۱۶) ناهمسوست، زیرا آنان نشان دادند که ورزش هوازی مداوم تأثیری بر نشانگرهای سوخت‌وسازی اصلی سرم شامل LDL، TG، HDL، CHOL ندارد. در مقابل، یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج سینی و همکاران (۲۰۲۲) همسوست، به‌طوری‌که آنان نیز گزارش کردند که سطح سرمی مایونکتین، انسولین، گلوکز و آنزیم‌های ALT و AST در موش‌های مبتلا به NAFLD پس از هشت هفته تمرین هوازی مداوم (پنج جلسه دویدن روی نوار گردان با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO₂max در هفته) در مقایسه با موش‌های کنترل (سالم) سطح سرمی کمتر است (۲۴). همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، شمس‌الدینی و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که ورزش هوازی سبب بهبود چشمگیری در سطح سرمی ALT و AST، مقاومت به انسولین و درصد چربی بدن در مردان مبتلا

به بیماری کبد چرب غیرالکلی می‌شود (۲۵). در مقابل، یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج دوریس^{۱۷} و همکاران (۲۰۰۸) همخوانی نداشت. آنان گزارش کردند که سطح ALT در مردان چاق تحت تأثیر ۱۲ هفته ورزش هوازی قرار نمی‌گیرد. اگرچه سازوکارهای دقیق کاهش آنزیم‌های کبدی مشخص نیست، اما گمان می‌رود که کاهش وزن و به‌ویژه کاهش درصد چربی بدن راهبرد سودمندی برای افزایش نشانگرهای آنزیم کبدی است (۲۶). این پژوهش نشان داد که ورزش هوازی مداوم به کاهش وزن در موش‌های مبتلا به NAFLD منجر شده و احتمالاً این کاهش وزن سبب بهبود آنزیم‌های کبدی شده است.

همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، خاقانی و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند که گروهی از بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی دارای اضافه وزن که شش هفته تمرین هوازی مداوم (۲۰ دقیقه دویدن با شدت ۷۰ تا ۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه) در مقایسه با گروه کنترل به‌طور چشمگیری سطح سرمی پایین‌تری از AST، ALT و ALP و نیمرخ لیپیدی و درجه سونوگرافی کبد داشتند (۲۷). یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج گیو^{۱۸} و همکاران (۲۰۱۵) نیز همسوست. آنان گزارش کردند که در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی، ورزش هوازی می‌تواند آنزیم‌های کبدی را کاهش دهد (۲۸).

یافته‌های این پژوهش با یافته‌های فراتحلیل اخیر تارق عزیز و همکاران (۲۰۲۴) همسوست؛ به‌طوری‌که آن‌ها نشان دادند که سطح گاما گلوتامیل ترانسفراز، ALT و AST پس از دریافت مکمل امگا ۳ به‌طور معنادار و چشمگیر کاهش می‌یابد. نیمرخ لیپیدی سرم در الگوهای حیوانی به‌طور چشمگیری بهبود یافت و کاهش زیادی در ALP و همچنین کاهش TG، LDL و Cho نشان داد (۲۲). در پژوهش‌های فراوان نشان داده شده است که مکمل امگا ۳ به‌طور شایان توجهی نیمرخ

لیپیدی خون را بهبود می‌بخشد (۲۹،۳۰). همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، فراتحلیل لی و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داد که اسیدهای چرب چندغیراشباع امگا-۳^{۱۹} به‌طور معنادار و چشمگیری سطح پلاسمایی BMI، کلسترول تام (TC)، تری‌گلیسیرید (TG) و HDL در بیماران مبتلا به کبد چرب افزایش می‌یابد (۳۱). همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، خورشیدی و همکاران (۲۰۲۳) با انجام یک پژوهش فراتحلیلی بر گرفته از ۱۴ پژوهش کارآزمایی بالینی به کاهش کلی و چشمگیر سطح TG پس از دریافت مکمل‌های امگا ۳ اشاره کردند. با این همه، این اثر با ناهمگونی زیادی همراه بود. بر پایه تجزیه و تحلیل زیرگروه‌ها، کاهش TG در افرادی چشمگیرتر بود که ۱۳ سال یا کمتر سن داشتند و افرادی که هیپرتری‌گلیسیریدمی داشتند (۳۲).

