

Effect of HIIT exercises on liver fat, liver Enzymes, and insulin resistance in children and adolescents with non-alcoholic fatty liver

Hamdollah Iraj¹, Vazgen Minasian^{1*}, Roya Kelishadi²

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

2. Department of Pediatrics, Child Growth and Development Research Institute for Primordial Prevention of Non-Communicable Disease, Isfahan University of Medical Sciences. Isfahan, Iran.

(Received: 2020/02/13

Accept:2020/06/02)

Abstract

Background and Aims: Although lifestyle changes encompassing weight loss and exercise remain the cornerstone of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) management, the effect of different types of exercise on NAFLD is unknown. So, the purpose of the present study was to evaluate the impact of eight weeks of High-Intensity Interval Training (HIIT) on liver lipids, liver enzymes, and insulin resistance of adolescents with fatty liver.

Materials and Methods: In the current experimental research, 23 children and adolescents with non-alcoholic fatty liver were randomly assigned into HIIT groups. The intervention was eight weeks of HIIT training consisting of 30 seconds of fast running at around 100–110 percent of max speed with a 30-second recovery interval, 3 sessions per week each session lasting for 32–36 minutes, whereas the control group had no regular physical activity. Variables were measured before and after the intervention in both groups. The data was analyzed running ANCOVA and Bonferroni post-hoc tests.

Results: Significant differences were observed in VO_{2peak} (HIIT 9.38% vs. Control 0.62%), BF percentage (HIIT; -1.25% vs. Control; 0.31), WHR (HIIT; -1.24% vs. Control; 0.41), ALT (HIIT; -12.42% vs. Control 3.84%), AST (HIIT; -13.95% vs. Control; 4.80%), insulin (HIIT; -12.37% vs. Control -3.56%) and insulin resistance (HIIT; -15.24% vs. Control -2.83%) between HIIT and control groups ($P < 0.05$), whereas the differences in blood pressure and fasting blood sugar between the two groups were not found to be significant ($P > 0.05$).

Conclusion: It seems that the HIIT exercise can be helpful as a non-medical intervention to improve liver enzymes and in the treatment of obese/overweight adolescents with non-alcoholic fatty liver.

Keywords: Liver enzymes; NAFLD; HIIT; Insulin Resistance

*Corresponding author: Vazgen Minasian

Email: v.minasian@spr.ui.ac.ir

اثر تمرین تناوبی شدید بر چربی کبد، آنزیمهای کبدی و مقاومت به انسولین کودکان و نوجوانان مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

حمدالله ایرجی^۱، وازگن میناسیان^{۱*}، رویا کلیشادی^۲

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲. گروه کودکان، مرکز تحقیقات رشد و نمو کودکان، پژوهشکده پیشگیری اولیه از بیماری های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۲/۱۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۱۰/۱۱

چکیده:

سابقه و هدف: اگرچه تغییر در شیوه زندگی شامل کاهش وزن و فعالیت بدنی، اساس درمان بیماری کبد چرب غیرالکلی است، اثر انواع فعالیت بدنی بر بیماری کبد چرب به طور کامل شناخته نشده است. هدف کلی پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید روی سطوح چربی کبد، آنزیمهای کبدی و مقاومت انسولینی در کودکان و نوجوانان مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بود.

مواد و روش ها: در این پژوهش تجربی تعداد ۲۳ نوجوان مبتلا به کبد چرب غیرالکلی به شکل تصادفی در دو گروه تمرین تناوبی شدید و کنترل قرار گرفتند. مداخله ورزشی به مدت هشت هفته در گروه تمرین تناوبی به شکل ۳۰ ثانیه فعالیت دوییدن با شدت معین و ۳۰ ثانیه استراحت فعال بود و تمرین سه جلسه در هفته و هر جلسه به مدت ۳۶-۳۲ دقیقه با شدت ۱۱۰-۱۰۰ درصد حداکثر سرعت هوازی انجام شد. در حالی که گروه کنترل در این مدت هیچ گونه فعالیت منظمی نداشت. متغیرهای مورد اندازه گیری قبل و بعد از مداخله تمرینی اندازه گیری و از آزمون تحلیل کوواریانس برای تحلیل داده ها استفاده شد.

یافته ها: اختلاف معناداری در اوج اکسیژن مصرفی (تناوبی ۹/۳۸ درصد در مقابل کنترل ۰/۶۲ درصد)، درصد چربی بدن (تناوبی ۱/۲۵ درصد در مقابل کنترل ۰/۳۱ درصد) نسبت محیط کمر به لگن (تناوبی ۱/۲۴ درصد در مقابل کنترل ۰/۴۱ درصد) آنزیم های ALT (تناوبی ۱۲/۴۲ درصد در مقابل کنترل ۳/۸۴ درصد) و AST (تناوبی ۱۳/۹۵ درصد در مقابل کنترل ۴/۸ درصد) انسولین (تناوبی ۱۲/۳۷ درصد در مقابل کنترل ۳/۵۶ درصد) و مقاومت انسولینی (تناوبی ۱۵/۲۴ درصد در مقابل کنترل ۲/۸۳ درصد) گروه های تمرین تناوبی و کنترل مشاهده شد ($P < 0.05$)، در حالی که بین سطوح فشارخون و قند خون ناشتایی گروه ها اختلاف معناداری بین گروه ها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: به نظر می رسد که تمرین های تناوبی شدید با دوره زمانی کوتاه مدت و زمان بندی شده می تواند به عنوان یک مداخله درمانی کمکی برای بهبود کبد چرب غیرالکلی و آنزیم های کبدی کودکان و نوجوانان چاق و دارای اضافه وزن مطرح باشد.

واژگان کلیدی: آنزیم های کبدی، کبد چرب، تمرین تناوبی شدید، مقاومت انسولینی.

