

تغییرات سطح کمترین و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیر الکلی: اثر تمرینات تناوبی شدید و مکمل گیری عصاره خرفه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۳۰

خلاصه

مقدمه

کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) با مقاومت به انسولین ارتباط نزدیکی دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر تمرینات تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه بر سطح کمترین کبدی و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی مبتلا به NAFLD بود.

روش کار

عدد ۲۵ موش نر بالغ نژاد ویستار با سن شش هفته با وزن $207/8 \pm 5/2$ گرم و در شرایط کنترل شده (نور، دما و رطوبت) بعد از یک هفته سازگاری با محیط در ۵ گروه کنترل سالم، کنترل کبد چرب، تمرین، عصاره و تمرین+عصاره بطور تصادفی قرار داده شدند. با توجه به وزن موش‌ها مکمل خرفه با دوز 400 mg/kg به دو گروه مربوطه خوراندند. تمرین تناوبی شدید به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته با شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه و تناوب‌های استراحت فعال انجام شد. پس از ۸ هفته مداخله، سطح کمترین کبدی به روش الایزا و مقاومت به انسولین سرمی مورد ارزیابی قرار گرفت. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $p < 0/05$ برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد.

نتایج

مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبد چرب غیر الکلی به طور معنی داری نسبت به گروه سالم کنترل بالاتر بود ($p=0/002$). سطح این شاخص در گروه تمرین ($p=0/01$)، عصاره خرفه ($p=0/037$) و تمرین+عصاره ($p=0/012$) به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. سطح کمترین کبدی در گروه تمرین ($p=0/010$)، مصرف عصاره خرفه ($p=0/017$) و تمرین+عصاره ($p=0/001$) به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود.

نتیجه گیری

احتمالاً تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه از طریق کاهش سطح کمترین و مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به NAFLD می‌تواند نقش مهمی را در کنترل پیشرفت این بیماری بر عهده داشته باشند.

کلمات کلیدی

بیماری کبد چرب غیر الکلی، کمترین، مقاومت به انسولین، تمرین تناوبی شدید، مکمل خرفه

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

محمد رعنائی^۱

علی یعقوبی^{۱*}

صادق چراغ بیرجندی^۱

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

Email: yaghoubiali65@gmail.com

مقدمه

بیماری کبد چرب غیر الکلی^۱ (NAFLD) با تجمع چربی در کبد، در غیاب مصرف بیش از حد الکل و سایر علل استئاتوز کبدی تعریف می‌شود و طیفی از شرایط را در بر می‌گیرد که در صورت عدم کنترل می‌تواند به سرطان کبد نیز ختم شود (۱، ۲). NAFLD به شدت با بیماری‌های متابولیکی شامل چاقی، دیابت نوع ۲ و دیس لیپیدمی همراه است (۳). دیابت نوع ۲ ارتباط نزدیکی با NAFLD دارد، به طوری که گزارش شده است بیش از سه چهارم بیماران دیابتی نوع ۲ به NAFLD مبتلا هستند (۴، ۵). همچنین گزارش شده است که NAFLD به شدت با مقاومت به انسولین در کبد و در بافت‌های محیطی مانند عضلات اسکلتی و بافت چربی مرتبط است (۶، ۷).

کمرین^۲ یک آدیپو سائتوکاین تازه کشف شده است که در بافت‌های چربی سفید، کبد، ریه و کلیه بیان می‌شود (۸). این هپاتوکاین یک جذب کننده شیمیایی برای سلول‌های ایمنی است و در ایمنی ذاتی و اکتسابی نقش دارد (۹). از طرف دیگر همبستگی مثبت کمرین سیستمیک با فنوتیپ‌های مرتبط با چاقی، مانند مقاومت به انسولین، شاخص توده بدنی^۳ (BMI) و تری گلیسیرید سرم، نشان دهنده عملکرد این آدیپوکاین در بیماری‌های متابولیک است (۱۰). نشان داده شده است که موش‌های د چار کمبود کمرین، گلوکونوژنز کبدی بالاتری داشتند و جذب گلوکز عضلانی اسکلتی را افزایش دادند. در موش‌های فاقد کمرین، فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B (Akt) در عضله با تزریق انسولین بهبود یافت ولی شایان ذکر است که در حیواناتی که کمرین حذف شده بود، اثر گلوکز در آزادسازی انسولین توسط سلول‌های بتای پانکراس مختل شد (۱۱). نتایج تحقیقات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که درمان با کمرین موجب مقاومت به انسولین در سلول‌های

عضله اسکلتی و ارسال پیام حساسیت انسولینی (توسط فسفوریلاسیون گیرنده انسولین-۱، Akt و گلیکوژن سنتاز کیناز ۳) و جذب گلوکز می‌شود (۱۲). همچنین نشان داده شده است که کمرین می‌تواند مسیر سیگنال دهی گیرنده انسولین را تحت تاثیر قرار دهد، منجر به مقاومت به انسولین یا تشدید مقاومت اولیه بدن به انسولین شود (۱۳). به دلیل ارتباط NAFLD و مقاومت به انسولین، اشاره شده است که یکی از نقش‌های مهم کمرین در NAFLD آشکار می‌شود. برای مثال نشان شده است که سطح کمرین سرم و امتیاز HOMA-IR به طور مثبتی با امتیاز NAFLD در بیماران ارتباط دارد و همچنین سطح کمرین با بالونی شدن سلول‌های کبدی در ارتباط است (۱۴). این نتایج در تحقیق ییلماز^۴ و همکاران (۲۰۱۱) که از نمونه بیوپسی کبدی استفاده کردند نیز به اثبات رسیده است (۱۵).

