



Original Article

Effect of Eight Weeks of Aerobic Training Combined with Resveratrol Consumption on the Expression of Telomeric Repeat Binding Factors 1 and 2 and Telomerase Reverse Transcriptase in Liver Tissue in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

Mohammad Falahati Shahabodini¹, Babisan Askari^{1*}, Saqqa Farajtabar Behrestaq¹

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

* **Corresponding author:** Babisan Askari, Department of Physical Education and Sport Sciences, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: Y.nazari53@gmail.com

DOI: [10.22034/cmja.15.3.192](https://doi.org/10.22034/cmja.15.3.192)

How to Cite this Article:

Falahati Shahabodini M, Askari B, Farajtabar Behrestaq S. Effect of Eight Weeks of Aerobic Training Combined with Resveratrol Consumption on the Expression of Telomeric Repeat Binding Factors 1 and 2 and Telomerase Reverse Transcriptase in Liver Tissue in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Complement Med J.* 2025;15(3): 192-203 DOI: [10.22034/cmja.15.3.192](https://doi.org/10.22034/cmja.15.3.192)

Received: 12 July 2025

Accepted: 13 August 2025

Keywords:

Aerobic training
NAFLD
Resveratrol
Telomeres 1 and 2

© 2025 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Age-related diseases (such as liver disease) are associated with relatively short telomeres, and severe telomere shortening is a prerequisite for reduced lifespan. The present study aimed to investigate the effect of eight weeks of aerobic training combined with resveratrol on the expression of telomere repeat splicing factor 1 and 2, and telomerase reverse transcriptase, in the liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

Methods: To conduct the present experimental study, 35 eight-week-old male Wistar rats were randomly divided into two groups: non-alcoholic fatty liver and control. Rats in the control group were fed a standard diet for 6 weeks, while rats in the experimental group were fed a high-fat diet for 6 weeks to induce NAFLD. The rats in the patient group were again divided into four experimental subgroups: NAFLD, NAFLD-training, Non-alcoholic fatty liver-resveratrol, and NAFLD-training-resveratrol. The rats in the exercise group performed an eight-week (5 days a week) aerobic interval training program. Mice in the supplement group were injected intraperitoneally with 20 mg/kg of resveratrol daily for eight weeks. Forty-eight hours after the completion of the research protocol, gene expression levels in liver tissue were measured using Real-time PCR. Finally, to compare the mean changes of the research variables, one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used at a significance level of $P < 0.05$.

Results: The results showed a significant increase in the rate of changes in telomeric repeat binding factor 1 and telomerase reverse transcriptase expression in NAFLD groups ($P=0.0001$) and a significant decrease in the rate of changes in telomeric repeat binding factor 2 expression in NAFLD groups ($P=0.0001$) compared to the control group. Moreover, a significant decrease in the rate of changes in telomeric repeat binding factor 1 expression was observed in the NAFLDT ($P=0.042$) and NAFLDTRSV ($P=0.0001$) groups compared to NAFLD. A significant increase in the rate of changes in telomeric repeat binding factor 2 expression was observed in the NAFLDT ($P=0.030$), NAFLDRSV ($P=0.020$), and NAFLDTRSV ($P=0.0001$) groups compared to the NAFLD group. Furthermore, a significant decrease in telomerase reverse transcriptase expression was observed in the NAFLDT ($P=0.040$), NAFLDRSV ($P=0.049$), and NAFLDTRSV ($P=0.0001$) groups compared to the NAFLD group.

Conclusion: Considering the role of shelterins and telomerases in cellular function, it seems that changing the levels of these indicators following physical activity and the use of resveratrol supplementation can partially prevent the occurrence of many liver diseases caused by NAFLD.

INTRODUCTION

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is becoming one of the most common chronic liver diseases worldwide, but there is currently no treatment approved by the U.S. Food and Drug Administration. Previous studies have shown that telomeres and telomerase play a role in the initiation and progression of NAFLD (1). The association between telomerase mutations and the progression of chronic liver disease to cirrhosis may be due to decreased telomerase activity, resulting in impaired maintenance of telomere length (3). In advanced liver injury, telomere function is impaired, and mutations in telomerase complexes (including hTERT and hTERC) have been observed in patients with liver cirrhosis (4). TRF2-interacting protein (TRF2IP) is associated with TRF1 (7). It has been reported that the rate of telomere shortening is affected by psychological stress and exercise training (8).

Evidence suggests that antioxidants and anti-inflammatories can also slow the rate of telomere shortening during aging (13). Resveratrol may be effective in patients with liver disorders (15). It could also potentially prevent and improve NAFLD (16,17).

However, whether resveratrol consistently shows effects on NAFLD in vivo and in randomized clinical trials, as well as its precise mechanism of action, are critical questions that require confirmation and further research for its development.

Regarding the effect of physical exercise on NAFLD, research showed that aerobic training improved liver structural damage, pathological changes, and fat deposition in NAFLD rats (18,19).

Few studies have investigated the effects of exercise and resveratrol on factors that influence telomere changes. Although exercise and certain foods appear to increase telomere length, the mechanisms by which these factors occur are unknown.

Understanding the effects of aerobic exercise and supplements, such as resveratrol, on telomeres could provide a better understanding of the cellular mechanisms that affect diseases caused by NAFLD and be useful in preventing and developing diseases in these conditions.

Therefore, the present study aimed to investigate the effect of aerobic training and resveratrol on the expression of TRF1, TRF2, and TERT in liver tissue in rats with NAFLD.

METHODS

To conduct the present experimental study, 35 eight-week-old male Wistar rats were selected as samples and transferred to the research center. After the rats were transferred to the laboratory, induced

NAFLD, and familiarized with exercise on a treadmill for rodents, they were randomly divided into two groups: NAFLD patients and healthy controls.

The rats in the patient group were further divided into four experimental subgroups: NAFLD: non-alcoholic fatty liver, NAFLDT: non-alcoholic fatty liver-exercise, NAFLDRSV: non-alcoholic fatty liver-resveratrol, and NAFLDTRSV: non-alcoholic fatty liver-exercise-resveratrol. The rats in the exercise group performed an eight-week (five days a week) aerobic exercise program, while the other rats did not participate in any exercise program (21).

For resveratrol supplementation, 1 g of resveratrol powder (Nutrabo, USA, with pharmacological grade and purity of 99.87%) was prepared as a stock at a concentration of 10 mg/mL (22).

Moreover, 48 hours after the last training session, and 12 to 14 hours of fasting, all animals were anesthetized with an intraperitoneal injection of a combination of ketamine (30-50 mg/kg body weight) and xylazine (3-5 mg/kg body weight).

Immediately after isolation and washing with saline, the tissue was immediately placed in tubes containing RNA later to prevent RNA degradation, transferred to liquid nitrogen, and then stored in a refrigerator at -80°C until measurement.

Finally, descriptive statistics (mean and standard deviation) and inferential statistics (Shapiro-Wilk, Levine, one-way analysis of variance, and Tukey's post hoc test) were used to statistically analyze the data using SPSS statistical software version 26 at a significance level of $P \leq 0.05$.