مقدمه

از استئاتوز (کبد چرب ساده خوش خیم) تا استئاتو هیپاتیت غیرالکلی (تجمع چربی همراه با التهاب و صدمه و فیبروز بافت کبدی) و در نهایت فیبروز پیشرفته و سیروز متغیر است (۴). کبد چرب غیرالکلی در کودکان به دلیل افزایش شیوع چاقی و اضافه وزن به سرعت پیشرفت و حتی در برخی نوجوانان می تواند به مراحل پایانی بیماری کبد برسد. علاوه بر این، ابتلا به کبد چرب در دوران کودکی یک عامل خطر برای بروز سرطان کبد در بزرگسالی گزارش شده است (۵، ۶). شیوع کبد چرب در کودکان چاق در مطالعه های مختلف از ۴۶/۲ تا ۷۷/۱ درصد گزارش شده است (۷).

شیوع چاقی و بیماری های مرتبط با آن در دهه های گذشته به طور چشمگیری در کودکان و نوجوانان گزارش شده (۱) و در دو دهه گذشته در سراسر جهان افزایش چشمگیر شیوع بیماری کبد چرب در کودکان، به موازات افزایش روز افزون چاقی در دوران کودکی بوده است (۲، ۳). کبد چرب یکی از اختلال های مزمن کبدی است که در نتیجه تجمع چربی در کبد به میزان بیش از پنج درصد ایجاد می شود. این اختلال

نویسنده مسئول: وازگن میناسیان

پست الکترونیک: v.minasian@spr.ui.ac.ir

اکوپارانشیم کبد چرب (دو نفر گرید دو و ۲۱ نفر گرید یک) بودند، براساس شاخص توده بدن به دو گروه تجربی (n=۱۲) و کنترل (n=۱۱) به شکل همگن و تصادفی تقسیم و انتخاب شدند. شرایط ورود به مطالعه شامل چاقی، دارای درجاتی از کبد چرب در آزمایش سونوگرافی، عدم مصرف دارو، نداشتن سابقه بیماری قلبی - عروقی، عدم انجام فعالیت بدنی منظم در سه ماه گذشته و شرایط خروج شامل غیبت سه جلسه‌ای در تمرین‌ها، بروز آسیب و انصراف فردی برای ادامه تمرین‌ها بود. از آزمودنی‌ها خواسته شد که هنگام دوره از دستکاری رژیم غذایی خودداری کنند. تمامی شرایط این پژوهش، خطرهای احتمالی برای آزمودنی‌ها و والدین آن‌ها تشریح و رضایت‌نامه کتبی از والدین آزمودنی‌ها دریافت شد. همچنین مراحل اجرایی این پژوهش در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه اصفهان با شماره IR.W.REC.1396.028 و با رعایت اصول اخلاقی هلسینکی تایید شد.

اندازه‌گیری‌های تن سنجی و فیزیولوژیکی

اندازه‌گیری متغیرهای وابسته این پژوهش در دو نوبت پیش از شروع و پس از پایان مداخله‌های ورزشی در گروه‌ها انجام شد. وزن آزمودنی‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال (simple ساخت ژاپن) و با دقت ۰/۱ کیلوگرم و قد افراد با استفاده از قدسنج دیواری با دقت یک سانتی‌متر اندازه‌گیری و شاخص توده بدن از تقسیم وزن بر مجذور قد محاسبه شد.

شاخص WHR از اندازه‌گیری محیط کمر در کمترین ناحیه و تقسیم آن بر محیط نشیمنگاه در بیشترین ناحیه محاسبه شد. فشارخون سیستمیک و دیاستولیک افراد در حالت نشسته و از بازوی دست راست با فشارسنج دیجیتال (CITIZEN ساخت ژاپن) به فاصله پنج دقیقه استراحت دو مرتبه اندازه‌گیری و میانگین ثبت شد. برای اندازه‌گیری درصد چربی افراد با استفاده از کالیپر (مدل SLIMGUIDE ساخت آمریکا) اندازه‌گیری‌ها در چهار نقطه از سمت راست بدن در نواحی فوق خاصره، تحت کتفی، پشت بازو و بخش میانی ران آزمودنی‌ها انجام شد و از معادله Peterson و همکاران (۲۰۰۳) برای محاسبه درصد چربی استفاده شد (۲۱).

درصد چربی = $20.9487A + 0.1166(B) - 0.1666(C) + 0.1666(D)$ (مجموع چهارنقطه $\times 0.42696$) - (مجموع به توان دو $\times 0.01589$)

مرحله بلوغ آزمودنی‌ها براساس مقیاس طبقه‌بندی پنج مرحله‌ای تانر (V-IV-III-I-II) و به شکل خود گزارش‌دهی تعیین شد (۲۲). تملی شرکت‌کنندگان آزمون دوییدن ۲۰ متر رفت و برگشت تا سرحد خستگی را برای اندازه‌گیری اوج اکسیژن مصرفی و حداکثر سرعت هوازی ۴۸ ساعت قبل و بعد از هشت هفته تمرین در شرایط محیطی یکسان انجام دادند و از معادله Matsuzaka و همکاران (۲۰۰۴) برای محاسبه اوج اکسیژن مصرفی آن‌ها استفاده شد (۲۳).