مطالعات قبلی ارتباط بین NAFLD و سبک زندگی بی تحرک را پیشنهاد کرده اند. فرض بر این است که ورزش بدنی با کاهش تجمع TG داخل کبدی، بهبود حساسیت به انسولین و کاهش استرس اکسایشی فواید چندعاملی بر اختلالات متابولیک دارد و یک درمان توصیه شده برای چاقی، دیابت و اختلالات متابولیکی است (۱۶). تمرین استقامتی برای حداقل ۳۰ دقیقه و ۵ روز در هفته برای کاهش خطر اختلال متابولیک پیشنهاد شده است (۱۷، ۱۸). با این حال، مردم اغلب قادر به انجام منظم تمرینات استقامتی نیستند و ارائه یک برنامه تمرینی عملی تر ضروری است (۱۷). تمرین تناوبی شدید^۵ (HIIT) شکلی از فعالیت بدنی با دوره‌های کوتاه و تناوب‌های فعالیت شدید است که به دنبال آن دوره‌های استراحت یا فعالیت ورزشی با شدت کمتر تکرار می‌شود (۱۷، ۱۹). بر اساس مطالعات صورت گرفته، شدت تمرین در مقابل حجم تمرین در بهبود اختلال متابولیک موثرتر است (۲۰). بنابراین انتظار می‌رود که تمرین

⁴ Yilmaz

⁵ High intensity interval training

¹ Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

² chemerin

³ Body Mass Index

روش کار

تهیه و گروه بندی حیوانات: پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون به همراه دو گروه کنترل و سه گروه آزمایش بود که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. در این تحقیق از ۲۵ سر موش نر بالغ نژاد ویستار با دامنه وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۵ گرم و سن شش هفته استفاده شد که از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بجنورد خریداری گردید. مطابق با خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی در قفس های ۳ یا ۴ تایی و تحت شرایط استاندارد (چرخه ۱۲ ساعته روشنایی - تاریکی، دمای 22 ± 3 درجه سانتی گراد) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی و سازگاری با محیط جدید، ۵ سر موش به عنوان گروه رژیم غذایی استاندارد (گروه اول) برای بررسی تغییرات وزن در طول دوره پژوهش انتخاب شدند. ۲۰ سر موش دیگر، به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند و مبتلا به NAFLD شدند (۲۸). جهت اطمینان از ابتلا به NAFLD، سطح آنزیم های کبدی مورد سنجش قرار گرفت و افزایش سطح آنزیم های کبدی به عنوان معیار ورود به تحقیق در نظر گرفته شد (۲۹). سپس به طور تصادفی و بر اساس وزن در ۴ گروه کنترل کبدچرب، تمرین، عصاره و تمرین+عصاره با تعداد برابر در هر گروه (۵ سر) تقسیم شدند. لازم به ذکر است، چون هدف این پژوهش بررسی اثر مستقل تمرین ورزشی و عصاره گیاهی دانه خرفه بود؛ گروه کنترل بیمار و ۳ گروه آزمایشی تا انتهای پژوهش، با رژیم غذایی پرچرب، تغذیه شدند.

رژیم غذایی پرچرب: با توجه به در دسترس نبودن غذای پرچرب مخصوص جوندگان در بازار، پلت های دست ساز شامل: ۳۵ درصد رژیم غذایی نرمال (پلت استاندارد آسیاب شده)، ۳۹/۶ درصد روغن حیوانی (روغن دنبه گوسفند نرینه)، ۲۰ درصد پودر پروتئین وی (۷۵ درصد پروتئین، ۱۲ درصد کربوهیدرات و ۸ درصد چربی و ۵ درصد ویتامین و

تناوبی شدید در بهبود دیابت و NAFLD در مقایسه با تمرینات استقامتی موثرتر باشد (۲۱). از طرف دیگر گیاه دارویی خرفه^۱ یکی از پر مصرف ترین داروهای گیاهی است (۲۲). دانه ها و برگ های خرفه کاربردهای درمانی متعددی دارند، خواص دارویی آن شامل کاهش قند خون، کاهش کلسترول خون، آنتی اکسیدان، ضد درد، ضد التهاب، ترمیم کننده زخم و گشاد کننده بروش می باشد (۲۳-۲۵). از آنجایی که ایمنی و اثر غیر سمی مصرف خرفه در مطالعات قبلی ثابت شده است (۲۲)، بنابراین پیشنهاد شده است که می توان آن را به عنوان یک درمان عملی در بیماران مبتلا به NAFLD مورد استفاده قرار داد (۲۵). در این زمینه زارعی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی دوزهای مختلف عصاره خرفه بر آنزیم های کبدی موش های مصرف کننده رژیم غذایی پرچرب نشان دادند که میزان آنزیم های کبدی در اثر مصرف رژیم غذایی پرچرب افزایش می یابد و مصرف عصاره گیاه خرفه میزان این شاخص های آسیب کبدی را کاهش می دهد (۲۶). از طرف دیگر لان و فوئر^۲ (۲۰۰۳) اظهار داشتند که مصرف عصاره خرفه، مقاومت به انسولین را در موش های دیابتی نوع ۲ بهبود می بخشد (۲۷).

در مجموع از آنجا که بیماری زایی و پیشرفت NAFLD به مقاومت به انسولین و عوامل درگیر در آن وابسته است و همچنین با توجه به اینکه تمرکز بسیاری از تحقیقات اخیر به درک مکانیسم های بیماری زایی و ارتباط بین NAFLD و دیابت از طریق مقاومت به انسولین در جهت درمان بهتر این بیماری گذاشته شده است (۳). از طرف دیگر با توجه به توصیه های صورت گرفته در مورد تمرین ورزشی و مصرف مکمل خرفه در کنترل و درمان NAFLD و نقش کلیدی آن ها در این امر، تحقیق حاضر در نظر دارد تا تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل خرفه را بر سطح کمربین کبدی و مقاومت به انسولین در موش های NAFLD مورد بررسی قرار دهد.

² Lan & Fu-er

¹ Portulaca Oleracea

بود. شروع تمرین با گرم کردن به مدت ۳ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه و ۲ دقیقه با شدت ۱۵ متر و سرد کردن با سرد کردن به مدت ۱ دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه، ۲ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه به پایان رسید. موش‌ها در گروه تمرین، ۵ روز در هفته با دو روز استراحت در وسط و آخر هفته به مدت ۸ هفته تمرین کردند (۳۰).

جدول ۱. جزئیات پروتکل تمرین تناوبی شدید

هفته تمرین	تناوب شدید		استراحت بین ست ها	
	تعداد ست (یک دقیقه)	سرعت (متربردقیقه)	تعداد ست (یک دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)
اول	۷	۳۰	۶	۱۵
دوم	۸	۳۰	۷	۱۵
سوم	۸	۳۴	۷	۱۷
چهارم	۹	۳۸	۸	۱۹
پنجم	۹	۴۲	۸	۲۱
ششم	۹	۴۶	۸	۲۳
هفتم	۹	۵۰	۸	۲۳
هشتم	۹	۵۴	۸	۲۵

نحوه مکمل دهی: بخش‌های هوایی گیاه خرفه از منطقه رویش آن در خراسان رضوی جمع‌آوری و پس از تایید کارشناس گیاه‌شناسی توسط آب شستشو داده شد و بعد از خشک شدن آسیاب شد تا پودر شود. پودر گیاه خرفه با اتانول آبی ۸۰ درصد استخراج شد و با تعیین محتوای اسید لینولئیک عصاره‌ها طبق روشی که قبلاً تو سعه داده شده بود، استاندارد شد (۳۳). بعد از تایید در آزمایشگاه کنترل کیفی براساس وزن موش با دوز ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به گروه‌های مربوطه به صورت گاوژ خورنده شد (۲۶).