RESULTS

Data analysis indicated that there was a significant increase in the rate of changes in TRF1 expression in the NAFLD groups ($P=0.0001$) compared to the control group. Moreover, a significant decrease was observed in the NAFLDT ($P=0.042$) and NAFLDTRSV ($P=0.0001$) groups compared to NAFLD.

The results further demonstrated that a significant decrease in the amount of changes in TRF2 expression was observed in the NAFLD groups ($P=0.0001$) compared to CN. A significant increase was also observed in the NAFLDT ($p=0.030$), NAFLDRSV ($p=0.020$), and NAFLDTRSV ($p=0.0001$) groups compared to NAFLD; and NAFLDTRSV compared to the NAFLDT ($p=0.029$) and NAFLDRSV ($p=0.042$) groups.

The results also showed that there was a significant increase in the rate of changes in TERT expression in the NAFLD ($P=0.0001$), NAFLDT ($P=0.0001$), and NAFLDRSV ($P=0.0001$) groups compared to the control group. A significant decrease was observed in the NAFLDT ($P=0.040$), NAFLDRSV ($P=0.049$), and NAFLDTRSV ($P=0.0001$) groups compared to NAFLD; and in NAFLDTRSV compared to the NAFLDT ($P=0.047$) and

NAFLDRSV ($P=0.038$) groups.

CONCLUSION

Considering the roles of TRF1, TRF2, and TERT in cellular function, it appears that altering the levels of these markers following physical activity and resveratrol supplementation can partially prevent the development of various liver diseases associated with NAFLD.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study obtained ethical approval from the Faculty of Medical Sciences, Islamic Azad University, Sari Branch, Iran, with the ethics code IR.IAU.SARI.REC.1404.155.

Funding

There was no funding support.

Authors' Contributions

All authors participated in the design, implementation, data analysis, and writing of all parts of the research.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

This work was extracted from the master's thesis in the field of exercise physiology, Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Iran. The authors would like to express their sincere gratitude to all those who contributed to the conduct of this research.



اثر هشت هفته تمرین هوازی همراه با مصرف رزوراترول بر بیان عوامل اتصالی تکراری تلومر ۱ و ۲ و تلومراز ترانس کریپتاز معکوس بافت کبد در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

محمد فلاحتی شهاب‌الدینی^۱ ID، بابی‌سان عسکری^{۱*} ID، سقا فرج‌تبار بهرستاق^۱ ID

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران.

* نویسنده مسئول: بابی‌سان عسکری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران. ایمیل: b.askari.1359@iau.ac.ir

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۱
مقدمه: بیماری‌های مرتبط با سن (مانند بیماری کبدی) با تلومرهای نسبتاً کوتاه همراه بوده و کوتاه‌شدن شدید تلومرها زمینه‌ساز کاهش طول عمر است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی همراه با رزوراترول بر بیان عوامل اتصالی تکراری تلومر ۱ و ۲ و تلومراز ترانس کریپتاز معکوس بافت کبد در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی است.	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۲
روش کار: برای انجام تحقیق تجربی حاضر ۳۵ سر موش صحرایی در هشت هفته‌ای نژاد ویستار به‌طور تصادفی به دو گروه کبد چرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver) و کنترل (Control) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در گروه کنترل به مدت ۶ هفته تحت رژیم غذایی استاندارد قرار گرفتند، درحالی‌که جهت القای کبد چرب در موش‌ها، حیوانات به مدت ۶ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند. موش‌های صحرایی گروه بیمار مجدداً به ۴ زیرگروه تجربی تقسیم شدند که عبارت‌اند از: کبد چرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver disease)، کبد چرب غیرالکلی - تمرین (Non-alcoholic fatty liver disease-training)، کبد چرب غیرالکلی - رزوراترول (Non-alcoholic fatty liver-resveratrol)، و کبد چرب غیرالکلی - تمرین - رزوراترول (Non-alcoholic fatty liver disease-training-resveratrol). موش‌های صحرایی گروه تمرین، یک برنامه هشت هفته‌ای (۵ روز هفته) تمرین تناوبی هوازی را اجرا کردند. به موش‌های گروه مکمل روزانه ۲۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن رزوراترول به‌صورت درون صفاقی به مدت ۸ هفته تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از پروتکل تحقیق سطوح بیان ژنی در بافت کبد به روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد. درنهایت، برای بررسی مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای تحقیق از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $P < 0.05$ استفاده کردیم.	واژگان کلیدی: تمرین هوازی رزوراترول تلومر ۱ و ۲ NAFLD
یافته‌ها: نتایج نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان عوامل اتصالی تکراری تلومر ۱ و تلومراز ترانس کریپتاز معکوس در گروه‌های NAFLD ($p=0.0001$) و کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان عوامل اتصالی تکراری تلومر ۲ در گروه‌های NAFLD ($p=0.0001$) نسبت به گروه کنترل وجود دارد. همچنین، در میزان تغییرات بیان عوامل اتصالی تکراری تلومر ۱ کاهش معنی‌داری در گروه‌های NAFLDT ($p=0.042$) و NAFLDTRSV ($p=0.0001$) نسبت به NAFLD مشاهده شد. در میزان تغییرات بیان عوامل اتصالی تکراری تلومر ۲ افزایش معنی‌داری در گروه‌های NAFLDT ($p=0.030$)، NAFLDRSV ($p=0.020$) و NAFLDTRSV ($p=0.0001$) نسبت به گروه NAFLD مشاهده شد. همچنین، در میزان بیان تلومراز ترانس کریپتاز معکوس، کاهش معنی‌داری در گروه‌های NAFLDT ($p=0.040$)، NAFLDRSV ($p=0.049$) و NAFLDTRSV ($p=0.0001$) نسبت به گروه NAFLD مشاهده شد.	تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
نتیجه‌گیری: با توجه به نقش تلوزومها و تلومرازاها در عملکرد سلولی، به نظر می‌رسد تغییر سطوح این شاخص‌ها به‌دنبال فعالیت بدنی و استفاده از مکمل رزوراترول می‌تواند تاحدی از بروز بسیاری از بیماری‌های کبدی ناشی از NAFLD جلوگیری کند.	

دورشته‌ای از طریق تعامل با ACD متصل می‌شود (۷).

گزارش‌ها نشان داده‌اند سرعت کوتاه‌شدن تلومر تحت‌تأثیر استرس روانی و تمرینات ورزشی قرار می‌گیرد. استرس‌های روانی با کوتاه‌شدن سریع تلومر همراه بوده (۸)، درحالی‌که افرادی که در فعالیت‌های ورزشی منظم استقامتی شرکت کردند، تلومرهای لکوسیت طولانی‌تری نسبت به گروه کنترل غیرفعال دارند (۹). در همین جهت، سمرارو و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند فعالیت ورزشی با تأثیر بر TRF-1 در موش‌های (High fat diet/HFD) به بازسازی قلب کمک می‌کند (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر نیز نشان داده شده طول تلومرهای بلندتر ارتباط نزدیکی با میزان فعالیت افراد دارد و بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید بیشتر در ناحیه تلومر نسبت به افراد کم‌تربال مشاهده شد (۱۱). اگرچه بسیاری از مولکول‌های مؤثر بر طول تلومر شناخته شده‌اند، نقش آنها در حفظ طول تلومر به‌دنبال فعالیت ورزشی به‌خوبی بررسی نشده است. همچنین، چند پژوهش نشان داده‌اند فعالیت ورزشی به‌تنهایی و همراه با رژیم غذایی تأثیری بر طول تلومرها نداشته است (۱۲).