(تعداد دورها) $\times 0.192X +$ (شاخص توده بدنی) $\times 0.182X -$ (سن) $\times 0.462X -$ (جنسیت) $\times 0.172X =$ اوج اکسیژن مصرفی

جنسیت: مذکر=صفر و مونث = یک

اندازه‌گیری کبد چرب و شاخص‌های بیوشیمیایی

برای تعیین کبدچرب و گرید آن و بررسی اثربخشی تمرین‌ها، آزمایش سونوگرافی در ابتدا و همچنین پس از پایان هشت هفته مداخله تمرینی از همه آزمودنی‌ها توسط رادیولوژیست خبره و با دستگاه (voluson expert 730) ساخت کشور کره انجام و براساس معیارهای سونوگرافی شدت کبدچرب تعیین شد. نمونه‌های خونی در حالت ناشتا ساعت ۹ صبح ۴۸ ساعت پیش از شروع تمرین‌ها و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی پنج میلی‌لیتر خون از ورید دست چپ توسط متخصص آزمایشگاه اخذ و داخل تیوپ‌های مخصوص به آزمایشگاه انتقال داده شد. از کیت‌های شرکت (Roche) ساخت آلمان برای اندازه‌گیری متغیرهای خونی استفاده شد. سطوح انسولین به روش کمی لومینسانس (۲۴) و سایر متغیرها به روش آنزیمی - کالریمتری (۲۵) اندازه‌گیری و برای آنزیم‌های کبدی (AST,ALT) از دستگاه اتوآنالایزر Cobas®C-311 و برای گلوکز و انسولین از دستگاه Cobas®E-411 استفاده شد. نقطه برشی برای بررسی مقاومت به انسولین پسران $\leq 1/95$ براساس معیار Rocco و همکاران تعیین و به وسیله فرمول زیر محاسبه شد (۲۶).

$HOMA-IR = \frac{22/5}{\mu U/ml} \times [m \text{ mol/l}]$ انسولین ناشتا

۹). کلیشادی و همکاران (۱۳۸۸) شیوع ۵۴/۴ درصدی و شیاسی آرنی و همکاران (۱۳۹۲) شیوع ۵۳/۳ درصدی کبد چرب را در کودکان چاق گزارش کرده‌اند (۱۰). کبدچرب به عنوان تظاهرات کبدی سندرم متابولیک نیز شناخته می‌شود که شامل چاقی مرکزی، پرفشارخونی، اختلال چربی‌های خون، اختلال در تنظیم گلوکز و مقاومت به انسولین است و مقاومت انسولینی نقش مهمی در سندرم متابولیک و پاتوژنز کبدچرب دارد (۱۱). آنزیم‌های کبدی اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در سلول‌های کبدی موجود و با تخریب سلول‌های کبدی در سرم بیماران تشریح و افزایش آن‌ها نشانه تخریب سلول کبدی است. گرچه افزایش میزان آنزیم‌های کبدی با شدت بیماری ارتباط مستقیم نداشته و در حدود ۵۰ درصد مبتلایان به کبد چرب مشاهده می‌شود، اما این افزایش در مراحل پیشرفته بیماری به ۸۰ درصد می‌رسد (۱۲). تشخیص دقیق کبدچرب غیرالکی بر اساس بیوپسی کبد و نمای آسیب‌شناختی است، اما به دلیل تهاجمی بودن بیوپسی و پرهزینه بودن سایر روش‌های تصویربرداری، در مراکز بالینی تشخیص کبدچرب غیرالکی براساس شواهد سونوگرافی کبد براق است (۱۳). مداخله‌ها در شیوه زندگی شامل به کارگیری رژیم‌های غذایی مختلف و فعالیت ورزشی سبب کاهش چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن می‌شود (۱۴). درحال حاضر درمان دارویی معینی برای کبدچرب کودکان معرفی نشده و نشان داده شده است مداخله‌های سبک زندگی شامل فعالیت بدنی منظم و تغذیه سالم می‌تواند منجر به کنترل و درمان کبدچرب کودکان شود (۱۵)، اما در مورد نوع، شدت و مدت تمرین ورزشی اطلاعات کمتری وجود دارد (۱۶). نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند فعالیت‌های ورزشی می‌تواند در کنترل و درمان کبدچرب بدون تغییر در رژیم غذایی و کاهش وزن مفید باشد، اما مطالعه‌هایی که از ورزش به تنهایی به عنوان یک عامل کمکی برای کنترل بیماری کبد چرب استفاده کرده باشند، بسیار محدود هستند (۱۵). در مطالعه‌ای Van der Heijden و همکاران (۲۰۱۰) اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر چربی احشایی نوجوانان چاق را بررسی و نشان دادند که مداخله‌های ورزشی به کاهش چربی کبد و بهبود مقاومت انسولینی منجر شده است (۱۷). از سوی دیگر، Hamasaki و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند ۱۲ هفته تمرین هوازی و مقاومتی در نوجوانان چاق مبتلا به کبد چرب اثر معناداری بر کاهش محتوای چربی کبد داشته است (۱۸). تمرین‌های تناوبی شدید که در دهه اخیر به عنوان یک روش تمرینی سودمند معرفی شده‌اند، شامل دوره‌های کوتاه مدت فعالیت ورزشی با شدت بالا و دوره‌های استراحت کوتاه بین آن‌ها همراه است و به دلیل مدت زمان اندک اجرای این تمرین‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۹). با وجود اینکه برخی شواهد حاکی از اثر مثبت تمرین‌های تناوبی بر نیمرخ متابولیکی در بزرگسالان است، ولی پژوهش‌های اندکی در مورد اثربخشی این شیوه تمرینی روی کودکان و نوجوانان انجام شده است، ضمن این که برای پیشگیری از بروز و تشدید این عارضه در بزرگسالی نیاز به مطالعه‌های بیشتری است. برخی مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهند تمرین‌های تناوبی در کودکان و نوجوانان سبب بهبود وضعیت شاخص‌های متابولیکی (نیمرخ چربی خون، مقاومت به انسولین، فشارخون)، ترکیب بدن و استقامت قلبی - عروقی می‌شود و به نوبه خود نسبت محیط کمر به نشیمنگاه (WHR) به عنوان یکی از معیارهای چاقی احشایی و مرتبط با کبد چرب و بیماری‌های قلبی - عروقی شناخته شده است که با تمرین بهبود می‌یابد (۲۰). با توجه به اهمیت پیشگیری در بیماری‌های غیرواگیر و محدود بودن پژوهش‌ها در مورد اثر تمرین‌های تناوبی شدید بر شاخص‌های بیماری کبد چرب در کودکان و نوجوانان چاق، در این پژوهش اثر هشت هفته تمرین‌های تناوبی شدید روی چربی کبدی، مقاومت انسولینی، آنزیم‌های کبدی، AST,ALT, WHR، اوج اکسیژن مصرفی و درصد چربی بدن کودکان و نوجوانان مبتلا به کبد چرب بررسی شد.