بافت برداری: تمامی موش‌ها، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ناشتایی شبانه، با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ تا ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۸ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس بلافاصله بعد از شکافتن قفسه سینه، به صورت مستقیم با سرنگ پنج سی سی دارای سر سوزن ۲۴، خونگیری از بطن چپ قلب انجام شد. نمونه خون به آرامی در جدار داخلی لوله آزمایش تخلیه شد. قبل از سانتریفیوژ جهت جداسازی سرم، نمونه در لوله آزمایش در

مواد معدنی) ۵ درصد فروکتوز خوراکی، یک درصد کولین کلراید و ۰/۴ درصد کلسترول (مرک آلمان) بود. مواد فوق به صورت خمیر هموژن شد و سپس با دستگاه پلت ساز دستی به شکل و اندازه پلت‌های استاندارد منسجم و در مقابل گرما و باد خشک خواهند شد. در واقع هر یک کیلو پلت دست ساز پرچرب شامل ۳۵۰ گرم پلت استاندارد، ۳۹۶ گرم روغن دنبه، ۲۰۰ گرم پودر پروتئین وی، ۵۰ گرم فروکتوز و ۴ گرم کلسترول بود. پلت‌های پرچرب، پیش از مصرف توسط متخصصین آزمایشگاه تغذیه دانشکده پزشکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

پروتکل تمرین تناوبی شدید: جهت آشنا سازی با

نوارگردان، ابتدا موش‌های گروه تمرین و تمرین+عصاره به مدت یک هفته (۵ جلسه)، به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۶-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه به فعالیت بر روی نوارگردان پرداختند تا با نوارگردان و الگوی دویدن روی آن آشنا شوند. سپس به منظور تعیین دقیق شدت تمرین، آزمون حداکثر سرعت دویدن با استفاده از نوارگردان به روش غیرمستقیم انجام شد. بر این اساس، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، آزمون دویدن موش‌ها شروع و سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه یکبار به میزان ۲ متر در دقیقه افزایش یافت، تا جایی که حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد ارتباط بالایی بین سرعت بیشینه نوارگردان و $\dot{V}O_2\max$ موش‌های صحرایی نر وجود دارد ($r=0.94-0.98$)، $p<0.005$ (۳۱، ۳۰). از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن میزان $\dot{V}O_2\max$ موش‌های صحرایی نر را برآورد کرد (۳۲). بعد از ۲ روز استراحت پس از مرحله ی آشنایی و اندازه گیری $\dot{V}O_2\max$ ، برنامه ورزشی اجرا شد.

پروتکل تمرینی با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه که معادل ۷ تلاش ۱ دقیقه ای و سرعت ۳۰ متر در دقیقه و استراحت فعال بین فعالیت‌ها با شدت ۱۵ درصد سرعت بیشینه در هفته ی اول آغاز شد که به تدریج به ۸۰ درصد سرعت بیشینه در انتهای هفته افزایش یافت. در هفته دوم ۸۵ درصد سرعت بیشینه و در هفته سوم ۹۰ درصد سرعت بیشینه و در هفته چهارم ادامه و تا پایان هفته هشتم با همین شدت انجام شد. تناوب‌های استراحت فعال شامل ۲ دقیقه دویدن با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اول تا سوم و ۲۰ درصد در ابتدای هفته چهارم تا پایان دوره تمرین

NAFLD و انتهای دوره پژوهش گزارش شده است. در ابتدا سعی بر آن شد که تمامی گروه‌ها همگن بوده و میانگین وزن موش‌های گروه‌های تحقیق یکسان باشد.

جدول ۲. مقایسه وزن آزمودنی‌ها در پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه‌های تحقیق

گروه‌ها	مرحله		
	پیش‌آزمون	هفته دوازدهم	پس‌آزمون
کنترل سالم	۲/۶۸±۵/۰۷	۲/۸۶±۱۰/۶۷	۲/۷۸±۱۸/۳۵
	۰۶	۳۵	۷۶
کنترل کبد چرب	۲/۵۰±۶/۲۳	۲/۴۲±۱۶/۲۹	۳/۴۸±۲۱/۸۵
	۰۷	۶۵	۰۹
تمرین	۲/۳۸±۵/۷۶	۲/۲۰±۱۰/۰۵	۲/۳۲±۱۷/۴۱
	۰۹	۵۷	۶۸
عصاره	۲/۵۸±۶/۶۴	۲/۴۰±۱۵/۱۸	۲/۱۶±۱۴/۲۲
	۰۹	۶۶	۸۴
تمرین+عصاره	۲/۵۴±۴/۲۹	۲/۳۶±۱۳/۹۳	۲/۴۸±۱۲/۲۴
	۰۸	۵۹	۷۷

* نشانه تفاوت معنی دار بین گروه‌های تحقیق در $p < 0.05$.

با توجه به نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه که در جدول ۱ گزارش شده می‌توان دریافت که وزن موش‌ها در گروه‌های تحقیق در گروه بندی اولیه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($p=0.889$). پس از ۱۲ هفته در بافت رژیم غذایی پرچرب جهت القای NAFLD در موش‌های صحرایی افزایش وزن در موش‌ها مشاهده گردیده است ($p=0.008$). بعد از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و دریافت عصاره خرفه نیز تفاوت معنی‌داری بین وزن موش‌ها در گروه‌های تحقیق مشاهده شد ($p=0.02$).

در جدول ۳ میانگین و انحراف معیار و همچنین یافته‌های آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه در خصوص اثر تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه بر سطح متغیرهای وابسته تحقیق در گروه‌های تحقیق ارائه شده است.

دمای اتاق (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ دقیقه برای لخته شدن نگهداری شد. سپس لوله‌های آزمایش در چاهک‌های دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد و دستگاه روی سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جهت جدا سازی سرم تنظیم شد. پس از سانتریفیوژ، سرم توسط سمپلر به میکروتیوپ ۲ منتقل و در فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد انجام خون‌گیری در کمتر از یک دقیقه بافت کبد جدا و با محلول طبیعی سالیین به خوبی شسته‌شود داده شد تا خون اضافی روی بافت پاک شود. تمام مراحل پژوهش حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد با کد اخلاق IR.IAU.BOJNOURD.REC.1401.003 مورد تأیید قرار گرفت.