شواهد نشان می‌دهد آنتی‌اکسیدان‌ها و ضدالتهاب‌ها نیز می‌توانند سرعت کوتاه‌شدن طول تلومر را در کهن‌سالی کاهش دهند (۱۳). رزوراترول یک پلی‌فنول است که در گیاهان مختلفی مانند *Vitis vinifera*، *Cassia tora*، و *Polygonum cuspidatum* یافت می‌شود. درنتیجه، اثرات محافظتی کبدی رزوراترول در NAFLD توجه زیادی را در محیط‌های تجربی و بالینی به خود جلب کرده است (۱۴). رزوراترول می‌تواند در بیماران مبتلا به اختلالات کبدی مؤثر باشد (۱۵). همچنین، می‌تواند به‌طور بالقوه از NAFLD جلوگیری کرده و آن را بهبود بخشد (۱۶، ۱۷). باین‌حال، اینکه آیا رزوراترول اثرات ثابتی بر NAFLD در داخل بدن و در کارآزمایی‌های بالینی تصادفی‌سازی‌شده دارد یا خیر، و همچنین، مکانیسم دقیق اثر آن، سؤال‌هایی حیاتی هستند که نیاز به تأیید و پژوهش دارند. درباره تأثیر تمرینات بدنی بر بیماری کبد چرب غیرالکلی تحقیقات نشان داده‌اند تمرین هوازی باعث کاهش آسیب ساختاری کبد، تغییرات پاتولوژیک، و رسوب چربی در موش‌های NAFLD شد (۱۸، ۱۹).

فعالیت ورزشی و رزوراترول می‌تواند با تأثیر بر عوامل مؤثر بر تلومرها بر سرعت کوتاه‌شدن تلومرها تأثیر داشته باشد، هرچند نتایج متناقضی نیز مشاهده شده است. فرض نویسندگان این است که انجام فعالیت ورزشی هوازی همراه با مصرف مکمل رزوراترول نسبت به هرکدام به‌تنهایی تأثیر بیشتری بر شاخص‌های مؤثر بر تلومر داشته باشد. پژوهش‌های اندکی اثر تمرین و رزوراترول را بر عوامل مؤثر بر تغییرات تلومرها بررسی

بیماری کبد چرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver disease/NAFLD) درحال تبدیل‌شدن به یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن کبدی در سراسر جهان است، اما درحال حاضر هیچ درمان تأییدشده‌ای توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده وجود ندارد. مطالعات پیشین نشان داده است تلومرها و تلومراز در شروع و پیشرفت NAFLD نقش دارند. بیان mRNA hTERT (human telomerase messenger RNA encoding reverse transcriptase) در بیماران مبتلا به NAFLD با طول تلومر ارتباط دارد و ممکن است با اختلالات متابولیک مرتبط باشد (۱). در تعداد فزاینده‌ای از موارد، بیماران NAFLD به کارسینوم سلولی کبدی (Hepatocellular Carcinoma) (HCC) مبتلا می‌شوند. جهش‌های hTERT با بیماری‌های کبدی خانوادگی مرتبط هستند. ارتباط بین تلومرهای خون محیطی کوتاه‌تر و جهش‌های نادر TERT و NAFLD-HCC شناسایی شده است (۲). ارتباط بین جهش‌های تلومراز و پیشرفت بیماری مزمن کبدی به‌سیروز ممکن است به‌دلیل کاهش فعالیت تلومراز و درنتیجه، اختلال در حفظ طول تلومر باشد (۳).

برخی شواهد نشان می‌دهد این فرایند با پیشرفت بیماری کبد مرتبط است. براساس پژوهش‌ها بیان تغییر یافته پروتئین تلومر و کوتاه‌شدن تلومر با سیروز و کارسینوم کبدی مرتبط است. همچنین، در آسیب پیشرفته کبدی عملکرد تلومر مختل می‌شود و جهش‌هایی در کمپلکس‌های تلومراز (شامل hTERT و hTERC) در بیماران مبتلا به سیروز کبدی مشاهده شد. علاوه‌براین، در مدل‌های تجربی نشان داده شده که تلومراز اثر محافظتی در برابر پیشرفت فیبروز کبدی دارد (۴). به نظر می‌رسد یکپارچگی تلومر را شش پروتئین به نام تلوزوم محافظت می‌کنند. عوامل اتصالی تکراری تلومر ۱ و ۲ (Telomere Repeat Factors/TRF) همودایمرها را تشکیل می‌دهند و ترجیحاً به DNA تلومری دورشته‌ای متصل می‌شوند. فاکتور دوهسته‌ای برهم‌کنش‌کننده TRF1 به زیرواحد کمپلکس TRF1/TRF2 و تلوزوم (Adrenocortical dysplasia/ACD) و فاکتور جذب تلومراز (ACD) (۵)، که نقش مهمی در جذب تلومراز به تلومرها دارد، متصل می‌شود و تعامل می‌کند (۶). پروتئین تعاملی TRF2 (TRF2IP) با TRF1 ارتباط دارد. درنهایت، محافظ تلومرهای ۱ (Protector of Telomeres 1/POT1) به‌طور مستقیم به DNA تلومر تک‌رشته‌ای و تلومرهای

درحالی‌که برای القای NAFLD در موش‌ها، حیوانات به مدت ۶ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (شامل ۲۲٪ چربی، ۵۰٪ کربوهیدرات، ۲۴٪ پروتئین، و ۴٪ سایر موارد) قرار گرفتند (۲۰). موش‌های صحرایی گروه بیمار به ۴ زیرگروه تجربی تقسیم شدند که عبارت‌اند از: کبد چرب غیرالکلی (Non-alcoholic fatty liver disease)، کبد چرب غیرالکلی - تمرین (Non-alcoholic fatty liver disease-training)، کبد چرب غیرالکلی - رزوراترول (Non-alcoholic fatty liver disease-resveratrol)، و کبد چرب غیرالکلی - تمرین - رزوراترول (Non-alcoholic fatty liver disease-training-resveratrol). موش‌های صحرایی گروه تمرین، یک برنامه هشت‌هفته‌ای (۵ روز هفته) تمرین هوازی را اجرا کردند، درحالی‌که دیگر موش‌های صحرایی در هیچ برنامه تمرینی‌ای شرکت داده نشدند.

پروتکل تمرینی

برای انجام پروتکل تمرین و پیش از شروع تمرین اصلی و به‌منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط تردمیل، موش‌های گروه‌های تمرین و گروه مکمل - تمرین در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰-۸ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه تمرین اصلی به مدت هشت هفته بود که در هفته آغازین با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه، زمان ۵ دقیقه شروع می‌شد و هر هفته به سرعت، ۱-۲ متر بر دقیقه و به زمان نیز ۲-۱ دقیقه افزوده شد، به‌طوری‌که در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان به ۶۰ دقیقه رسید. شدت و زمان تمرین تا هفته آخر ثابت ماند (۲۱). همچنین، پنج دقیقه پیش و پس از تمرین برای گرم و سردکردن حیوانات در نظر گرفته شد (جدول ۱).