مواد و روش‌ها آزمودنی‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که با دو گروه و با طرح پیش آزمون - پس آزمون اجرا شد. تعداد دانش‌آموز ۱۵-۱۰ سال شهرستان شهرکرد که شاخص توده بدن (BMI) بالای صدک ۹۵ داشتند و در آزمایش‌های سونوگرافی دارای درجاتی از

برنامه تمرینی

برنامه هشت هفته‌ای گروه تجربی استخراج شده از پروتکل تمرینی Racil و همکاران (۲۰۱۳) در جدول زیر ارائه شده است (۲۷)، که بعد از اجرای آزمایشی در یک نمونه کوچک اندکی تعدیل شد. این تمرین‌ها شامل دویدن یک مسافت معین برای مدت ۳۰ ثانیه و ۳۰ ثانیه استراحت فعال بین مراحل فعالیت بود. سرعت طی مسافت هر فرد برای دویدن به مدت ۳۰ ثانیه، براساس حداکثر سرعتی تجربه شده در آزمون ۲۰ متر رفت و برگشت قابل تخمین است و این مسافت هر دو هفته یکبار براساس رکورد جدید افزایش پیدا کرد. گروه کنترل در این مدت هیچ گونه فعالیت بدنی منظم نداشت.

برنامه تمرینی گروه تجربی

هفته ها	گرم کردن	نرمش و حرکات کششی پویا	تمرین تناوبی شدید	سرد کردن بدن
اول و دوم	۵ دقیقه	۵ دقیقه	* ۳۰/۳۰ × ۶-۲ تکرار	۱۰ دقیقه
سوم تا پنجم	۵ دقیقه	۵ دقیقه	۳۰/۳۰ × ۷-۲ تکرار	۱۰ دقیقه
ششم تا هشتم	۵ دقیقه	۵ دقیقه	۳۰/۳۰ × ۸-۲ تکرار	۱۰ دقیقه

*مثال: فرد دو دوره هر دوره شش تکرار و هر تکرار به مدت ۳۰ ثانیه مسافتی را با ۱۰۰ درصد حداکثر سرعت هوایی (سرعت براساس آزمون ۲۰ متر رفت و برگشت) می‌دود. بین هر تکرار استراحت فعال (۳۰ ثانیه ای با ۵۰ درصد حداکثر سرعت هوایی) دارد و چهار دقیقه استراحت غیرفعال بین هر دوره تمرینی در نظر گرفته شد.

تحلیل آماری

برای تحلیل آماری و بررسی تغییر متغیرهای وابسته پژوهش در گروه‌ها قبل و بعد از تمرین، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک تعیین و با در نظر گرفتن توزیع طبیعی، همگنی واریانس‌ها و همچنین مفروضه‌های آزمون تحلیل کوواریانس و خی، از این آمارها برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد و سطح معناداری کمتر از پنج درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه تجربی ۲۳ نوجوان مبتلا به کبد چرب در دو گروه تمرین تناوبی شدید و کنترل شرکت داشتند. میانگین سنی گروه تمرین تناوبی 11.02 ± 1.2 و گروه کنترل 12.81 ± 0.95 بود. در جدول ۱ نتایج و مقایسه بین میانگین‌های شاخص‌های بدنی و فیزیولوژیکی آزمودنی‌ها نشان داده شده است. داده‌های حاصل نشان می‌دهند که بین میانگین وزن، BMI، WHR، درصد چربی بدن و اوج اکسیژن مصرفی گروه‌ها پس از هشت هفته تمرین تفاوت معناداری وجود داشت، ولی تغییر در فشارخون سیستول و دیاستول و درجه کبد چرب معنادار نبود ($p \leq 0/05$).