اندازه‌گیری شاخص‌ها: سطح گلوکز خون ناشتا با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون به روش فتومتریک اندازه‌گیری شد. سطح انسولین پلاسما به روش الایزا و با کیت شرکت کرباتیو دیاگنوستیکال آمریکا با شماره کاتالوگ DEIA1897 اندازه‌گیری شد. سطح کمربند کبدی با استفاده از کیت شرکت نووس بیولوژیکال با حساسیت ۱۸/۷۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و دامنه ۳۱/۲۵ تا ۲۰۰۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه مقاومت به انسولین از فرمول زیر استفاده شد:

$$HOMA-IR = \frac{FBS \times FI}{22.5}$$

روش‌های آماری: از آزمون شاپیروویلیک جهت بررسی توزیع طبیعی داده‌ها استفاده شد. جهت تعیین معنی‌داری بودن تفاوت میانگین پس‌آزمون متغیرها بین گروه‌های تحقیق، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. برای مقایسه جفتی گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

در جدول ۲ اطلاعات توصیفی مربوط به وزن موش‌ها در ابتدای دوره پژوهش، پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و ابتلا به

جدول ۳. مقایسه ی سطح کمترین، گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین گروه‌های تحقیق و یافته‌های آزمون تحلیل واریانس یک طرفه

شاخص	کنترل سالم*	کنترل کبد چرب	تمرین	عصاره خرفه	تمرین+عصاره	مقدار F†	مقدار P‡
گلوکز (mg/dl)	۱۱۱/۲۲±۹/۹۶	۱۶۷/۰۱±۱۸/۵	۱۳۰/۷۹±۸/۸۴	۱۳۳/۶±۱۱/۴۸	۱۱۵/۴±۵/۴۱	۱۷/۷۷۲	۰/۰۰۱ &
انسولین (ng/ml)	۱/۷۶±۰/۵	۳/۶۸±۱/۸۱	۰/۹۸±۰/۲۵	۱/۲۸±۰/۹۶	۰/۷۲±۰/۳۷	۷/۴۶۳	۰/۰۰۱ &
مقاومت به انسولین	۴/۹۴±۰/۷	۷/۳۴±۰/۳۱	۵/۳۶±۰/۷	۵/۶۸±۱/۲۳	۵/۴±۰/۹۵	۶/۱۵۰	۰/۰۰۲ &
کمترین (ng/mg tissue)	۷/۲۲±۱/۲۵	۹/۸۶±۱/۹۴	۶/۲۲±۱/۵۸	۶/۴۸±۱/۰۸	۵/۲۶±۱/۶۲	۶/۴۸۱	۰/۰۰۲ &

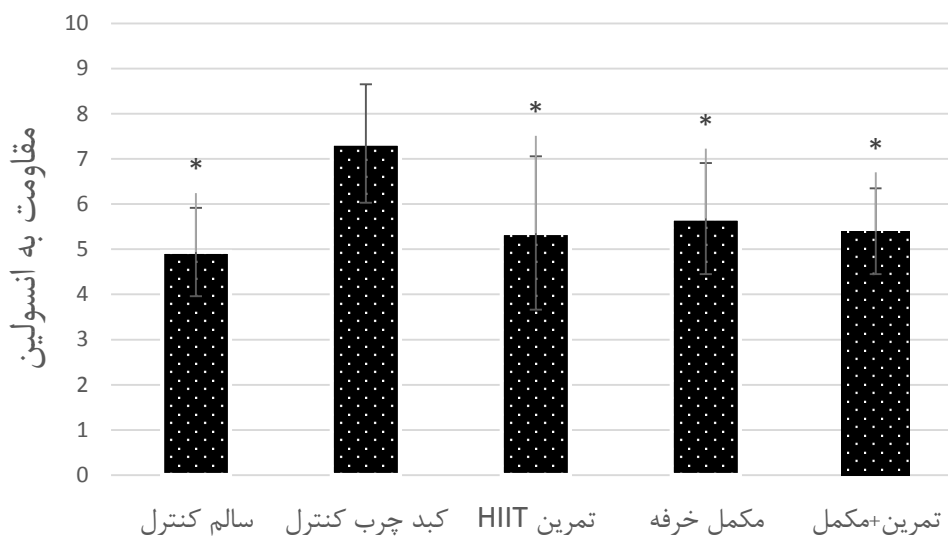
* مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است. † آماره ی آزمون، ‡ مقدار $P < 0/05$ از نظر آماری معنی دار است، & وجود تفاوت معنی دار ($P < 0/05$) بین گروه‌های تحقیق

کنترل بالاتر بود ($p=0/037$). سطح این شاخص در گروه تمرین ($p=0/002$)، مصرف عصاره خرفه ($p=0/007$) و تمرین+عصاره ($p=0/001$) به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. سطح انسولین پلازما در گروه‌های مصرف عصاره خرفه، تمرین و تمرین+عصاره تفاوتی مشاهده نشد ($p>0/05$).

مقایسه مقاومت به انسولین گروه‌های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین مقاومت به انسولین گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معنی داری وجود دارد ($F=6/150$) و ($p=0/002$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبد چرب به طور معنی داری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ($p=0/002$). سطح این شاخص در گروه تمرین ($p=0/01$)، مصرف عصاره خرفه ($p=0/037$) و تمرین+عصاره ($p=0/012$) به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. میزان مقاومت به انسولین در گروه‌های مصرف عصاره خرفه، تمرین و تمرین+عصاره تفاوتی مشاهده نشد ($p>0/05$). نمودار ۱، مقایسه مقاومت به انسولین متعاقب ۸ هفته تمرین و مصرف عصاره خرفه را ارائه می‌دهد.

مقایسه سطوح گلوکز خون ناشتا گروه‌های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطح گلوکز خون ناشتای گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معنی داری وجود دارد ($F=17/77$ و $p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح گلوکز خون ناشتا در گروه کنترل کبد چرب به طور معنی داری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ($p=0/001$). سطح این شاخص در گروه تمرین ($p=0/001$)، مصرف عصاره خرفه ($p=0/002$) و تمرین+عصاره ($p=0/001$) به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. اما سطح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های مصرف عصاره خرفه، تمرین و تمرین+عصاره تفاوتی مشاهده نشد ($p>0/05$).