جدول ۱. پروتکل تمرینی هوازی برای موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
مدت (دقیقه)	۵	۲۰	۴۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
شدت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۷	۱۹	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰

مصرف رزوراترول

برای مصرف مکمل رزوراترول نیز یک گرم پودر رزوراترول (شرکت Nutrabio آمریکا، با درجه فارماکولوژی و خلوص ۹۹/۸۷ درصد) با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌عنوان استوک ساخته شد. برای هربار تجویز رزوراترول، ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۷ درصد یا DMSO ۱۰ درصد در آب به‌ازای هر موش صحرایی تهیه و رزوراترول را در آن معلق کرده و تجویز شد. این محلول در گروه‌های SUPNAF و

کرده‌اند. اگرچه به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی و برخی مواد غذایی باعث افزایش طول تلومرها شود، مکانیزم‌هایی که توسط این عوامل رخ می‌دهد، ناشناخته است. درک تأثیر تمرین هوازی و مکمل‌هایی از قبیل رزوراترول بر تلومرها می‌تواند دیدگاه دقیق‌تری از مکانیزم‌های سلولی مؤثر بر بیماری‌های ناشی از NAFLD ارائه دهد و در جلوگیری و گسترش بیماری‌ها در چنین شرایطی مفید باشد. بنابراین این پژوهش در نظر دارد اثر تمرین هوازی و رزوراترول را بر بیان TRF1، TRF2، و TERT بافت کبد در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بررسی کند.

روش کار

برای انجام تحقیق تجربی حاضر ۳۵ سر موش صحرایی نر هشت‌هفته‌ای از نژاد ویستار به‌عنوان نمونه انتخاب و به مرکز پژوهش منتقل شدند. حجم نمونه مطالعه حاضر براساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی‌داری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۸۰ درصد (خطای نوع دوم) و با نرم‌افزار Medcalc 18.2.1 (سر موش در هر گروه) تعیین شد. معیار ورود به مطالعه حاضر شامل نربودن موش‌ها، سلامت کامل موش‌ها، و استفاده‌نکردن از هرگونه دارو بود. اجراکردن پروتکل تمرینی، مصرف‌نکردن مکمل، مؤنث‌بودن، و آسیب هنگام اجرای تمرین نیز معیارهای خروج از تحقیق بودند.

برای نگهداری موش‌های صحرایی از قفس‌های جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو استفاده شد. برای جذب ادرار و مدفوع حیوانات و راحتی آن‌ها از تراشه و بریده‌های چوب استریل استفاده شد. یک روز در میان شست‌وشوی قفس‌ها انجام شد و تراشه‌های چوب نیز تعویض شدند. دمای مطلوب سالن نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد کنترل و ثبت شد. چرخه روشنایی - تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یک‌بار به‌طور دقیق با تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

القای کبد چرب

پس از انتقال موش‌های صحرایی به آزمایشگاه، القای کبد چرب غیرالکلی و آشنایی با فعالیت ورزشی روی تردمیل مخصوص جوندگان، به‌طور تصادفی به دو گروه بیمار NAFLD و کنترل - سالم (CN) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در گروه کنترل به مدت ۶ هفته تحت رژیم غذایی استاندارد (شامل ۱۲٪ چربی، ۵۷٪ کربوهیدرات، ۲۸٪ پروتئین، و ۳٪ سایر موارد) قرار گرفتند،

محلول حاوی RNA با یک سی‌سی ایزوپروپانول ترکیب و به مدت یک شب در دمای -80°C آنکوبه شد. سپس، محلول دوباره سانتریفیوژ شد و محلول رویی برداشت شد. به محلول رویی یک سی‌سی الکل 70% درصد اضافه شد و سانتریفیوژ شد. سپس، مایع رویی را با سمپلر تخلیه کردیم و داخل میکروتیوب خشک شد. برای حل کردن RNA به میزان $20\ \mu\text{g}$ لاند آب مقطر 60°C درجه روی میکروتیوب ریختیم. سپس کمی با سر سمپلر پیپتاژ و $5\ \mu\text{L}$ دقیقه روی صفحه 60°C درجه قرار داده شد. RNA استخراج شده تا زمان استفاده در دمای -80°C قرار گرفت. برای اطمینان از غلظت مناسب RNA استخراج شده، جذب نمونه‌ها با دستگاه نانودراپ (ND-1000 NANODROP 385 spectrophotometer) خوانده شد. تمامی این مراحل زیر هود و در شرایط استریل شده با الکل 75% درصد و نور UV بود. پس از استخراج RNA، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت و سپس cDNA سنتز و برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. cDNA سنتز شده با استفاده از SYBR Green master mix (Thermo Scientific, USA) Real-time و آغازگرهای ذکر شده در جدول ۲ تکثیر شد. PCR با دستگاه Roche LightCycler 480 Real Time PCR Detection System انجام شد. برای اندازه‌گیری mRNA، یک میکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم RQ1 retro- (Promega) DNase-I و RNase-free (Promega) transcribed (RT) پروتکل چرخه حرارتی استفاده شده Real time-PCR شامل: 95°C به مدت $10\ \text{min}$ دقیقه و به دنبال آن 40 سیکل 20°C ثانیه‌ای در حرارت 95°C ، 30 ثانیه در 60°C و 50 ثانیه در دمای 72°C بود. نسبت بیان ژن‌های بررسی شده در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle/CT) ارزیابی شدند. برای نرمال‌سازی بیان ژن از فرمول (کنترل) $ct - \Delta ct = \Delta ct$ استفاده کردیم. پس از محاسبه تغییرات بیان ژن‌ها با Δct ، برای کمی‌کردن نتیجه حاصل از تغییرات ct نمونه‌ها، این عدد در فرمول $2^{-\Delta ct}$ وارد و نتایج حاصل بین گروه‌ها مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل یافته‌ها

در نهایت، از آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) و آمار استنباطی شاپیرو-ویلک، لوین، تحلیل واریانس یک‌طرفه، و تعقیبی توکی با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان TRF1 ($F=9.837$, $p=0.001$)، TRF2

TRSUPNAF با دوز $20\ \text{mg/kg}$ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (رأس ساعت ۹ صبح) به صورت درون صفاقی به مدت ۸ هفته تزریق شد (۲۲).

روش‌های آزمایشگاهی

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین ($30-50\ \text{mg/kg}$ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین ($3-5\ \text{mg/kg}$ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) همه حیوانات بی‌هوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی و شست‌وشو با سالین فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later برای جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شد و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای -80°C درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه‌روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز شد و $11:30$ پایان یافت. برای بررسی بیان ژن‌ها در هر گروه از تکنیک PCR Real Time استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد (جدول ۲) و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل شد. سپس cDNA را به روش PCR تکثیر و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده بررسی کردیم.

طراحی و آماده‌سازی پرایمر

جدول شماره ۲ الگوی پرایمر را نمایش می‌دهد.

