



## تغییرات سطح پروتئین شبه آنژیوپوتین ۴ و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی: تأثیر تمرین تناوبی شدید و عصاره خرفه

سمیه کاظمی اصفهانی<sup>۱\*</sup>، علی یعقوبی<sup>۱</sup>

تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۲/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۰

## چکیده

**هدف:** ارتباط نزدیکی بین سطح پروتئین شبه آنژیوپوتین ۴ و مقاومت به انسولین گزارش شده است. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل گیاه خرفه بر سطح پروتئین شبه آنژیوپوتین ۴ کبدی و همچنین مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی بود. **روش کار:** بدین منظور ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن شش هفته و با دامنه‌ی وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۵ گرم، به‌طور تصادفی انتخاب و در ۵ گروه کنترل سالم، کنترل کبد چرب، مصرف مکمل خرفه، HIIT و تمرین همراه با مصرف مکمل خرفه قرار داده شدند. جهت القای NAFLD، موش‌ها به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند. مکمل خرفه با توجه به وزن موش‌ها با دوز ۴۰۰ mg/kg به گروه‌های مربوطه خوراند شد. پروتکل HIIT به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته با ۷ تکرار یک دقیقه‌ای با شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه انجام شد که با تناوب‌های استراحت فعال شامل ۲ دقیقه دویدن با شدت ۲۰ درصد بیشینه همراه بود. سطح کبدی آنژیوپوتین ۴ به روش الایزا اندازه‌گیری شد. از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای تحلیل داده‌ها استفاده شد.

**یافته‌ها:** مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معناداری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ( $p=0/002$ ). سطح این شاخص در گروه HIIT ( $p=0/01$ )، مکمل خرفه ( $p=0/037$ ) و تمرین همراه با مکمل ( $p=0/012$ ) به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود. همچنین سطح ANGPTL4 کبدی در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معناداری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ( $p=0/01$ ). سطح این شاخص در گروه HIIT ( $p=0/036$ )، مصرف مکمل خرفه ( $p=0/01$ ) و تمرین همراه با مکمل ( $p=0/007$ ) به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود.

**نتیجه‌گیری:** احتمالاً تمرین تناوبی شدید به‌تنهایی و همراه با مصرف مکمل خرفه منجر به بهبود مقاومت به انسولین و ANGPTL4 می‌شود بنابراین می‌توانند در کنترل بیماری کبد چرب نقش کلیدی داشته باشند.

**واژگان کلیدی:** تمرین تناوبی، مکمل خرفه، پروتئین شبه آنژیوپوتین ۴، کبد چرب غیرالکلی، مقاومت به انسولین.

۱. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

\* نشانی الکترونیک نویسنده مسئول has4132@gmail.com

## مقدمه

یکی از بیماری‌های مهم که ارتباط قوی با چاقی دارد، بیماری کبد چرب غیرالکلی<sup>۱</sup> (NALFD) است (۱، ۲). NALFD، شایع‌ترین اختلال عملکرد کبدی است که به علت رسوب و تجمع ذرات درشت چربی (عمدتاً تری‌گلیسرید) در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی به مقدار پنج درصد یا بیشتر از وزن کبد ایجاد می‌شود و شامل طیف گسترده‌ای از علائم از استئاتوز ساده تا استئاتوز همراه با التهاب با یا بدون فیبروز و سیروز است (۳). این بیماری با مقاومت به انسولین، سندرم متابولیک، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است (۴-۸). اهمیت این بیماری به خاطر تخریب سلول‌های کبدی است و در صورت عدم تشخیص زودرس و درمان مناسب می‌تواند منجر به بیماری پیشرفته شود (۳). مقاومت به انسولین می‌تواند باعث پیشرفت بیماری NAFLD شود و حتی پیشرفت آن به سیروز کبدی را تسریع می‌کند (۹، ۱۰). بنابراین، از یک طرف با افزایش میزان پیشرفت بیماری کبدی و از طرف دیگر با اثرات خارج کبدی شامل دیابت و عوارض قلبی-عروقی باعث پیش‌آگهی ضعیف این بیماران می‌شود (۱۱، ۱۲).