مقایسه سطوح انسولین گروه‌های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطح انسولین پلازما گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معنی داری وجود دارد ($F=7/463$) و ($p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح انسولین پلازما در گروه کنترل کبد چرب به طور معنی داری نسبت به سالم

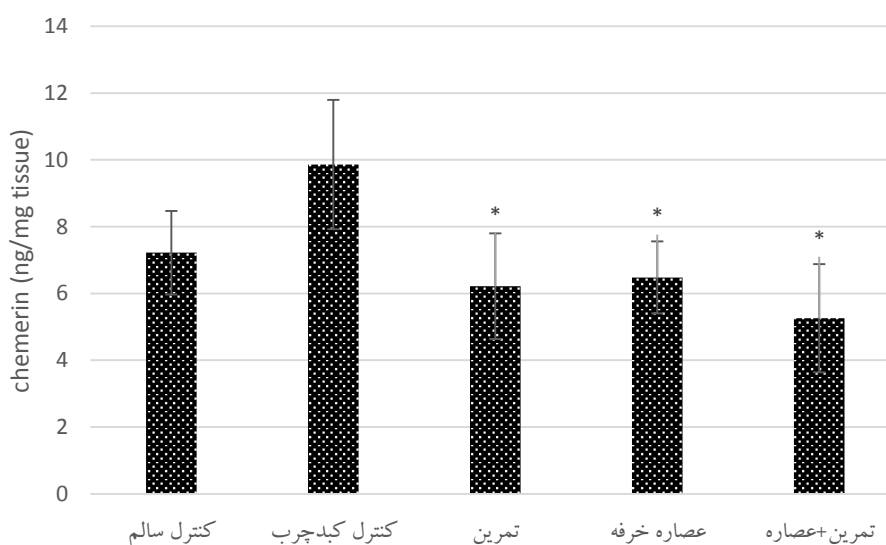


نمودار ۱- مقایسه میزان مقاومت به انسولین در گروه های تحقیق.

* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کبد چرب کنترل در سطح معنی داری $p < 0.05$.

($p=0.085$). سطح این شاخص در گروه تمرین ($p=0.010$)، مصرف عصاره خرفه ($p=0.017$) و تمرین + عصاره ($p=0.001$) به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. سطح کمرین کبدی در گروه های مصرف عصاره خرفه، تمرین و تمرین + عصاره تفاوتی مشاهده نشد ($p > 0.05$). نمودار ۲، مقایسه سطح کمرین کبدی متعاقب ۸ هفته تمرین و مصرف عصاره خرفه را ارائه می دهد.

مقایسه سطح کمرین کبدی گروه های تحقیق: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطح کمرین کبدی گروه های تحقیق پس از ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معنی داری وجود دارد ($F=6/481$ و $p=0.002$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که با وجود بالاتر بودن سطح کمرین کبدی در گروه کنترل کبد چرب نسبت به سالم کنترل ولی از نظر آماری معنی داری نبود



نمودار ۲- مقایسه سطح کمرین کبدی در گروه های تحقیق.

* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کبد چرب کنترل در سطح معنی داری $p < 0.05$.

بحث

هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه بر سطح کمرین کبدی و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه طولانی مدت موش‌ها با رژیم غذایی پرچرب با افزایش وزن بدن، سطح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین همراه است. در تحقیق حاضر موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب طولانی مدت به عنوان یک مدل حیوانی برای NAFLD مورد استفاده قرار گرفت. رژیم غذایی پرچرب طولانی مدت باعث افزایش گلوکز خون، مقاومت به انسولین و وزن بدن می‌شود (۳۴). افزایش انسولین سرم ناشتا و اختلال در تحمل گلوکز دو نشانه کلینیکی مهم برای مقاومت به انسولین ناشی از رژیم غذایی پرچرب شناخته شده اند (۳۵). انسولین یک تنظیم کننده کلیدی پروتئین متصل به عنصر تنظیمی استرول-1c^۱ (SREBP-1c) می‌باشد که به عنوان عامل کلیدی نسخه برداری ژن‌های مؤثر در لیپوژنز مانند اسیدچرب سنتاز^۲ (FAS) و استیل-کوآ کربوکسیلاز^۳ (ACC)، شناخته می‌شود (۳۶). NAFLD عمدتاً در لوبول‌های کبد رخ می‌دهد که به صورت انحطاط چربی سلول‌های کبدی و تجمع چربی در کبد ظاهر می‌شود (۳۷) و این چرخه باعث افزایش تجمع چربی در بافت چربی و کبد شده و در نتیجه تشدید NAFLD را در پی دارد (۳۸).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح کمرین و مقاومت به انسولین در موش‌های گروه کبد چرب کنترل بالاتر از گروه سالم کنترل بود. همان طور که عنوان شد کمرین می‌تواند مسیر سیگنال دهی گیرنده انسولین را تحت تاثیر قرار دهد، منجر به مقاومت به انسولین یا تشدید مقاومت اولیه بدن به انسولین شود (۱۳). استجسکال^۴ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که افزایش سطح کمرین می‌تواند سرین/ترونین کیناز را فعال کند، در نتیجه فسفوریلاسیون تیروزین را کاهش دهد

و انتقال دهنده گلوکز ۴ را مهار می‌کند و باعث مقاومت به انسولین در سلول‌ها شود (۳۹). ژوانگ و همکاران (۲۰۱۵) نیز دریافتند که سطح کمرین سرم در بیماران NAFLD به طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم بود، اما پس از درمان با متفورمین به طور قابل توجهی کاهش یافت، که نشان می‌دهد که وقوع NAFLD ارتباط نزدیکی با سطح کمرین سرم دارد (۴۰). همراستا با این تحقیق چندین مطالعه نشان داده اند که بیماران مبتلا به NAFLD بالینی که با بیوپسی اثبات شده، سطوح کمرین بالاتری را دارند (۱۵). همچنین یک مطالعه اخیر نشان داد که سطوح mRNA کمرین و گیرنده آن (CMKLR1) در کبد انسان افزایش یافته است که در بیماران مبتلا به NASH بیان بیشتری دارد (۴۱).

یکی از مهمترین یافته‌های تحقیق حاضر حاکی از کاهش سطح کمرین کبدی و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD در اثر تمرین تناوبی شدید بود. همراستا با تحقیق حاضر زهرایی و همکاران (۲۰۲۲) تأثیر هشت هفته تمرین شنای تداومی و تناوبی شدید را بر مقادیر کمرین در بافت کبد و چربی احشایی و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به سندروم متابولیک را بررسی کرده و نشان دادند که ۸ هفته تمرین شنای تداومی و تناوبی شدید علاوه بر کاهش معنادار سطح سرمی گلوکز، سبب کاهش وزن، مقاومت به انسولین و مقادیر کمرین بافت کبدی و چربی احشایی در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل سندروم متابولیک القا شده توسط رژیم غذایی پرچرب شد (۴۲). همچنین حسینی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که غلظت کمرین و مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی یائسه چاق متعاقب ۸ هفته تمرین تناوبی کاهش می‌یابد (۴۳). نتایج محمودی و همکاران (۱۳۹۶) نیز نشان داد که ۸ هفته تمرین استقامتی باعث کاهش معنادار سطح کمرین پلاسما در مردان مبتلا به NAFLD می‌شود. آن‌ها عنوان داشتند احتمالاً تمرین ورزشی از طریق مکانیزم‌های مختلفی باعث کاهش عوامل التهابی و افزایش