جدول ۲. الگوی پرایمر

Reverse primers	Forward primers	Genes
5'-ATCTGGCCTATCCTT AGACG-3'	5'-CATGGACTACACAGA CTTAC-3'	TRF1
5'-GCTGGAAGACCTCA TAGGAA-3'	5'-TGTCTGTCGCGCATTG AAGA-3'	TRF2
5'-GTGGTGTCTGTGATG TAGAAGA-3'	5'-TGATGTGGAGGGTGA AAGTGG-3'	TERT
5'-TCCACCACCTGTGTG CTGTA-3'	5'-ACCACAGTCCATGCCA TCAC-3'	GAPDH

انجام Real time-PCR

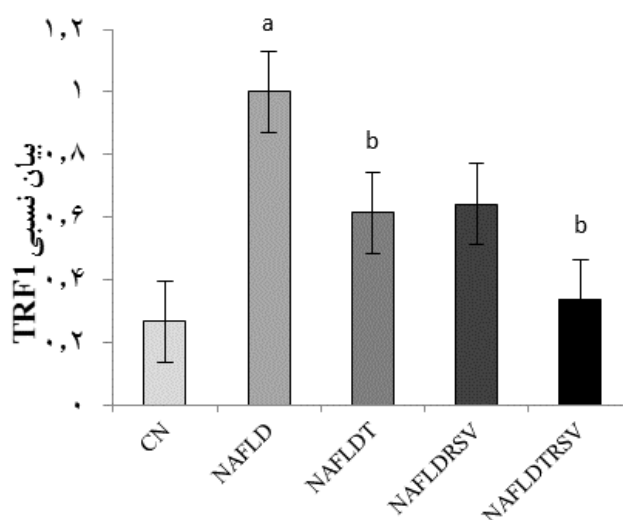
برای استخراج RNA سلول براساس پروتکل شرکت کایژن - آلمان و با کیت RNeasy، $20\ \text{mg}$ میلی گرم از بافت کبد با اسکالپر خرد و وارد میکروتیوب شد؛ سپس محلول تیارول را به آن اضافه کردیم و 24 ساعت در دمای -80°C قرار دادیم. پس از آن، در حالت نیمه‌انجماد خرد شده و پس از مخلوط کردن کامل (پیپتاژ)، کلروفرم برای تخریب سلول‌ها به مدت یک دقیقه به محلول اضافه شد. محلول سانتریفیوژ شده و محلول رویی حاوی RNA برداشته شد.

NAFLD ($p=0/0001$) نسبت به گروه کنترل وجود دارد. همچنین، کاهش معنی‌داری در گروه‌های NAFLDT ($p=0/0001$) و NAFLDTRSV ($p=0/042$) مشاهده شد (نمودار ۱، جدول ۴).

($F=12/592$, $p=0/0001$) و TERT ($p=0/0001$) بافت کبد، بین گروه‌های مختلف وجود دارد (جدول ۳). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان TRF1 در گروه‌های

جدول ۳: نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه بیان TRF1 بافت کبد در گروه‌های مختلف پژوهش

متغیر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی‌داری
TRF1 (ng/mL)	بین گروه‌ها	۴	۰/۶۷۸	۹/۸۳۷	۰/۰۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۳۵	۰/۰۶۹		
	مجموع	۳۹			
TRF2 (ng/mL)	بین گروه‌ها	۴	۶/۴۹۵	۱۲/۵۹۲	۰/۰۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۳۵	۰/۵۱۶		
	مجموع	۳۹			
TERT (ng/mL)	بین گروه‌ها	۴	۰/۷۵۲	۱۶/۵۲۹	۰/۰۰۰۱
	داخل گروه‌ها	۳۵	۰/۰۴۴		
	مجموع	۳۹			



نمودار ۱: تغییرات بیان TRF1 بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (در سطح $p<0/05$).

a تفاوت با گروه CN، b تفاوت با گروه NAFLD.

CN: نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرالکلی، NAFLDT: کبد چرب غیرالکلی - تمرین، NAFLDRSV: کبد چرب غیرالکلی - رزوراترول، NAFLDTRSV: کبد چرب غیرالکلی - تمرین - رزوراترول.

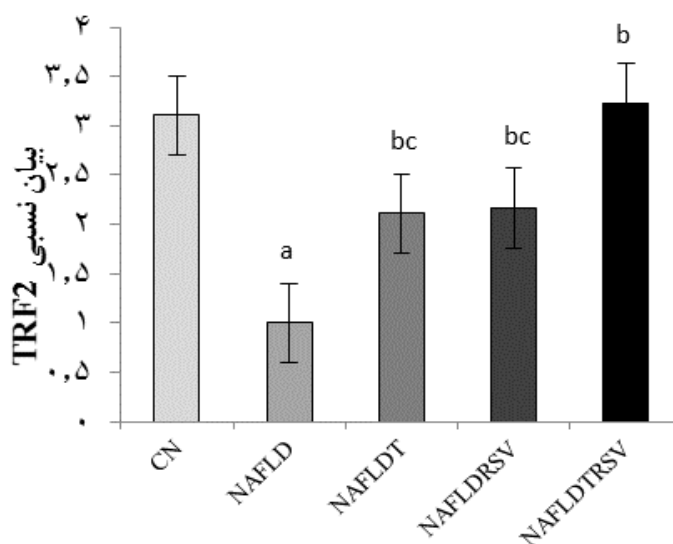
جدول ۴: نتایج آزمون تعقیبی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها (بیان TRF1)

گروه مقایسه‌شونده	سطح معنی‌داری
NAFLD	۰/۰۰۰۱*
NAFLDT	۰/۰۴۲*
NAFLDTRSV	۰/۰۰۰۱*
CN	
NAFLD	

* در سطح $P \leq 0/05$ معنی‌دار است.

NAFLDRSV ($p=0/020$) و NAFLDTRSV ($p=0/0001$) نسبت به NAFLD؛ و NAFLDTRSV نسبت به گروه NAFLDT ($p=0/029$) و NAFLDRSV ($p=0/042$) مشاهده شد (نمودار ۲، جدول ۵).

نتایج آزمون تعقیبی نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان TRF2 در گروه‌های NAFLD ($p=0/0001$) نسبت به CN وجود دارد. همچنین، افزایش معنی‌داری در گروه‌های NAFLDT ($p=0/030$),



نمودار ۲. تغییرات بیان TRF2 بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با گروه CN، b تفاوت با گروه NAFLD، c تفاوت با NAFLDTRSV.

CN: نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرالکلی، NAFLDT: کبد چرب غیرالکلی - تمرین، NAFLDRSV: کبد چرب غیرالکلی - رزوراترول، NAFLDTRSV: کبد چرب غیرالکلی - تمرین - رزوراترول.