تمرین ورزشی سازماندهی ساختاری سلول‌های کبدی را تغییر می‌دهد و بر مسیرهای دخیل در گلوکونئوز و سوخت‌وساز لیپید تأثیر می‌گذارد. کاهش آنابولیسم چربی و افزایش کاتابولیسم چربی می‌تواند از عوامل مؤثر در بهبود فنوتیپ استئاتوز و کاهش محتوای لیپید کبد باشد. ورزش مداوم شاید محتوا یا عملکرد میتوکندری (افزایش فعالیت سیتрат سنتاز، گیرنده هورمون تیروئید، سیتوکروم c اکسیداز و کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز) را بهبود ببخشد (۳۳). افزون بر این، یکی از سازوکارهای بالقوه و نهفته برای کاهش وزن بدن، چربی احشایی و چربی کبدی، افزایش استفاده از سوبستراهای لیپیدی برای انرژی در طول استراحت یا ورزش است. پیام‌رسانی انسولین و جذب گلوکز از طریق انباشت لیپیدهای درون سلولی در ماهیچه اسکلتی دچار اختلال می‌شود. مقاومت به انسولین و هیپرانسولینمی جبرانی ناشی از این امر است که در نهایت سبب می‌شود کبد اسید چرب بیشتری دریافت کند. طبق نتایج تحقیقی ورزش منظم در مدت زمان طولانی، حساسیت به

انسولین را بهبود می‌بخشد که پیامدهایی برای هومئوستاز گلوکز دارد (۳۴). به عبارت دیگر، ورزش با افزایش توده عضلانی و افزایش میزان ناقل گلوکز (GLUT4) در داخل سلول‌های عضلانی، پاسخ به انسولین را افزایش می‌دهد.

انباشت تری‌گلیسیرید و در پی آن افزایش فشار اکسایشی، سیتوکین‌های التهابی و فیبروز کبدی، از علل اصلی و مهم شروع و پیشرفت کبد چرب غیرالکلی است (۳۵). نیمرخ نامناسب چربی خون که شامل افزایش کلسترول تام و LDL و کاهش HDL می‌شود، یکی از عوامل خطر برای ایجاد NAFLD است و انباشت بافت چربی عامل مهمی در ایجاد آن است. بنابراین، یکی از اهداف درمانی این بیماری، اصلاح چربی خون از طریق روش‌های غیردارویی است. فعالیت هوازی مؤثرترین روش غیردارویی برای کاهش کلسترول تام خون و بهبود نیمرخ چربی خون است. کلسترول تام خون را می‌توان با ورزش هوازی مداوم به‌طور مؤثر کاهش داد (۳۶).

نتایج این پژوهش نشان داد اگرچه مکمل امگا ۳ و ورزش هوازی مداوم، چه به‌صورت جداگانه و چه به‌صورت ترکیبی، عوامل سوخت‌وسازی، آنزیم‌های کبدی و سطح اسیدهای صفراوی را بهبود می‌بخشند، اما ترکیب ورزش مداوم و مکمل امگا ۳ به کاهش چشمگیرتری در این شاخص‌ها در مقایسه با هریک از مداخلات به‌تنهایی منجر شد.

نتایج بررسی وسترن بلات نشان داد که در موش‌های مبتلا به NAFLD بیان پروتئین‌های NTCP و BSEP در بافت کبد نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج پژوهش‌های اخیر درباره افزایش بیان YY1 در NAFLD همسوست؛ به‌گونه‌ای که گزارش شده است بیان YY1 در موش‌های چاق و بیماران NAFLD افزایش می‌یابد (۳۷). افزون بر این، در الگوهای حیوانی، YY1 از طریق یک عامل

هسته‌ای کبدی دیگر به نام FXR سبب هپاتواستاتوز و مقاومت به انسولین می‌شود. FXR به‌عنوان یک گیرنده هسته‌ای سوخت‌وسازی که ابتدا به‌عنوان تنظیم‌کننده کلیدی هومئوستاز کلسترول و اسیدهای صفراوی شناخته شد، به‌طور گسترده در کبد، روده و کلیه بیان می‌شود. افزون بر این، FXR یک عامل رونویسی کلیدی در کنترل سوخت‌وساز لیپید و گلوکز کبد همسو با نتایج این پژوهش، به‌تازگی نشان داده است که بیان NTCP در بافت کبد با افزایش درجه NAFLD کاهش می‌یابد. FXR به‌عنوان مهم‌ترین عامل رونویسی کنترل‌کننده رونویسی گیرنده‌ها و ناقلان اسیدهای صفراوی، با سرکوب رونویسی NTCP، جذب اسید صفراوی توسط کبد را مهار می‌کند (۳۸، ۳۹). تصور می‌شود مسیرهای FXR/SHP و FXR/FGF19/FGFR4 تنظیم‌کننده‌های منفی مهم و ارزنده ساخت اسیدهای صفراوی باشند (۳۴).