⁴ Lehrke⁵ Zhuang¹ Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c² Fatty Acid Synthase³ Acetyl-Coa Carboxylase

یکی دیگر از نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته مصرف عصاره خرفه و تمرین همراه با مصرف عصاره خرفه سطح کمرین کبدی و مقاومت به انسولین را در موش های مبتلا به NAFLD کاهش داد. نشان داده شده است که برگ های خرفه دارای محتوای مواد آنتی اکسیدانی بالایی می باشد (۴۸). خاصیت آنتی اکسیدانی خرفه به اجزای تشکیل دهنده آن مانند گالوتانین ها، اسیدهای چرب امگا ۳، اسید اسکوربیک، α -توکوفرول ها، کامفرول، کورستین و آپیزین نسبت داده می شود (۲۲, ۴۹). عصاره خرفه آسیب اکسایشی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را با تعدیل فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی خون و کبد، افزایش لپتین/بتا اکتین و PPAR α /بتا اکتین کبدی و مهار بیان پروتئین p-PERK و بیان mRNA ژن FAS کبد و طحال در موش ها کاهش می دهد (۵۰). در تحقیق دیگری که از دوزهای مختلف خرفه استفاده شد، مشاهده شد که این گیاه اثر محافظت سلولی از طریق بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی به صورت وابسته به دوز ایجاد می کند (۵۱). علاوه بر این خرفه یکی از غنی ترین منابع اسیدهای چرب غیر اشباع امگا ۳ در بین گیاهان دارویی است (۵۲). خرفه تنها گیاه عالی شناخته شده برای تولید اسید ایکوزاپنتانویک^۱ (EPA) و اسید دوکوزاهگزانویک^۲ (DHA) است (۵۳). نسبت اسیدهای چرب n-6 به n-3 در گیاه خرفه پایین است (کمتر از ۲)؛ این شاخص بسیار حائز اهمیت است زیرا عدم تعادل در نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع n-6 به n-3 که در رژیم های غربی وجود دارد- می تواند خطر NAFLD را افزایش دهد (۵۴). بیان شده است که این محتوای بالای اسیدهای چرب امگا ۳ به این گیاه خاصیت ضد التهابی می دهد. نشان داده شده است که پیش درمان عصاره آبی خرفه باعث مهار تولید گونه های اکسیژن فعال^۳ (ROS) ناشی از عامل نکروز تومور آلفا^۴ (TNF- α) در کبد به صورت وابسته به دوز می شود (۲۲). از طرف دیگر اشاره شده است که مقدار بالای اسید چرب غیر اشباع امگا ۳

عوامل ضد التهابی می گردد که کاهش کمرین در مردان مبتلا به NAFLD را در پی دارد (۴۴). اما نتایج اسد و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که ۸ هفته تمرین استقامتی و تناوبی شدید تأثیری بر سطح کمرین پلاسمای موش های چاق ندارد و مقاومت به انسولین فقط در گروه تمرین استقامتی کاهش معناداری را نشان داد، آن ها اشاره کردند که احتمالاً عدم تغییر در وزن موش ها دلیل عدم تأثیر تمرین ورزشی مورد استفاده در تحقیق فوق بر سطح کمرین پلاسما باشد (۴۵). همان طور که اشاره شد همبستگی مثبت بین کمرین با فوتوپهای مرتبط با چاقی نشان داده شده است (۱۰). این تغییرات می تواند با کاهش پاسخ های التهابی ناشی از چاقی و اضافه وزن و بهبود سطح کمرین و مقاومت به انسولین در این آزمودنی ها همراه باشد. در این راستا فتحی و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که ۸ هفته تمرین مقاومتی به کاهش معنادار کمرین پلاسمایی منجر می شود و همبستگی معناداری بین سطوح کمرین و بافت چربی مشاهده شد. می توان نتیجه گیری کرد که کمرین احتمالاً از طریق ایجاد وضعیت التهابی در بافت چربی، به ایجاد مقاومت به انسولین منجر می شود و تمرین ورزشی از طریق کاهش کمرین و بافت چربی، سرکوب التهاب و بهبود مقاومت به انسولین در این آزمودنی ها را در پی دارد (۴۶). در تحقیق دیگری پرستش و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده کردند که القای دیابت موجب افزایش معنادار شاخص مقاومت به انسولین، سطوح سرمی آنزیم های کبدی، رزیستین و کمرین در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم شد. ۱۰ هفته تمرین مقاومتی کاهش مقاومت به انسولین، سطوح آنزیم های کبدی، سطح کمرین و رزیستین کبدی را در گروه موش های چاق دیابتی را باعث می شود. آن ها عنوان داشتند که تمرین مقاومتی از طریق کاهش مقاومت به انسولین، سطوح کمرین و رزیستین، آنزیم های کبدی در موش های دیابتی نوع ۲ را بهبود می بخشد که نشان دهنده تأثیر مثبت این تمرینات بر کبد می باشد (۴۷).

³ Reactive Oxygen Species

⁴ Tumor Necrosis Factor Alfa

¹Eicosapentaenoic Acid

²Docosahexaenoic Acid

کبدی جهت تشخیص دقیق بیماری می‌باشد. لذا پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی این تحقیق روی نمونه‌های انسانی و با بررسی‌های دقیق تر صورت گیرد.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده تأثیر مثبت تمرین تناوبی شدید و عصاره خرفه بر سطح کمترین کبدی و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD می‌باشد. احتمالاً تمرین تناوبی شدید از طریق کاهش سطح کمترین و مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به NAFLD می‌تواند نقش مهمی را در کنترل پیشرفت این بیماری بر عهده داشته باشند.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند تشکر و قدر دانی می‌گردد.