جدول ۲ - نتایج مقایسه درون-بین گروهی شاخص‌های بیوشیمیایی دو گروه تمرین تناوبی و کنترل در ابتدا و پس از هشت هفته تمرین تناوبی را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود بین میانگین آنزیم‌های کبدی ALT، AST، انسولین ناشتا و مقاومت انسولینی دو گروه تفاوت معناداری وجود داشت، اما تغییر در گلوکز ناشتا معنادار نبود ($p \leq 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاکی از بهبود قابل توجه در اوج اکسیژن مصرفی (۹/۳۸ درصد) و اثر بخشی این پروتکل تمرینی روی سازگاری‌های قلبی-عروقی در کودکان و نوجوانان بود. همچنین نشان داده شد که هشت هفته تمرین تناوبی سبب کاهش معنادار آماری در سطوح متغیرهای مورد اندازه‌گیری شامل درصد چربی بدن ($1/25$ -درصد)، WHR ($1/24$ -درصد)، فشارخون سیستول و دیاستول (به ترتیب $2/34$ - و $2/52$ -درصد)، کاهش در آنزیم‌های ALT، AST (به ترتیب $13/95$ - و $12/42$ -درصد)، انسولین ناشتا ($12/37$ -درصد) و HOMA-IR ($15/24$ -درصد) شد. نتایج سونوگرافی نیز حاکی از بهبود در نمای پارانشیم کبد در شش نفر از ۱۱ نفر گروه تجربی بود. همسو با پژوهش حاضر Racil و همکاران (۲۰۱۳) نیز اثر مثبت تمرین تناوبی شدید در بهبود اوج اکسیژن مصرفی (استقامت قلبی-عروقی) در نوجوانان را گزارش کرده‌اند (۲۷). سازوکار دقیق اثر تمرین‌های تناوبی و چگونگی بهبود اکسیژن مصرفی هنوز کامل شناخته نشده است، اما محققان بیان کرده‌اند در این تمرین‌ها به دلیل دوره استراحت کوتاه و دوره‌های تمرین تناوبی شدید، فشار تمرینی بیشتری روی سیستم عضلانی-قلبی - عروقی اعمال و همچنین در زمان استراحت سازگاری‌های بیشتری حاصل و نسبت به تمرین‌های تداومی هوایی محرک قوی‌تری برای سازگاری قلبی-عروقی ایجاد می‌شود (۲۸). مطالعه‌های پیشین نشان داده‌اند که آمادگی قلبی-تنفسی با سطح ALT و مقاومت انسولینی در نوجوانان چاق یک ارتباط منفی قوی دارد (۲۹)، بنابراین شاید بهبود سطوح اکسیژن مصرفی به عنوان شاخصی از استقامت قلبی-عروقی در گروه تجربی پژوهش حاضر از عوامل موثر در بهبود کبد چرب باشد.

در پژوهش حاضر همه آزمودنی‌ها در صدک بالای ۹۵ درصدی BMI قرار داشته و با میانگین WHR بالای ۰/۹ دارای اضافه وزن و چاق بودند و در مطالعه‌های پیشین نیز ارتباط قوی بین چاقی و کبد چرب غیرالکلی در کودکان گزارش و مشخص شده که حدود ۹۰-۷۰ درصد کودکان دارای کبد چرب چاق نیز هستند (۳۰). از سوی دیگر Manco و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که از ۱۹۷ کودک مبتلا به کبد چرب براساس آزمایش‌ها، حدود ۸۴ درصد آن‌ها بر حسب سن و جنسیت دارای WHR بالایی نیز بودند (۳۱).

در مطالعه‌ای روی کودکان و نوجوانان نشان داده‌اند که کاهش متوسط وزن و BMI سبب کاهش سطوح ALT کبدی می‌شود (۳۰)، و از سوی دیگر کاهش وزن در نتیجه تغییر در سبک زندگی، تغذیه و ورزش می‌تواند چربی احشایی و کبدی را کاهش دهد (۳۲). در مطالعه حاضر، گروه تمرین تناوبی کاهش حدود ۴/۵ درصدی وزن بدن و کاهش $1/25$ درصدی چربی بدن را تجربه کردند و باتوجه به اینکه آزمودنی‌ها هیچ‌گونه محدودیت غذایی در طول مطالعه نداشتند، شاید برنامه تمرینی در کاهش وزن و به دنبال آن کاهش چاقی شکمی (WHR) و بهبود بافت پارانشیم کبدی (شش نفر از گروه تجربی) موثر بوده است. از سوی دیگر شواهدی وجود دارد که مداخله‌های ورزشی سطوح چربی کبد و چربی احشایی را حتی در صورت عدم کاهش وزن کاهش می‌دهند (۳۱). بنابراین اگرچه کاهش وزن برای کنترل کبد چرب اهمیت دارد، اما فعالیت‌های ورزشی منظم و مناسب ضمن کاهش وزن، در بهبود حساسیت انسولینی، تنظیم نیمرخ چربی پلاسما موثر و دارای فواید سودمند دیگری نیز هستند (۳۳). علاوه بر این، کاهش در آمینوترانسفرازها در نتیجه مداخله‌های ورزشی-تغذیه‌ای منجر به بهبود بافت کبدی آسیب دیده می‌شود (۳۴). شواهد حاکی از اثر بخشی انواع تمرین‌های هوایی شامل دویدن روی نوارگردان، پیاده روی و قایقرانی با شدت‌های مختلف روی سطوح AST و ALT در این بیماران بوده است (۳۲). همچنین در پژوهش‌های دیگری به سودمندی تمرین‌های تناوبی شدید در بهبود سطوح چربی کبد و آمینوترانسفرازها اشاره شده است (۱۸) که با یافته تحقیق حاضر همسو است، البته برخی مطالعه‌ها نیز عدم کاهش معنادار در سطوح چربی کبدی، وزن بدن و آمینوترانسفرازها پس از یک دوره چهار هفته‌ای تمرین‌های تناوبی شدید را نشان دادند (۱۹)، که از دلایل احتمالی آن به مدت زمان کم