تغییرات در بیان گیرنده‌های اسید صفراوی مانند NTCP و BSEP نقش مهم و ارزنده‌ای در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های کبدی مانند NAFLD ایفا می‌کنند. NTCP یک ناقل مهم برای جذب اسیدهای صفراوی در هپاتوسیت‌هاست، درحالی‌که BSEP مسئول ترشح اسیدهای صفراوی به داخل صفراست. در الگوهای حیوانی NAFLD، کاهش بیان این ناقلان صفراوی به انباشت اسیدهای صفراوی در کبد و افزایش التهاب و فشار اکسایشی منجر می‌شود که از عوامل اصلی در پیشرفت بیماری‌های کبدی مانند NAFLD هستند.

یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج تحقیقات متعددی همسوست که نشان داده‌اند تغییرات در بیان این ناقلان در کبد تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند رژیم غذایی، سن و مداخلات دارویی قرار دارند. در تأیید یافته‌های پژوهش حاضر چنگ^{۲۰} و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که تأثیر کاهش یا افزایش در بیان NTCP و BSEP در الگوهای مختلف بیماری کبدی بررسی و

نشان داده شد که کاهش بیان این گیرنده‌ها می‌تواند به انباشت چربی و آسیب‌های بیشتر کبدی منجر شود (۴۰). در این زمینه مداخلات سوخت‌وسازی مانند تمرین ورزشی و دریافت مکمل‌های امگا-۳ به‌عنوان راهبردهای غیردارویی برای بهبود عملکرد کبد و تنظیم هومئوستاز اسید صفراوی مطرح شده‌اند. یافته‌های این پژوهش نیز نشان داد که تمرین ورزشی تداومی (MICT) و مکمل‌سازی با امگا-۳ تأثیر چشمگیری در بهبود تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد داشتند و سطح بیان NTCP و BSEP را به‌طور معناداری افزایش دادند. به‌نظر می‌رسد این تغییرات از طریق تنظیم مسیرهای مولکولی مانند FXR و TGR5 تأثیرگذار باشند. این تفسیر با یافته‌های پژوهش حاضر و تحقیقات پیشین همسوست، زیرا پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که اثر ورزش و دریافت مکمل امگا ۳ بر تحریک این عوامل که وابسته به رونویسی ناقلان مورد بررسی، تأیید شده است (۱۳، ۱۸). مسیر FXR به‌ویژه در تنظیم بیان NTCP و BSEP نقش حیاتی دارد و گمان می‌رود که فعالیت ورزشی و امگا-۳ از طریق فعال‌سازی این مسیر، سبب بهبود عملکرد این گیرنده‌ها در کبد می‌شود (۴۱). افزون بر این، امگا-۳ به‌عنوان یک ماده ضدالتهابی شناخته شده است که می‌تواند بیان ژن‌های درگیر در سوخت‌وساز چربی را تعدیل کرده و با کاهش التهاب و فشار اکسایشی، به بهبود عملکرد کبد و سوخت‌وساز اسیدهای صفراوی کمک کند. ترکیب ورزش و امگا-۳ در این پژوهش نتایج بهتری نسبت به هریک از این مداخلات به‌تنهایی نشان داد که این امر تأکید بر تأثیرات هم‌افزایی این دو مداخله دارد.

یکی از محدودیت‌های این پژوهش استفاده نکردن از دارونما در گروه‌های بدون دریافت مکمل امگا-۳ بود. هرچند گروه‌های کنترل و NAFLD در شرایط یکسان نگهداری شدند، اما گمان می‌رود نبود گاواژ دارونما (با تأثیر عوامل وابسته به فرایند گاواژ، مانند تنش مکانیکی

یا پاسخ‌های فیزیولوژیک وابسته به آن) بر برخی داده‌ها و یافته‌های به‌دست‌آمده اثر منفی و مخدوش‌کننده‌ای داشته باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در بررسی‌ها و پژوهش‌های آینده، به‌منظور کنترل تأثیرات احتمالی گاواژ، گروه‌های کنترل و تمرین نیز دارونمای مناسب دریافت کنند.