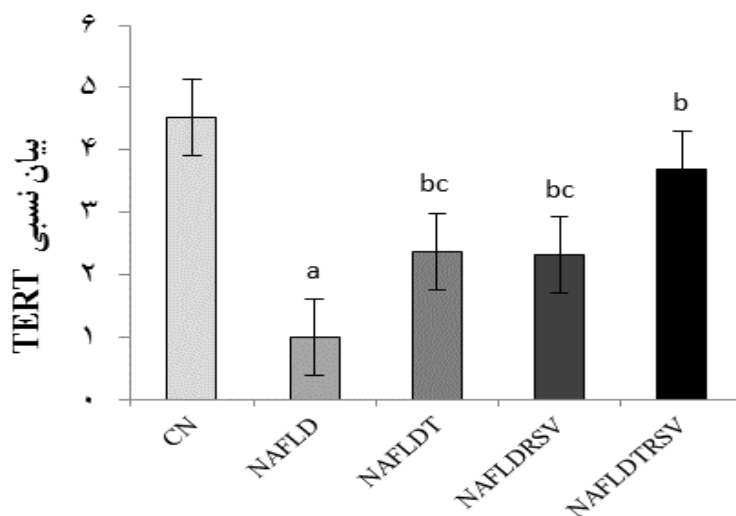
جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها (بیان TRF2)

سطح معنی‌داری	گروه مقایسه‌شونده	
0.0001^*	NAFLD	CN
0.030^*	NAFLDT	
0.020^*	NAFLDRSV	NAFLD
0.0001^*	NAFLDTRSV	
0.029^*	NAFLDT	NAFLDTRSV
0.042^*	NAFLDRSV	

* در سطح $P \leq 0.05$ معنی‌دار است.

و NAFLDRSV ($p=0.049$)، NAFLDTRSV ($p=0.0001$) نسبت به NAFLD؛ و NAFLDTRSV نسبت به گروه NAFLDT ($p=0.047$) و NAFLDRSV ($p=0.038$) مشاهده شد (نمودار ۳، جدول ۶).

در ادامه، نتایج آزمون تعقیبی نشان داد افزایش معنی‌داری در میزان تغییرات بیان TERT در گروه‌های NAFLD ($p=0.0001$)، NAFLDT ($p=0.0001$) و NAFLDRSV ($p=0.0001$) نسبت به CN وجود دارد. همچنین، کاهش معنی‌داری در گروه‌های NAFLDT



نمودار ۳. تغییرات بیان TERT بافت کبد در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (در سطح $p < 0.05$).

a تفاوت با گروه CN، b تفاوت با گروه NAFLD، c تفاوت با NAFLDTRSV.

CN: نرمال، NAFLD: کبد چرب غیرالکلی، NAFLDT: کبد چرب غیرالکلی - تمرین، NAFLDRSV: کبد چرب غیرالکلی - رزوراترول، NAFLDTRSV: کبد چرب غیرالکلی - تمرین - رزوراترول.

جدول ۶. نتایج آزمون تعقیبی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها (TERT)

سطح معنی‌داری	گروه مقایسه‌شونده	
۰/۰۰۰۱*	NAFLD	CN
۰/۰۰۰۱*	NAFLDT	
۰/۰۰۰۱*	NAFLDRSV	
۰/۰۴۰*	NAFLDT	NAFLD
۰/۰۴۹*	NAFLDRSV	
۰/۰۰۰۱*	NAFLDTRSV	
۰/۰۴۷*	NAFLDT	NAFLDTRSV
۰/۰۳۸*	NAFLDRSV	

* در سطح $P \leq 0.05$ معنی‌دار است.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد القای NAFLD باعث کاهش معنی‌داری در مقادیر بیان TRF2 و TERT و افزایش معنی‌داری در بیان TRF1 بافت کبدی شد. TRF2، یک جزء کلیدی از مجموعه پناهگاه، برای حفظ یکپارچگی و عملکرد تلومر ضروری است. گزارش‌ها نشان داده‌اند مهار TRF2 ثبات تلومر را مختل می‌کند و منجر به پیری سلولی و آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۳). تحقیقات نشان می‌دهد کاهش TRF2 به افزایش استرس اکسیداتیو کمک می‌کند و حساسیت سلول‌های سرطانی به آپوپتوز را، به‌ویژه در زمینه سلول‌های سرطانی معده، افزایش می‌دهد. این امر نقش مهمی برای TRF2 در میانجی‌گری اثرات پیری سلولی در آسیب‌شناسی سرطان نشان می‌دهد (۲۳). گرون و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی نشان دادند چاقی با اختلال در تنظیم برخی تلوزوم‌ها همراه است و باعث تنظیم افزایشی TRF1 و همچنین، افزایش فشار اکسایشی می‌شود. این محققین بیان کردند در بزرگسالان مبتلا به چاقی شدید طول تلومرها در مقایسه با افراد عادی کاهش می‌یابد (۲۴). همچنین، در پژوهش نجاجو و همکاران (۲۰۱۲) نشان داده شد که طول تلومرها در بزرگسالان چاق کوتاه‌تر است و روند پیری را تسریع می‌کند (۲۵).

با این وجود، فعالیت ورزشی باعث افزایش بیان TRF2 و TERT شد. تمرینات ورزشی با بهبود عملکرد کبد، به‌ویژه در بیماران مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) مرتبط است. شواهد نشان می‌دهد تمرین ورزشی می‌تواند متابولیسم لیپید کبدی را افزایش، گلوکونئوز کبدی را کاهش، و سطح آنزیم آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد و به کاهش استرس اکسیداتیو در کبد کمک کند. این سازگاری‌ها ممکن است مقاومت به انسولین و بافت‌شناسی کبد را بهبود بخشند. بنابراین فرایندهای پیری سلولی در بافت‌های کبدی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۶). هم‌جهت با پژوهش حاضر، خدادوست

و همکاران (۱۴۰۱) در پژوهشی نشان دادند تمرینات تناوبی با شدت بالا و پایین تأثیر معنی‌داری بر بیان TRF1 عضلانی در موش‌های C57/Bl6 ندارد، با این وجود، بیان TRF2 به‌دنبال هر دو نوع فعالیت ورزشی افزایش معنی‌داری داشت (۲۷). اعتقاد بر این است فعالیت بدنی با افزایش فعالیت تلومراز - آنزیمی، که با افزودن نوکلئوتیدهای جدید به انتهای تلومر با کوتاه‌شدن تلومر مقابله می‌کند، طول تلومر را حفظ می‌کند (۲۸). از آنجا که TRF1 تنظیم‌کننده منفی فعالیت تلومراز است، کاهش بیان TRF1 همراه با افزایش فعالیت تلومراز (TERT) ممکن است مکانیزمی برای مقابله با کوتاه‌شدن تلومرها به‌دنبال فعالیت ورزشی باشد، که توسط پژوهش‌های قبلی نیز تأیید شده است (۲۷). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که به‌دنبال فعالیت ورزشی کوتاه‌مدت بیان پروتئین TRF1 در عضله اسکلتی موش‌ها کاهش می‌یابد (۲۹).