پروتئین شبه آنژیوپوئیتین<sup>۲</sup> (ANGPTL4)، یک پروتئین پیام‌رسان با

عملکردهای مختلف است که توسط بیشتر بافت‌ها ساخته می‌شود. این پروتئین در تنظیم آنژیوژنز، متابولیسم گلوکز و چربی و تمایز سلولی درگیر است و باعث کاهش بیان ژن‌های التهابی و استرس سلولی می‌گردد و یک عامل مهم در محافظت از بدن علیه تأثیرات شدید التهابی است (۱۳). اثرات ANGPTL4 بر متابولیسم گلوکز گزارش شده است. بیان بیش از حد ANGPTL4 به محتوای بالای گلیکوژن کبدی در موش کمک می‌کند، که نشان می‌دهد که ANGPTL4 ممکن است حساسیت به انسولین را در بافت کبد افزایش دهد (۱۴). علاوه بر این نشان داده شده است که ANGPTL4 قادر است به‌طور قابل‌توجهی توانایی انسولین را برای سرکوب برون ده گلوکز کبدی افزایش دهد، و آن‌ها پیشنهاد کردند که این ممکن است یکی از مکانیسم‌های متعددی باشد که توسط آن ANGPTL4 گلوکز خون را کاهش می‌دهد (۱۵). در این راستا وانگ<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۶) عنوان داشتند که ANGPTL4 تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین را در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب را بهبود می‌بخشد (۱۶). از طرف دیگر چندین تحقیق افزایش سطح ANGPTL4 را به‌عنوان یک عامل پیشگویی‌کننده پیشرفت NAFLD معرفی کرده‌اند (۱۷، ۱۸). برای مثال ما و

<sup>3</sup> Wang<sup>1</sup> Non-Alcoholic Fatty Liver Disease<sup>2</sup> Angiopoietin-like 4

تفاوتی سرعتی شدید می‌باشند نزدیک به مداخلات تمرین مقاومتی است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که از یک طرف HIIT می‌تواند منجر به تحریک مکانیکی نسبتاً شدید گردد، در حالی که از طرف دیگر این نوع تمرین می‌تواند منجر به تحریک متابولیکی بالا گردد (۲۱). از طرف دیگر طب سنتی از گیاهان متنوعی برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها نظیر بیماری‌های التهابی و بسیاری از اختلالات کبدی استفاده کرده است؛ از جمله این گیاهان خرفه<sup>۲</sup> است (۲۲). آزمایش‌های فیتوشیمیایی عصاره خرفه نشان داد که این گیاه حاوی ویتامین B1 و A، نورادرنالین، دوپامین، اسیدهای ارگانیک مثل سینامیک، کافئیک، مالیک، اگزالیک، سیتریک و نیز کومارین‌ها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدهای قلبی آنتراکینونی و آلکالوئید می‌باشد (۲۳). همچنین این گیاه دارای پروتئین، فیبر، مس، منگنز، پتاسیم، کلسیم، مقادیر بالای ویتامین E و C و بتاکاروتن است (۲۴). همچنین در منابع جدید اثرات گوناگون فارماکولوژیکی شامل اثر شل کنندگی و اثرات ضد تشنج برای خرفه بیان شده است. خرفه علاوه بر اثرات مذکور، دارای اثرات ضد درد و ضد التهاب نیز می‌باشد. گیاه خرفه غنی‌ترین منبع گیاهی دارای اسیدهای چرب امگا ۳ می‌باشد (۲۵).