در خرفه که اثر مهاری خود را بر روی آسپیل ترانسفراز و کمپلکس آنزیم FAS اعمال می‌کند، کاهش سنتتر TG را در پی دارد (۵۵) که بهبود حساسیت به انسولین را در پی دارد. همچنین، اسید چرب غیراشباع امگا ۳ نقش خود را در کاهش مقاومت به انسولین از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله جلوگیری از دریافت کربوهیدرات و جذب گلوکز روده‌ای، تحریک سلول‌های بتای پانکراس برای ترشح انسولین، تعدیل انتشار و استفاده از گلوکز از کبد، فعال کردن گیرنده انسولین و در نتیجه افزایش مصرف گلوکز در بافت‌های حساس به انسولین، به انجام می‌رساند (۵۶). تحقیق حاضر اولین تحقیق در زمینه تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل خرفه بر مقاومت به انسولین و یکی از آدیپوسایتوکاین‌های مؤثر بر آن یعنی کمترین می‌باشد. با این حال یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر کم بودن تعداد آزمودنی‌ها و عدم بررسی بافت شناسی

References

- Chalasan N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1592-609.
- Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2013;10(11):686-90.
- Watt MJ, Miotto PM, De Nardo W, Montgomery MK. The liver as an endocrine organ—linking NAFLD and insulin resistance. *Endocrine reviews*. 2019;40(5):1367-93.
- Portillo-Sanchez P, Bril F, Maximos M, Lomonaco R, Biernacki D, Orsak B, et al. High prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus and normal plasma aminotransferase levels. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*. 2015;100(6):2231-8.
- Masarone M, Rosato V, Aglitti A, Bucci T, Caruso R, Salvatore T, et al. Liver biopsy in type 2 diabetes mellitus: Steatohepatitis represents the sole feature of liver damage. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178473.
- Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, Gambino R, Cassader M, Baldi S, et al. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia*. 2005;48(4):634-42.
- Korenblat KM, Fabbrini E, Mohammed BS, Klein S. Liver, muscle, and adipose tissue insulin action is directly related to intrahepatic triglyceride content in obese subjects. *Gastroenterology*. 2008;134(5):1369-75.
- Peng L, Yu Y, Liu J, Li S, He H, Cheng N, et al. The chemerin receptor CMKLR1 is a functional receptor for amyloid- β peptide. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015;43(1):227-42.
- Ernst MC, Sinal CJ. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2010;21(11):660-7.
- Rourke J, Dranse H, Sinal C. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. *Obesity Reviews*. 2013;14(3):245-62.
- Buechler C, Feder S, Haberl EM, Aslanidis C. Chemerin isoforms and activity in obesity. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(5):1128.
- Sell H, Laurencikiene J, Taube A, Eckardt K, Cramer A, Horrigths A, et al. Chemerin is a novel adipocyte-derived factor inducing insulin resistance in primary human skeletal muscle cells. *Diabetes*. 2009;58(12):2731-40.
- Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology*. 2007;148(10):4687-94.
- Kukla M, Zwirska-Korcza K, Hartleb M, Waluga M, Chwist A, Kajor M, et al. Serum chemerin and vaspilin in non-alcoholic fatty liver disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2010;45(2):235-42.

15. Yilmaz Y, Yonal O, Kurt R, Alahdab YO, Eren F, Ozdogan O, et al. Serum levels of omentin, chemerin and adiponin in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2011;46(1):91-7.
16. Marques C, Motta V, Torres T, Aguila M, Mandarim-de-Lacerda C. Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. *Brazilian journal of medical and biological research*. 2010;10:467-75.
17. Hottenrott K, Ludyga S, Schulze S. Effects of high intensity training and continuous endurance training on aerobic capacity and body composition in recreationally active runners. *Journal of sports science & medicine*. 2012;11(3):483.
18. Nalcakan GR. The effects of sprint interval vs. continuous endurance training on physiological and metabolic adaptations in young healthy adults. *Journal of human kinetics*. 2014;44:97.
19. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of physiology*. 2012;590(5):1077-84.
20. Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Spectrum*. 2015;28(1):39-44.
21. Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjae S, Khakdan S. High-intensity interval training (HIIT) alleviated NAFLD feature via miR-122 induction in liver of high-fat high-fructose diet induced diabetic rats. *Archives of physiology and biochemistry*. 2020;126(3):242-9.
22. Zhou Y-X, Xin H-L, Rahman K, Wang S-J, Peng C, Zhang H. *Portulaca oleracea* L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects. *BioMed research international*. 2015;2015.
23. Chan K, Islam M, Kamil Ma, Radhakrishnan R, Zakaria M, Habibullah M, et al. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (Haw.) Celak. *Journal of ethnopharmacology*. 2000;73(3):445-51.
24. Malek F, Boskabady M, Borushaki MT, Tohidi M. Bronchodilatory effect of *Portulaca oleracea* in airways of asthmatic patients. *Journal of ethnopharmacology*. 2004;93(1):57-62.
25. Gheflati A, Adelnia E, Nadjarzadeh A. The clinical effects of purslane (*Portulaca oleracea*) seeds on metabolic profiles in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized controlled clinical trial. *Phytotherapy Research*. 2019;33(5):1501-9.
26. Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Taheri S. The effects of hydroalcoholic extract of *Portulaca Oleracea* on the serum concentration of Hepatic enzymes in Rats. *ISMJ*. 2014;17(5):889-99.
27. Lan S, Fu-er L. Effects of *Portulaca oleracea* on insulin resistance in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 2003;9(4):289-92.
28. Dehbashi M, Fathie M, Attarzadeh HSR, Mosaferi ZM. The Effect Of Eight Weeks Of Endurance Training And Injection Of Growth Hormone Lipolytic Fragment (Aod9604) On Ck18 And Liver Enzymes Of Nafld-Induced Mice Induced By High-Fat Diet. 2021.
29. Barjasteyazdy A, Zarei M. The effect of high intensity interval training (HIIT) with *portulaca Oleracea* supplementation on serum levels of liver enzyme in rats with non-alcoholic fatty live disease. *Journal of Sport and Biomotor Sciences*. 2021;26(26):56-65.
30. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*. 2013;62(7):2287-94.
31. Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, Hagve M, Khalid AM, Wisløff U, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *Journal of Applied Physiology*. 2011;111(5):1235-41.
32. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2007;14(6):753-60.
33. Darvish Damavandi R, Shidfar F, Najafi M, Janani L, Masoodi M, Akbari-Fakhrabadi M, et al. Effect of *Portulaca Oleracea* (purslane) extract on liver enzymes, lipid profile, and glycemic status in nonalcoholic fatty liver disease: A randomized, double-blind clinical trial. *Phytotherapy Research*. 2021.
34. Do GM, Oh HY, Kwon EY, Cho Yy, Shin Sk, Park HJ, et al. Long-term adaptation of global transcription and metabolism in the liver of high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Molecular nutrition & food research*. 2011;55(S2):S173-S85.
35. Brown MS, Goldstein JL. Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell metabolism*. 2008;7(2):95-6.
36. Chen G, Liang G, Ou J, Goldstein JL, Brown MS. Central role for liver X receptor in insulin-mediated activation of *Srebp-1c* transcription and stimulation of fatty acid synthesis in liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(31):11245-50.