جدول ۱- شاخص‌های تن سنجی و فیزیولوژیکی گروه‌ها

#ES	P بین گروهی	تمرین تناوبی شدید			کنترل			مقیاس تانر I/II/III/IV/V
		P درون گروهی	پس آزمون	پیش آزمون	P درون گروهی	پس آزمون	پیش آزمون	
			۰/۵/۲/۴/۰		۰/۳/۴/۵/۰			وزن (کیلوگرم)
۰/۷۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۶۰/۵۱±۷/۱۱	۶۳/۲۰±۷/۴۷	۰/۲۶۱	۶۵/۶۳±۱۱/۶۶	۶۵/۳۰±۱۲/۰۴	BMI (کیلوگرم بر مترمربع)
۰/۷۳۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۲۵/۳۵±۱/۶۲	۲۶/۴۷±۱/۷۴	۰/۲۳۱	۲۹/۶۰±۱/۹۹	۲۶/۴۵±۲/۲۱	درصد چربی بدن
۰/۵۱۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۲۹/۹۹±۱/۷۲	۳۰/۳۷±۱/۹۵	۰/۵۳۵	۳۱/۵۱±۱/۱۶	۳۱/۴۱±۱/۱۹	WHR
۰/۲۲۱	۰/۰۲۷	۰/۰۰۹	۰/۹۵±۰/۰۷	۰/۹۶±۰/۰۶	۰/۲۱۳	۰/۹۷±۰/۰۳	۰/۹۷±۰/۰۳	اوج اکسیژن مصرفی (میلی متر/کیلوگرم/دقیقه)
۰/۸۷۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۳۸/۷۰±۱/۶۸	۳۵/۳۸±۲/۳۳	۰/۷۷۹	۳۵/۲۳±۲/۶۸	۳۵/۰۱±۲/۹۷	فشارخون سیستول (میلی مترجیوه)
۰/۰۴۱	۰/۳۶۵	۰/۱۴۱	۱۱۹/۸۲±۳/۶۵	۱۲۲/۷±۶/۷۹	۰/۷۴۲	۱۲۰/۳۳±۵/۱۷	۱۱۹/۸۳±۷/۶۰	فشارخون دیاستول (میلی مترجیوه)
۰/۱۴۵	۰/۰۸۱	۰/۰۶۹	۷۳/۶۴±۴/۹۲	۷۵/۵۵±۶/۷۴	۰/۲۱۵	۷۴/۸۳±۷/۹۹	۷۴/۵۸±۸/۱۴	درجه سونوگرافی کبد (۳-۱)
	۰/۲۴۱	۰/۰۱۴	۰/۵۵±۰/۵۲	۱/۰۹±۰/۳۰	۰/۱۵۷	۰/۹۲±۰/۵۱	۱/۰۸±۰/۲۸	

Effect Size = اندازه اثر عامل آزمایشی: مقادیر برحسب میانگین و انحراف معیار (P<۰/۰۵)
BMI: شاخص توده بدن؛ WHR: نسبت محیط کمر به نشیمنگاه

جدول ۲- میزان شاخص‌های بیوشیمیایی گروه‌ها

#ES	P بین گروهی	تمرین تناوبی شدید			کنترل			AST (واحد برلیتر)
		P درون گروهی	پس آزمون	پیش آزمون	P درون گروهی	پس آزمون	پیش آزمون	
۰/۳۳۹	۰/۰۰۴	۰/۰۴۶	۳۰/۸۲±۶/۴۱	۳۵/۸۲±۱۳	۰/۳۰۹	۳۴/۶۷±۷/۶۲	۳۳/۰۸±۸/۴۰	
۰/۳۶۶	۰/۰۰۳	۰/۰۲۱	۳۲/۶۴±۶/۰۵	۳۷/۲۷±۱۰/۸۸	۰/۳۱۱	۳۸/۰۸±۸/۷۰	۳۶/۶۷±۸/۸۱	
۰/۰۲۵	۰/۴۸۳	۰/۳۳۰	۸۲±۷/۶۱	۸۴/۵۵±۷/۱۱	۰/۷۵۱	۸۲/۱۷±۷/۸۷	۸۱/۶۷±۸/۷۰	
۰/۳۵۹	۰/۰۰۳	۰/۰۲۶	۱۱/۹۷±۲/۱۸	۱۳/۶۶±۴/۱۰	۰/۱۷۰	۱۵/۱۶±۳/۶۸	۱۵/۷۳±۴/۰۹	
۰/۳۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۳۶	۲/۳۹±۰/۳۳	۲/۸۲±۰/۸۶	۰/۴۶۲	۳/۰۹±۰/۹۰	۳/۱۸±۰/۹۵	

ES= Effect Size: اندازه اثر عامل آزمایشی: مقادیر برحسب میانگین و انحراف معیار (P<۰/۰۵)
ALT: آلانین آمینوترانسفراز؛ AST: آسپاراتات آمینوترانسفراز؛ HOMA-IR: شاخص مقاومت انسولینی؛ FBS: قند خون ناشتا

تمرین‌ها می‌توان اشاره کرد. مقاومت انسولینی در بیشتر کودکان و نوجوانان دارای کبدچرب نیز شناسایی و به نظر می‌رسد از عوامل موثر در بروز کبدچرب در کودکان باشد (۲۸). به‌خوبی مشخص شده است که پیشرفت در بیماری‌های کبدی با مداوم و یا تشدید اختلال‌های متابولیک از جمله HOMA-IR همراه است (۳۵). در پژوهش‌های متعددی اثر تمرین هوازی تناوبی روی مقاومت انسولینی و ترکیب بدن کودکان بررسی و نشان دادند که تمرین هوازی یا ترکیبی بدون کاهش وزن، سبب کاهش مقاومت انسولینی و کاهش محیط کمری، حتی بدون محدودیت کالریک سبب کاهش مقاومت انسولینی و چربی کبدی در کودکان چاق و دارای کبدچرب نیز شده‌اند (۱۷، ۱۸).

در پژوهش حاضر بهبود قابل توجهی در مقاومت انسولینی (کاهش حدود ۱۵ درصدی) آزمودنی‌های گروه تجربی به دنبال فقط هشت هفته تمرین‌های تناوبی شدید مشاهده شد که با نتایج پژوهش‌های پیشین همخوان (۱۷) و به نظر می‌رسد عامل اصلی در بهبود نسبی اکوپارانشیم کبدی گروه تجربی باشد. در بیماران مبتلا به کبدچرب و با مقاومت انسولینی، برخلاف افراد بدون مقاومت انسولینی، لیپولیز در بافت چربی تسریع می‌شود،