از دیگر نتایج پژوهش حاضر آن بود که به‌دنبال مصرف رزوراترول بیان TRF2 و TERT افزایش می‌یابد. TRF2 و TERT از تلوزوم‌های مهم برای محافظت از طول تلومرها هستند. از عوامل مؤثر بر بیان تلوزوم‌ها فشار اکسایشی و عوامل التهابی است (۳۰). مطالعات نشان داده مصرف رزوراترول می‌تواند سطوح شاخص‌های التهابی و فشار اکسایشی را در بافت کبدی کاهش دهد. کاهش این شاخص‌ها با افزایش بیان TRF2 و TERT همراه است (۳۱). مطالعات پیشین نشان داده با افزایش سن، سطوح TRF1 در عضلات موش‌ها افزایش می‌یابد (۲۹). افزایش سطوح TRF1 ممکن است ناشی از افزایش فشار اکسایشی باشد. در برخی مطالعات حیوانی که با افزایش القای استرس اکسیداتیو همراه بود، سطوح TRF1 افزایش معنی‌داری داشت (۳۲). با این وجود، در مطالعه حاضر مصرف رزوراترول باعث معکوس شدن روند افزایشی TRF1 در موش‌ها شد.

ترکیب اثرات رزوراترول و تمرین ورزشی یک رویکرد چندوجهی برای مدیریت پیری سلولی در بافت‌های کبدی تحت تأثیر NAFLD ارائه می‌کند. توانایی رزوراترول در مهار فعالیت تلومراز و ترویج آپوپتوز، در کنار اثرهای مفید ورزش بر متابولیسم کبد و استرس اکسیداتیو ممکن است به‌طور

نتیجه‌گیری

با توجه به نقش TRF1، TRF2، و TERT در عملکرد سلولی، به نظر می‌رسد تغییر سطوح این شاخص‌ها به دنبال فعالیت بدنی و استفاده از مکمل رزوراترول می‌تواند تاحدی از بروز بسیاری از بیماری‌های کبدی ناشی از NAFLD جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر است. نویسندگان از تمامی اشخاصی که صمیمانه در اجرای این پژوهش همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر کد اخلاق از دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری IR.IAU.SARI.REC.1404.155 دارد.

حامی مالی

این مطالعه حامی مالی نداشته است.

تعارض منافع

هیچ‌یک از نویسندگان این مقاله تعارض منافی با انتشار مقاله ندارند.

سهم نویسندگان

همه نویسندگان در طراحی، اجرا، تحلیل داده‌ها، و نگارش بخش‌های مختلف تحقیق مشارکت داشته‌اند.

هم‌افزایی برای کاهش پیری سلولی و بهبود سلامت کلی کبد عمل کند (۲۶). همان‌طور که پیش‌تر گفته شد، این شاخص‌ها به شدت می‌تواند تحت تأثیر شاخص‌های التهابی و فشار اکسایشی قرار گیرد. شاید اثرات هم‌افزایی تمرین هوازی و مکمل رزوراترول بر التهاب و فشار اکسایشی باعث بروز چنین نتایجی شده باشد. تحقیقات بیشتر برای بررسی این تعاملات و پیامدهای آنها برای استراتژی‌های درمانی هدف‌قراردادن TRF2 و TERT و پیری بافت کبد در بیماران NAFLD ضروری است. تعامل میان تمرین ورزشی، رزوراترول، و پیری سلولی در زمینه بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) به دلیل پیامدهای درمانی بالقوه آن توجه زیادی را به خود جلب کرده است. مطالعات اخیر با درمان‌هایی مانند INO-1400 و INO-1401، که ایمنی و اثربخشی را در برانگیختن پاسخ‌های ایمنی اختصاصی hTERT در بیماران سرطانی نشان می‌دهند، بر اهمیت تعدیل پاسخ ایمنی در درمان سرطان تأکید کرده‌اند (۲۳). این نشان می‌دهد استراتژی‌هایی با هدف گسترش تلومر، از جمله تمرین ورزشی و مکمل رزوراترول، می‌توانند بروز NAFLD را کاهش دهند. تمرینات ورزشی مزایای چندوجهی دارند و به بهبود سلامت متابولیک و به‌طور بالقوه بهبود علائم NAFLD از طریق مسیرهای مولکولی مختلف کمک می‌کنند (۲۶). علاوه‌براین، مطالعات آتی باید به محدودیت‌های برجسته‌شده در تحقیق فعلی، از جمله نیاز به جمعیت‌های شرکت‌کننده متنوع‌تر و روش‌های بهبودیافته برای اندازه‌گیری نتایج بلندمدت توجه کنند. این رویکرد کمک می‌کند یافته‌ها قابل تعمیم و کاربرد در بین جمعیت‌های مختلف باشند. بنابراین درک اینکه چگونه مداخلات سبک زندگی می‌تواند به بهترین شکل برای مبارزه با NAFLD و شرایط مرتبط به‌طور مؤثر طراحی شود را افزایش می‌دهد (۳۳).

References

- Laish I, Mannasse-Green B, Hadary R, Biron-Shental T, Konikoff FM, Amiel A, et al. Telomere dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease and cryptogenic cirrhosis. *Cytogenet Genome Res.* 2016;150(2):93-9. doi: 10.1159/000454654 pmid
- Donati B, Pietrelli A, Pingitore P, Dongiovanni P, Caddeo A, Walker L, et al. Telomerase reverse transcriptase germline mutations and hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Cancer Med.* 2017;6(8):1930-40. doi: 10.1002/cam4.1078. pmid
- Carulli L, Anzivino C. Telomere and telomerase in chronic liver disease and hepatocarcinoma. *World J Gastroenterol.* 2014;20(20):6287-92. doi: 10.3748/wjg.v20.i20.6287. pmid
- Donati B, Valenti L. Telomeres, NAFLD and chronic liver disease. *Int J Mol Sci.* 2016;17(3):383. doi: 10.3390/ijms17030383. pmid
- O'Connor MS, Safari A, Xin H, Liu D, Songyang Z. A critical role for TPP1 and TIN2 interaction in high-order telomeric complex assembly. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103(32):11874-9. doi: 10.1073/pnas.0605303103. pmid
- Schmidt JC, Dalby AB, Cech TR. Identification of human TERT elements necessary for telomerase recruitment to telomeres. *Elife.* 2014;3:03563. doi: 10.7554/eLife.03563. pmid
- Sfeir A, De Lange T. Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. *Sci.* 2012;336(6081):593-7. doi: 10.1126/science.1218498. pmid
- Steptoe A, Hamer M, Lin J, Blackburn EH, Erusalimsky JD. The longitudinal relationship between cortisol responses to mental stress and leukocyte telomere attrition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(3):962-9. doi: 10.1210/je.2016-3035. pmid
- Denham J, O'Brien BJ, Charchar FJ. Telomere length maintenance and cardio-metabolic disease prevention through exercise training. *Sports Med.* 2016;46(9):1213-37. doi: 10.1007/s40279-016-0482-4. pmid
- Semeraro MD, Beltrami AP, Kharrat F, Almer G, Sedej S, Renner W, et al. The impact of moderate endurance exercise on cardiac telomeres and cardiovascular remodeling in obese rats. *Front Cardiovasc Med.* 2023;9:1080077. doi: 10.3389/fcvm.2022.1080077. pmid
- Cherkas LF, Hunkin JL, Kato BS, Richards JB, Gardner JP, Surdulescu GL, et al. The association between physical activity in leisure time and leukocyte telomere length. *Arch Intern Med.* 2008;168(2):154-8. doi: 10.1001/archinternmed.2007.39. pmid