37. Macavei B, Baban A, Dumitrascu D. Psychological factors associated with NAFLD/NASH: a systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(24):5081-97.
38. Cho J, Lee I, Kim D, Koh Y, Kong J, Lee S, et al. Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2014;18(4):339.
39. Lehrke M, Becker A, Greif M, Stark R, Laubender RP, von Ziegler F, et al. Chemerin is associated with markers of inflammation and components of the metabolic syndrome but does not predict coronary atherosclerosis. *European journal of endocrinology*. 2009;161(2):339.
40. Zhuang X, Sun F, Li L, Jiang D, Li X, Sun A, et al. Therapeutic Effect of Metformin on Chemerin in Non-Obese Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Clinical laboratory*. 2015;61(10):1409-14.
41. Docke S, Lock J, Birkenfeld A, Hoppe S, Lieske S, Rieger A, et al. Elevated hepatic chemerin mRNA expression in human non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol*. 2013;169(5):547-57.
42. Zahraei H, Mogharnasi M, Afzalpour ME, Fanaei H. The effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval swimming on chemerin levels in liver and visceral fat tissues and insulin resistance in male rats with metabolic syndrome. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2022;15(1):33-44.
43. Hosseini M, Eftekhar B, Riyahi Malayeri S. Effect of interval training with curcumin consumption on some adipokines in menopausal obese rats. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 2017;16(6):505-16.
44. Mahmoudi A, Siauhkoughian M, Iranparvar M, Anari H, Seifi F. Plasma changes of chemerin and pentraxin-3 following eight weeks of endurance exercise in men with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Ardabil university of medical sciences*. 2018;17(4):476-86.
45. Asad MR, Kheradmand S, Kheradmand N. Comparing the Effect of Endurance Exercise and High-Intensity Interval Exercise on Plasma Levels of Chemerin and Insulin Resistance in Obese Male Rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2019;22(5):112-23.
46. Fathi R, Mosayebi Z, Nazarali P, Aslani S. Effect of resistance training on plasma levels of chemerin and Insulin in two groups of healthy and insulin resistance male rats. *Research in Medicine*. 2015;38(4):207-13.
47. Parastesh M, Nadi Z. The Effects of Regular Resistance Training on the Liver's Inflammatory Indexes, Chemerin, Resistin, and Insulin Resistance Index in Healthy and Type 2 Diabetic Male Rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2020;23(1):48-59.
48. Hayoz D, Ziegler T, Brunner HR, Ruiz J. Diabetes mellitus and vascular lesions. *Metabolism*. 1998;47:16-9.
49. Zhu H, Wang Y, Liu Y, Xia Y, Tang T. Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea L.* by UV-vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Analytical Methods*. 2010;3(2):90-7.
50. Chen B, Zhou H, Zhao W, Zhou W, Yuan Q, Yang G. Effects of aqueous extract of *Portulaca oleracea L.* on oxidative stress and liver, spleen leptin, PAR α and FAS mRNA expression in high-fat diet induced mice. *Molecular biology reports*. 2012;39(8):7981-8.
51. Karimi G, Aghasizadeh M, Razavi M, Taghiabadi E. Protective effects of aqueous and ethanolic extracts of *Nigella sativa L.* and *Portulaca oleracea L.* on free radical induced hemolysis of RBCs. *Daru: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*. 2011;19(4):295.
52. Alam M, Juraimi AS, Rafii M, Abdul Hamid A, Aslani F, Hasan M, et al. Evaluation of antioxidant compounds, antioxidant activities, and mineral composition of 13 collected purslane (*Portulaca oleracea L.*) accessions. *BioMed research international*. 2014;2014.
53. Uddin M, Juraimi AS, Hossain MS, Nahar M, Un A, Ali M, et al. Purslane weed (*Portulaca oleracea*): a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. *The Scientific World Journal*. 2014;2014.
54. Jeyapal S, Kona SR, Mullapudi SV, Putcha UK, Gurumurthy P, Ibrahim A. Substitution of linoleic acid with α -linolenic acid or long chain n-3 polyunsaturated fatty acid prevents Western diet induced nonalcoholic steatohepatitis. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-14.
55. Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden Heuvel JP, Wagner PR, West SG. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;93(2):243-52.
56. Hussein MA. Purslane extract effects on obesity-induced diabetic rats fed a high-fat diet. *Malaysian journal of nutrition*. 2010;16(3).

Original Article

Changes in Chemerin Level And Insulin Resistance in Rats With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effect of High Intensity Interval Training and Portulaca Oleracea Extract

Received: 20/12/2022 - Accepted: 19/04/2023

Mohammad Ranaei¹
Ali Yaghoubi¹
Sadegh Cheragh-Birjandi¹

¹Department of Physical Education and Sport Science, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

Email: yaghoubiali65@gmail.com

Abstract

Introduction

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is closely related to insulin resistance. The aim of present study was to investigate the effect of eight weeks of high intensity interval training and Portulaca Oleracea extract on chemerin level and insulin resistance in rats with NAFLD.

Material and Method

Twenty five male Wistar rats were randomly divided into five groups: healthy control, fatty liver control, HIIT, Portulaca Oleracea extract, and HIIT+Portulaca Oleracea extract. To induce NAFLD, the rats were fed a high-fat diet for 12 weeks. Portulaca Oleracea supplement at 400 mg/kg was given to the experimental groups. HIIT was performed for 8 weeks, 5 sessions per week with 90% of maximum speed accompanied by active rest intervals. Hepatic chemerin level and insulin resistance were measured after 8 weeks of HIIT and consumption of purslane extract. One way anova and tukey post hoc test at significant level of $p < 0.05$, was used for compare between groups.

Results

Insulin resistance was significantly higher in fatty liver control group than healthy controls ($P=0.002$). But it was significantly lower in HIIT group ($P=0.01$), Portulaca Oleracea extract ($P=0.037$), and HIIT+Portulaca Oleracea extract group ($P=0.012$) than that in fatty liver control group. Chemerin levels in the HIIT group ($p=0.01$), Portulaca Oleracea extract ($p=0.017$) and HIIT+Portulaca Oleracea extract ($p=0.001$) was significantly lower than the fatty liver control group.

Conclusion

It seems that HIIT and Portulaca Oleracea extract can play an important role in controlling the progression of this disease by reducing the level of chemerin and insulin resistance in patients with NAFLD.

Key words

High intensity interval training, Portulaca Oleracea extract, chemerin, insulin resistance, non-alcoholic fatty liver disease

Acknowledgement: There is no conflict of interest