بدون محدودیت کالریک سبب کاهش مقاومت انسولینی و چربی کبدی در کودکان چاق و دارای کبدچرب نیز شده‌اند (۱۷، ۱۸). در پژوهش حاضر بهبود قابل توجهی در مقاومت انسولینی (کاهش حدود ۱۵ درصدی) آزمودنی‌های گروه تجربی به دنبال فقط هشت هفته تمرین‌های تناوبی شدید مشاهده شد که با نتایج پژوهش‌های پیشین همخوان (۱۷) و به نظر می‌رسد عامل اصلی در بهبود نسبی اکوپارانشیم کبدی گروه تجربی باشد. در بیماران مبتلا به کبدچرب و با مقاومت انسولینی، برخلاف افراد بدون مقاومت انسولینی، لیپولیز در بافت چربی تسریع می‌شود،

ایجاد تجربه موفقیت‌آمیز برای افراد داشت، همچنین استفاده از نمونه‌هایی که به بلوغ کامل نرسیده‌اند و عدم گزارش صدمه جسمانی از طرف آزمودنی‌ها در طول اجرای پژوهش حاکی از ایمنی نسبی پروتکل تمرین تناوبی مورد استفاده است. نداشتن محدودیت کالریک و نبود کنترل کامل روی تغذیه آزمودنی‌ها، فعالیت‌های جسمانی خارج از ساعت‌های تمرینی در طول مطالعه از جمله محدودیت‌هایی این پژوهش بود. در نهایت یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از اثربخشی تمرین‌های تناوبی شدید به عنوان یک شیوه تمرینی موثر و بالقوه اقتصادی برای نوجوانان چاق و دارای اضافه وزن مبتلا به کبد چرب بود، اما اثر تغییرات در اصول تجویز تمرینی دیگر (شدت‌های مختلف، مدت، نوع تمرین، حجم‌های مختلف تمرینی) برای معرفی موثرترین راهبرد تمرینی، جنسیت بیمار، نوع تغذیه و محیط زندگی افراد در پژوهش‌های آتی باید بیشتر بررسی شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه به عنوان بخشی از رساله دکتری با حمایت مالی و معنوی معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان انجام شده است. به این وسیله نویسندگان کمال تشکر و قدردانی خود را ابراز می‌دارند و همچنین از همکاری والدین محترم و نوجوانان شرکت‌کننده در این پژوهش صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

منابع:

- Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *Jama*. 2006; 295 (13):1549-55.
- Janssen I, Katzmarzyk PT, Boyce WF, Vereecken C, Mulvihill C, Roberts C, et al. Comparison of overweight and obesity prevalence in school-aged youth from 34 countries and their relationships with physical activity and dietary pattern. *Obesity Reviews*. 2005; 6(2):123-32.
- Ji CY. The prevalence of childhood overweight/obesity and the epidemic changes in 1985-2000 for Chinese school-age children and adolescents. *Obesity Reviews*. 2008; 9 Suppl 1:78-81
- Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2012;54 (5):700-13.
- Mollleston JP, Schwimmer JB, Yates KP, Murray KF, Cummings OW, Lavine JE, et al. Histological abnormalities in children with nonalcoholic fatty liver disease and normal or mildly elevated alanine aminotransferase levels. *The Journal of pediatrics*. 2014;164(4):707-13.e3.
- Nobili V, Alisi A, Grimaldi C, Liccardo D, Francalanci P, Monti L, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma in a 7-year-old obese boy: coincidence or comorbidity? *Pediatric obesity*. 2014;9(5):e99-e102.
- Chan DF, Li AM, Chu WC, Chan MH, Wong EM, Liu EK, et al. Hepatic steatosis in obese Chinese children. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2004;28(10):1257-63.
- Papandreou D, Karabouta Z, Pantoleon A, Rousso I. Investigation of anthropometric, biochemical and dietary parameters of obese children with and without non-alcoholic fatty liver disease. *Appetite*. 2012;59 (3):939-44.
- Sartorio A, Del Col A, Agosti F, Mazzilli G, Bellentani S, Tiribelli

بنابراین شاید افزایش فعالیت بافت چربی سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد گردش خون این بیماران و این اسیدهای چرب منبع اصلی تری برای گلیسیریدهای درون کبدی خواهند بود(۳۶). Hallsworth و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که سازوکار اصلی تغییر در سطوح چربی‌های کبدی پس از تمرین ورزشی، شاید بهبودی در حساسیت انسولینی، چربی‌های گردش خون و تعادل انرژی است، و حساسیت انسولین نقش مهمی در هموستاز چربی کبدی دارد(۳۷). همچنین مطالعه‌های اخیر، بهبود عملکرد میتوکندریایی سلول‌های کبدی در اثر فعال شدن اتوفاژی در آن‌ها، کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش روند گلوکونئوز بعد از انجام تمرین‌های تناوبی شدید را دلایل کاهش چربی کبدی و بهبود عوامل مرتبط با آن در بیماران مبتلا به این عارضه می‌دانند(۱۸). همخوان با پژوهش حاضر گزارش شده است که ۱۲ هفته تمرین تناوبی در افراد بزرگسال دارای کبد چرب سبب کاهش چربی کبد، چربی کل بدن و بهبود آنزیم‌های AST و ALT شده است(۳۸). امروزه، با وجود اهمیت تمرین‌های ورزشی و به ویژه تمرین‌های استقامتی، کمتر از ۲۰ درصد افراد جامعه ۱۵۰ دقیقه ورزش استقامتی پیشنهادی انجمن آمریکایی طب ورزشی در هفته را انجام می‌دهند و اغلب به کمبود زمان به عنوان یک عامل بازدارنده مهم اشاره می‌کنند(۳۹). بنابراین تمرکز روی استراتژی‌های تمرینی جدید برای تشویق نوجوانان به فعالیت بدنی کافی برای پیشگیری از بروز بیماری‌ها، حفظ و توسعه تندرستی ضروری است(۲۰). میزان مشارکت بالای آزمودنی‌های گروه تجربی در این پژوهش نشان از جذابیت، تنوع و

C, et al. Predictors of non-alcoholic fatty liver disease in obese children. *European journal of clinical nutrition*. 2007;61(7):877-83.