روی‌هم‌رفته یافته‌های این پژوهش نشان داد که تغییرات در بیان ناقلان اسید صفراوی NTCP و BSEP نقش مهم و برجسته‌ای در پیشرفت NAFLD دارند و مداخلات غیردارویی مانند ورزش و مکمل‌سازی امگا-۳ می‌توانند از طریق تغییر بیان این گیرنده‌ها یا مسیرهای مولکولی وابسته، به بهبود عملکرد کبد و سوخت‌وساز اسیدهای صفراوی کمک کنند. این یافته‌ها می‌توانند به‌عنوان مبنای پژوهش‌های آینده در زمینه بهبود راهبردهای درمانی و پیشگیری از NAFLD در نظر گرفته شوند.

کد اخلاق

این تحقیق مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و پروتکل آن توسط کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه شهید چمران اهواز تأیید شد (کد اخلاق: IR.SCU.REC.1404.069).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات استادان و تمام کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند تقدیر و تشکر می‌شود.

حمایت مالی

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه دکتر آقایی حمید محمدی در دانشگاه شهید چمران اهواز است و با حمایت مالی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده

¹⁶ Biorex Fars¹⁷ Devries¹⁸ GUO¹⁹ Omega-3 polyunsaturated fatty acids²⁰ Cheng

است.

منابع

1. Kokkorakis M, Boutari C, Katsiki N, Mantzoros CS. From non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) to steatotic liver disease (SLD): an ongoing journey towards refining the terminology for this prevalent metabolic condition and unmet clinical need. *Metabolism*. 2023;147:155–162. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2023.155710>
2. Le MH, Yeo YH, Zou B, Barnet S, Henry L, Cheung R, et al. Forecasted 2040 global prevalence of nonalcoholic fatty liver disease using hierarchical Bayesian approach. *Clin Mol Hepatol*. 2022;28(4):841–852. <https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0327>
3. Teng ML, Ng CH, Huang DQ, Chan KE, Tan DJ, Lim WH, et al. Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(Suppl):S32–S40. <https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0365>
4. Rinaldi L, Pafundi PC, Galiero R, Caturano A, Morone MV, Silvestri C, et al. Mechanisms of non-alcoholic fatty liver disease in the metabolic syndrome: a narrative review. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(2):270. <https://doi.org/10.3390/antiox10020270>
5. Bansal S, Vachher M, Arora T, Kumar B, Burman A. Visceral fat: a key mediator of NAFLD development and progression. *Hum Nutr Metab*. 2023;33:200210. <https://doi.org/10.1016/j.hnm.2023.200210>

مشارکت نویسندگان

حمید محمدی: طراحی پژوهش، اجرای آزمایش‌ها، جمع‌آوری داده‌ها، تحلیل داده‌ها، نگارش پیش‌نویس اولیه مقاله و بازنگری متن. روح‌اله رنجبر: ایده‌پردازی و طراحی پژوهش، نظارت بر اجرای تحقیق، تفسیر نتایج، بازنگری علمی و ویرایش نهایی مقاله. محمدرضا تابنده: مشارکت در طراحی پژوهش، مشاوره علمی، تفسیر نتایج و بازنگری انتقادی مقاله. عبدالحمید حبیبی: مشاوره علمی، مشارکت در تفسیر نتایج، بازنگری انتقادی مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله. همه نویسندگان نسخه نهایی مقاله را مطالعه، تأیید و مسئولیت محتوای آن را پذیرفته‌اند.

تعارض منافع

همه نویسندگان تأیید کردند که هیچ تضاد منافی در این پژوهش وجود ندارد.

بیانیه در دسترس بودن داده‌ها

داده‌های پشتیبان یافته‌های این پژوهش بنا به درخواست در دسترس هستند.

پی‌نوشت‌ها

- ¹ Non-alcoholic fatty liver disease
- ² Non-alcoholic steatohepatitis
- ³ Cholic acid
- ⁴ Chenodeoxycholic acid
- ⁵ Deoxycholic acid
- ⁶ Lithocholic acid
- ⁷ Sodium taurocholate co-transporting polypeptide; NTCP
- ⁸ Apical sodium-dependent bile acid transporter; ASBT
- ⁹ Farnesoid X receptor ;FXR
- ¹⁰ G protein-coupled bile acid receptor ;TGR5
- ¹¹ Bile salt export pump
- ¹² Moderate-intensity continuous training
- ¹³ Shi
- ¹⁴ Eicosapentaenoic
- ¹⁵ Docosahexaenoic