12. Friedenreich CM, Wang Q, Ting NS, Brenner DR, Conroy SM, McIntyre JB, et al. Effect of a 12-month exercise intervention on leukocyte telomere length: Results from the ALPHA Trial. *Cancer Epidemiol*. 2018;56:67-74. doi: [10.1016/j.canep.2018.07.012](https://doi.org/10.1016/j.canep.2018.07.012) pmid
13. Canudas S, Becerra-Tomás N, Hernández-Alonso P, Galíe S, Leung C, Crous-Bou M, et al. Mediterranean diet and telomere length: a systematic review and meta-analysis. *Adv Nutr*. 2020;11(6):1544-54. doi: [10.1093/advances/nmaa079](https://doi.org/10.1093/advances/nmaa079) pmid
14. Chaplin A, Carpéné C, Mercader J. Resveratrol, metabolic syndrome, and gut microbiota. *Nutr*. 2018;10(11):1651. doi: [10.3390/nu10111651](https://doi.org/10.3390/nu10111651) pmid
15. Soltani S, Sharifi-Zahabi E, Sangsefidi ZS, Ahmadi Vasmehjani A, Meshkini F, Clayton ZS, et al. The effect of resveratrol supplementation on biomarkers of liver health: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytother Res*. 2023;37(3):1153-66. doi: [10.1002/ptr.7719](https://doi.org/10.1002/ptr.7719) pmid
16. Ranneh Y, Bedir AS, Abu-Elsoud AM, Al Raish S. Polyphenol intervention ameliorates non-alcoholic fatty liver disease: an updated comprehensive systematic review. *Nutr*. 2024;16(23):4150. doi: [10.3390/nu16234150](https://doi.org/10.3390/nu16234150) pmid
17. Mohammadhasani K, Vahedi Fard M, Mottaghi Moghaddam Shahri A, Khorasanchi Z. Polyphenols improve non-alcoholic fatty liver disease via gut microbiota: A comprehensive review. *Food Sci Nutr*. 2024;12(8):5341-56. doi: [10.1002/fsn3.4178](https://doi.org/10.1002/fsn3.4178) pmid
18. Ge HU, Fei QI, Jianmin CA, Zhe JI, Qiyun ZH, Haitao ZH. Curcumin combined with aerobic exercise improved liver function in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Food Sci*. 2025;46(10):178-87. [Link](#)
19. Payekari S, Rahimi A, Aghaei F, Feizollahi F. Simultaneous effect of mealworm supplement with aerobic exercise on mitochondrial genes expression in the soleus muscle of rats with non-alcoholic fatty liver. *J Pract Stu Biosci Sport*. 2025. doi: [10.22077/jpsbs.2025.8593.1933](https://doi.org/10.22077/jpsbs.2025.8593.1933)
20. Efati M, Khorrami M, Zarei Mahmmodobadi A, Raouf Sarshoori J. Induction of an animal model of non-alcoholic fatty liver disease using a formulated high-fat diet. *J Babol Univ Med Sci*. 2016;18(11):57-62. [Link](#)
21. Linden MA, Fletcher JA, Morris EM, Meers GM, Laughlin MH, Booth FW, et al. Treating NAFLD in OLETF rats with vigorous-intensity interval exercise training. *Med Sci Sports Exerc*. 2015;47(3):556-67. doi: [10.1249/MSS.0000000000000430](https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000430) pmid
22. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Arch Physiol Biochem*. 2019;125(2):142-9. doi: [10.1080/13813455.2018.1441872](https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1441872) pmid
23. Nault JC, Ningarhari M, Rebouissou S, Zucman-Rossi J. The role of telomeres and telomerase in cirrhosis and liver cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(9):544-58. doi: [10.1038/s41575-019-0165-3](https://doi.org/10.1038/s41575-019-0165-3) pmid
24. Grun LK, Da Rosa Teixeira JrN, von Mengden L, De Bastiani MA, Parisi MM, Bortolin R, et al. TRF1 as a major contributor for telomeres' shortening in the context of obesity. *Free Radic Biol Med*. 2018;129:286-95. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.039](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.039) pmid
25. Njajou OT, Cawthon RM, Blackburn EH, Harris TB, Li R, Sanders JL, et al. Shorter telomeres are associated with obesity and weight gain in the elderly. *Int J Obes*. 2012;36(9):1176-9. doi: [10.1038/ijo.2011.196](https://doi.org/10.1038/ijo.2011.196) pmid
26. Takahashi H, Kotani K, Tanaka K, Eguchi Y, Anzai K. Therapeutic approaches to nonalcoholic fatty liver disease: exercise intervention and related mechanisms. *Front Endocrinol*. 2018;9:588. doi: [10.3389/fendo.2018.00588](https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00588) pmid
27. Khodadoost M, Shakeryan S, Arjmand S, Nikbakht M. The Effect of High and Low-Intensity Interval Training on TRF1 and TRF2 Gene Expression in Slow and Fast-Twitch Skeletal Muscles of C57BL/6 Mice: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci*. 2022;21(1):49-70. [Persian] [Link](#)
28. Werner CM, Hecksteden A, Morsch A, Zundler J, Wegmann M, Kratzsch J, et al. Differential effects of endurance, interval, and resistance training on telomerase activity and telomere length in a randomized, controlled study. *Eur Heart J*. 2019;40(1):34-46. doi: [10.1093/eurheartj/ehy585](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy585) pmid
29. Ludlow AT, Lima LC, Wang J, Hanson ED, Guth LM, Spangenburg EE, et al. Exercise alters mRNA expression of telomere-repeat binding factor 1 in skeletal muscle via p38 MAPK. *J Appl Physiol*. 2012;113(11):1737-46. doi: [10.1152/japplphysiol.00200.2012](https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00200.2012) pmid
30. Liu Y, Bloom SI, Donato AJ. The role of senescence, telomere dysfunction and shelterin in vascular aging. *Microcirculation*. 2019;26(2):12487. doi: [10.1111/micc.12487](https://doi.org/10.1111/micc.12487) pmid
31. Wu L, Fidan K, Um JY, Ahn KS. Telomerase: key regulator of inflammation and cancer. *Pharmacol Res*. 2020;155:104726. doi: [10.1016/j.phrs.2020.104726](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104726) pmid
32. Petrillo S, Pelosi L, Piemonte F, Travaglini L, Forcina L, Catteruccia M, et al. Oxidative stress in duchenne muscular dystrophy: focus on the NRF2 redox pathway. *Hum Mol Genet*. 2017;26(14):2781-90. doi: [10.1093/hmg/ddx173](https://doi.org/10.1093/hmg/ddx173) pmid
33. Varmazyar I, Monazzami AA, Moradi M, McAinch AJ. Effects of 12-weeks resistance training and vitamin E supplementation on aminotransferases, CTRP-2, and CTRP-9 levels in males with nonalcoholic fatty liver disease: a double-blind, randomized trial. *BMC Sports Sci Med Rehabil*. 2024;16(1):185. doi: [10.1186/s13102-024-00972-9](https://doi.org/10.1186/s13102-024-00972-9) pmid