10. Arani K, Haghshenas M, Talari H, Akbari H, Hami K, Taghavi Ardekani A, et al. Prevalence of fatty liver disease in obese children and adolescents who referred to pediatric clinic of Kashan university of medical sciences, Iran (2012-2013). *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2013;15:77-83

11. AlKhatir SA. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: an overview. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2015;16(5):393-405.

12. Jamali R, Khonsari M, Merat S, Khoshnia M, Jafari E, Bahram Kalhori A, et al. Persistent alanine aminotransferase elevation among the general Iranian population: prevalence and causes. *World journal of gastroenterology*. 2008;14(18):2867-71.

13. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123(3):745-50.

14. Caranti D, De Mello M, Prado W, Tock L, O Siqueira K, Piano A, et al. Short- and long-term beneficial effects of a multidisciplinary therapy for the control of metabolic syndrome in obese adolescents. *Metabolism: clinical and experimental*. 2007;56:1293-300.

15. Abdelbasset WK, Tantawy SA, Kamel DM, Alqahtani BA, Soliman GS. A randomized controlled trial on the effectiveness of 8-week high-intensity interval exercise on intrahepatic triglycerides, visceral lipids, and health-related quality of life in diabetic obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Medicine*. 2019;98 (12):e14918.

16. Africa JA, Newton KP, Schwimmer JB. Lifestyle Interventions Including Nutrition, Exercise, and Supplements for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Digestive Diseases and Sciences*. 2016; 61(5): 1375-1386.

17. Van der Heijden G, Wang Z, Chu Z, Sauer P, Haymond M, Rodriguez L, et al. A 12-week aerobic exercise program reduces hepatic fat accumulation and insulin resistance in obese,

His-panic adolescents. *Obesity*. 2010;18 (2):384-90.

18. Hamasaki H. Perspectives on Interval Exercise Interventions for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicines (Basel)*. 2019; 6(3): 83.

19. Logan GR, Harris N, Duncan S, Schofield G. A review of adolescent high-intensity interval training. *Sports medicine*. 2014;44(8):1071-85.

20. Costigan SA, Eather N, Plotnikoff RC, Taaffe DR, Lubans DR. High-intensity interval training for improving health-related fitness in adolescents: a systematic review and meta-analysis. *British journal of sports medicine*. 2015;49(19):1253-61.

21. Peterson MJ, Czerwinski SA, Siervogel RM. Development and validation of skinfold-thickness prediction equations with a 4-compartment model. *The American journal of clinical nutrition*. 2003; 77(5):1186-91.

22. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Archives of disease in childhood*. 1976;51(3):170-9.

23. Matsuzaka A, Takahashi Y, Yamazoe M, Kumakura N, Ikeda A, Wilk B, et al. Validity of the Multistage 20-M Shuttle-Run Test for Japanese Children, Adolescents, and Adults 2004. 113-25 p.

24. Baeyens WR, Schulman SG, Calokerinos AC, Zhao Y, Garcia Campana AM, Nakashima K, et al. Chemiluminescence-based detection: principles and analytical applications in flowing streams and in immunoassays. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 1998;17(6-7):941-53.

25. Bratthauer G. The Peroxidase-Antiperoxidase (PAP) Method and Other All-Immunologic Detection Methods. *Methods in molecular biology*. 2010;588:243-55.

26. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2008; 294(1):E15-26.

27. Racil G, Ben Ounis O, Hammouda O, Kallel A, Zouhal H, Chamari K, et al. Effects of high vs. moderate exercise intensity during interval training on lipids and adiponectin levels in obese young females. *European journal of applied physiology*. 2013;113(10):2531-40.

28. Ross LM, Porter RR, Durstine JL. High-intensity interval training (HIIT) for patients with chronic diseases. *Journal of sport and health science*. 2016;5(2):139-44.

30. Kelishadi R, Cook SR, Amra B, Adibi A. Factors associated with insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease among youths. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):538-43.

30. Nobili V, Alisi A, Raponi M. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: preventive and therapeutic value of lifestyle intervention. *World journal of gastroenterology*. 2009;15(48):6017-22.

31. Manco M, Bedogni G, Marcellini M, De Vito R, Ciampalini P, Sartorelli MR, et al. Waist circumference correlates with liver fibrosis in children with non-alcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology and hepatology*. 2008;57:1283-7.

32. Keating SE, Hackett DA, Parker HM, O'Connor HT, Gerofi JA, Sainsbury A, et al. Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. *Journal of hepatology*. 2015;63(1):174-82.

33. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *The New England journal of medicine*. 2002; 346 (6):393-403.

34. Glass OK, Radia A, Kraus WE, Abdelmalek MF. Exercise Training as Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*. 2017;2(4):35.

35. Blond E, Disse E, Cuerq C, Draï J, Valette PJ, Laville M, et al. EASL-EASD-EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease in severely obese people: do they lead to over-referral? *Diabetologia*. 2017;60(7):1218-22.

36. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, Webb A, Hardies J, Darland C, et al. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2012;55(5):1389-97.

37. Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth KG, Thoma C, Moore S, Taylor R, et al. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gastroenterology and hepatology*. 2011, 60 (9); 1278-83.

38. Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, Cassidy S, Anstee QM, Day CP, et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Clinical science*. 2015;129 (12):1097-105.

39. Metcalfe RS, Babraj JA, Fawkner SG, Volland NB. Towards the minimal amount of exercise for improving metabolic health: beneficial effects of reduced-exertion high-intensity interval training. *European journal of applied physiology*. 2012;112(7):2767-75.