6. Wang YD, Chen WD, Yu D, Forman BM, Huang W. The G-protein-coupled bile acid receptor, Gpbar1 (TGR5), negatively regulates hepatic inflammatory response through antagonizing NF- κ B in mice. *Hepatology*. 2011;54(4):1421–1432. <https://doi.org/10.1002/hep.24525>
7. Arab JP, Karpen SJ, Dawson PA, Arrese M, Trauner M. Bile acids and nonalcoholic fatty liver disease: molecular insights and therapeutic perspectives. *Hepatology*. 2017;65(1):350–362. <https://doi.org/10.1002/hep.28709>
8. Fleishman JS, Kumar S. Bile acid metabolism and signaling in health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9(1):97. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01811-6>
9. Wang Y, Xu H, Zhou X, Chen W, Zhou H. Dysregulated bile acid homeostasis: unveiling its role in metabolic diseases. *Med Rev*. 2024;4(4):262–283. <https://doi.org/10.1515/mr-2024-0020>
10. Chavez-Talavera O, Tailleux A, Lefebvre P, Staels B. Bile acid control of metabolism and inflammation in obesity, type 2 diabetes, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2017;152(7):1679–1694.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.01.055>
11. Fiorucci S, Distrutti E, Carino A, Zampella A, Biagioli M. Bile acids and their receptors in metabolic disorders. *Prog Lipid Res*. 2021;82:101094. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101094>
12. Jiménez-Maldonado A, García-Suárez PC, Rentería I, Moncada-Jiménez J, Plaisance EP. Impact of high-intensity interval training and sprint interval training on peripheral markers of glycemic control in metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(8):165820. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165820>
13. Shi J, Cui J, Zheng T, Han X, Wang B, Wang W, et al. Comparative effects of aerobic and resistance exercise on bile acid profiles and liver function in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*. 2025;25(1):239. <https://doi.org/10.1186/s12876-025-03826-x>
14. Lu W, Li S, Li J, Wang J, Zhang R, Zhou Y, et al. Effects of omega-3 fatty acid in nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Gastroenterol Res Pract*. 2016;2016:1459790. <https://doi.org/10.1155/2016/1459790>
15. Hishikawa D, Yanagida K, Nagata K, Kanatani A, Iizuka Y, Hamano F, et al. Hepatic levels of DHA-containing phospholipids instruct SREBP1-mediated synthesis and systemic delivery of polyunsaturated fatty acids. *iScience*. 2020;23(9):101495. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101495>
16. Chen CC, Ho CY, Chaung HC, Tain YL, Hsieh CS, Kuo FY, et al. Fish omega-3 fatty acids induce liver fibrosis in the treatment of bile duct-ligated rats. *Dig Dis Sci*. 2013;58(2):440–447. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2376-8>
17. Lee S, Kim S, Le HD, Meisel JA, Strijbosch RA, Nose V, et al. Reduction of hepatocellular injury after common bile duct

- ligation using omega-3 fatty acids. *J Pediatr Surg.* 2008;43(11):2010–2015. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2008.05.041>
18. Cieslak A, Trottier J, Verreault M, Milkiewicz P, Vohl MC, Barbier O. N-3 polyunsaturated fatty acids stimulate bile acid detoxification in human cell models. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2018;2018:6031074. <https://doi.org/10.1155/2018/6031074>
19. Picchi MG, Mattos AM, Barbosa MR, Duarte CP, Gandini MA, Portari GV, et al. A high-fat diet as a model of fatty liver disease in rats. *Acta Cir Bras.* 2011;26(Suppl 2):25–30. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502011000800005>
20. Keating SE, Johnson NA, Mielke GI, Coombes JS. A systematic review and meta-analysis of interval training versus moderate-intensity continuous training on body adiposity. *Obes Rev.* 2017;18(8):943–964. <https://doi.org/10.1111/obr.12536>
21. Khadke S, Mandave P, Kuvalekar A, Pandit V, Karandikar M, Mantri N. Synergistic effect of omega-3 fatty acids and oral-hypoglycemic drug on lipid normalization through modulation of hepatic gene expression in high fat diet with low streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrients.* 2020;12(12):3652. <https://doi.org/10.3390/nu12123652>
22. Hristu R, Stanciu SG, Dumitru A, Paun B, Floroiu I, Costache M, et al. Influence of hematoxylin and eosin staining on the quantitative analysis of second harmonic generation imaging of fixed tissue sections. *Biomed Opt Express.* 2021;12(9):5829–5843. <https://doi.org/10.1364/BOE.431908>
23. Mokhtari F, Talebi Garakani E, Nasiri K, Akbari A. Effect of silymarin supplementation and continuous and high intensity interval training on liver enzymes and histological modifications in rats with dexamethasone-induced nonalcoholic fatty liver disease. *Metab Exerc.* 2021;11(1):19–35. <https://doi.org/10.22088/jme.11.1.19> (In Persian)
24. Sini ZK, Afzalpour ME, Ahmadi MM, Sardar MA, Khaleghzadeh H, Gorgani-Firuzjaee S, et al. Comparison of the effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on indices of liver and muscle tissue in high-fat diet-induced male rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Egypt Liver J.* 2022;12(1):63. <https://doi.org/10.1186/s43066-022-00212-3>
25. Shamsoddini A, Sobhani V, Ghamar Chehreh ME, Alavian SM, Zaree A. Effect of aerobic and resistance exercise training on liver enzymes and hepatic fat in Iranian men with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepat Mon.* 2015;15(10):e31434. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.31434>
26. Devries MC, Samjoo IA, Hamadeh MJ, Tarnopolsky MA. Effect of endurance exercise on hepatic lipid content, enzymes, and adiposity in men and women. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16(10):2281–2288. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.358>
27. Tondpa Khaghani B, Dehkhoda MR, Amani Shalamzari S. Improvement of aerobic power and health status in overweight patients with non-alcoholic fatty liver disease with high intensity interval training. *Payavard Salamat.* 2019;13(1):71–80. (In Persian)

28. Guo R, Liong EC, So KF, Fung ML, Tipoe GL. Beneficial mechanisms of aerobic exercise on hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2015;14(2):139–144. [https://doi.org/10.1016/S1499-3872\(15\)60353-4](https://doi.org/10.1016/S1499-3872(15)60353-4)
29. Huang WC, Xu JW, Li S, Ng XE, Tung YT. Effects of exercise on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease and lipid metabolism in ApoE knockout mice. *Nutr Metab (Lond)*. 2022;19(1):10. <https://doi.org/10.1186/s12986-021-00645-8>
30. Muscella A, Stefano E, Marsigliante S. The effects of exercise training on lipid metabolism and coronary heart disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020;319(1):H76–H88. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00109.2020>
31. Lee CH, Fu Y, Yang SJ, Chi CC. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2020;12(9):2769. <https://doi.org/10.3390/nu12092769>
32. Khorshidi M, Hazaveh ZS, Alimohammadi-Kamalabadi M, Jamshidi S, Moghaddam OM, Olang B, et al. Effect of omega-3 supplementation on lipid profile in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutr J*. 2023;22(1):9. <https://doi.org/10.1186/s12937-023-00826-4>
33. Trefts E, Williams AS, Wasserman DH. Exercise and the regulation of hepatic metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;135:203–225. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.07.010>
34. Zhao X, An X, Yang C, Sun W, Ji H, Lian F. The crucial role and mechanism of insulin resistance in metabolic disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1149239. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1149239>
35. Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. *Sports Med*. 2014;44(2):211–221. <https://doi.org/10.1007/s40279-013-0110-5>
36. Lu Y, Ma Z, Zhang Z, Xiong X, Wang X, Zhang H, et al. Yin Yang 1 promotes hepatic steatosis through repression of farnesoid X receptor in obese mice. *Gut*. 2014;63(1):170–178. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303145>
37. Chiang JY, Ferrell JM. Discovery of farnesoid X receptor and its role in bile acid metabolism. *Mol Cell Endocrinol*. 2022;548:111618. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2022.111618>
38. Aguilar-Olivos NE, Carrillo-Córdova D, Oria-Hernández J, Sánchez-Valle V, Ponciano-Rodríguez G, Ramírez-Jaramillo M, et al. The nuclear receptor FXR, but not LXR, up-regulates bile acid transporter expression in non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol*. 2015;14(4):487–493. [https://doi.org/10.1016/S1665-2681\(19\)30833-5](https://doi.org/10.1016/S1665-2681(19)30833-5)
39. Cheng X, Buckley D, Klaassen CD. Regulation of hepatic bile acid transporters Ntcp and Bsep expression. *Biochem Pharmacol*. 2007;74(11):1665–1676. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.007>

40. Jiao TY, Ma YD, Guo XZ, Ye YF, Xie C. Bile acid and receptors: biology and drug discovery for nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Pharmacol Sin.* 2022;43(5):1103–1119.
<https://doi.org/10.1038/s41401-021-00814-4>
41. Ha SG, Park JH, Kim MY, Lee SJV. Brief guide to western blot assays. *Mol Cells.* 2025;48(12):100297.
<https://doi.org/10.1016/j.mocell.2025.100297>