همکاران (۲۰۱۹) ارتباط بین سطح سرمی ANGPTL2، ANGPTL3 و ANGPTL4 با پارامترهای متابولیکی و بیوشیمیایی مؤثر در NAFLD را مورد بررسی قرار دادند و عنوان داشتند که سطح ANGPTL4 در افراد مبتلا به NAFLD با پیشرفت بیماری افزایش می‌یابد و عنوان داشتند که بررسی سطح این هپاتوکاین‌ها می‌تواند به‌عنوان یک عامل پیشگویی‌کننده مهم در شدت بیماری NAFLD مطرح می‌باشد (۱۷). درمان بیماری‌های متابولیک با فعالیت بدنی و رعایت رژیم غذایی می‌باشد. یکی از تمرینات مؤثر در بیماری‌های متابولیک، تمرینات تناوبی شدید<sup>۱</sup> (HIIT) است. HIIT شامل وهله‌های فعالیت با شدت بسیار زیاد به همراه استراحت فعال با شدت پایین می‌باشد. این شیوه تمرینی از نظر زمانی، یک روش بسیار کارآمد بوده که سازگاری‌های متابولیکی زیادی را تحریک می‌کند (۱۹). تمرینات تناوبی خیلی شدید اثرات سودمندی در ارتباط با سلامتی از قبیل سلامت قلبی-عروقی و کاهش چربی که عمده‌ترین دلیل افراد برای شرکت در یک برنامه ورزش در اولین نگاه هستند را دارا است (۲۰). به نظر می‌رسد برخی از پروتکل‌های HIIT مثلاً ۴ وهله ۳۰ ثانیه با تمام قوا که به‌عنوان تمرین

<sup>2</sup> Portulaca Oleracea<sup>1</sup> High Intensity Interval Training

مطالعات نشان داده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ موجود در عصاره خرفه از طریق افزایش مصرف انرژی و کاهش بیان آنزیم‌های محدودکننده سرعت سنتز اسید چرب در کبد باعث مهار پراکسیداسیون لیپید می‌شود. از سوی دیگر، خرفه حاوی مقادیر زیادی آلکالوئیدهای فنولیک است که این آلکالوئیدها نیز از طریق افزایش اسید چرب غیراشباع باعث مهار سنتز کلسترول می‌شوند (۲۲).

با توجه به کمبود اطلاعات در مورد اثرگذاری خرفه و تمرینات تناوبی شدید بر روی نشانه‌های پاراکلینیکی کبد چرب و همچنین کمبود یافته‌های مربوط به ارتباط بیماری کبد چرب و ANGPTL4، در این مطالعه به بررسی تاثیر تمرینات تناوبی شدید همراه با مصرف عصاره خرفه بر سطح ANGPTL4 و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD می‌پردازیم.

### روش پژوهش

مطالعه حاضر از نوع تحقیقات تجربی با طرح پس‌آزمون بود که در پنج گروه اجرا شد و هدف آن بررسی تأثیر ۸ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا و عصاره خرفه بر سطح ANGPTL4 کبدی در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بود. لذا مطابق معیارهای ورود به پژوهش، ۲۵ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۱۶۰ تا ۱۸۵ گرم و با سن شش هفته از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی

بجنورد خریداری شد. رت‌ها در قفس‌های ۴ یا ۵ تایی و تحت شرایط استاندارد بر اساس دستورالعمل‌های انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (چرخه ۱۲ ساعته روشنایی- تاریکی، دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ درصد)، با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از سپری شدن یک هفته به‌منظور آشنایی و سازگاری با محیط جدید، رت‌ها به‌صورت تصادفی به ۵ گروه ۵ تایی (۱- گروه سالم، ۲- گروه کنترل کبد چرب، ۳- گروه کبد چرب تمرین، ۴- گروه کبد چرب عصاره خرفه، ۵- گروه کبد چرب تمرین+عصاره) تقسیم و هر گروه در قفس جداگانه‌ای نگهداری شدند. به‌جز ۵ رت گروه سالم که رژیم معمولی دریافت می‌کردند، برای بقیه ۲۰ رت مربوط به ۴ گروه باقیمانده با مصرف رژیم غذایی پرچرب (۶۰ درصد چربی) به مدت ۱۲ هفته ابتدا به کبد چرب غیرالکلی صورت گرفت و گروه کنترل بیمار و ۳ گروه آزمایشی تا انتهای پژوهش، با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند. جهت اطمینان از ابتلا به NAFLD، سطح آنزیم‌های کبدی موردسنجش قرار گرفت و افزایش سطح آنزیم‌های کبدی به‌عنوان معیار ورود به تحقیق در نظر گرفته شد (۲۶). (کد مصوبه اخلاق: IR.IAU.BOJNOURD.REC.1401.003). پروتکل تمرین تناوبی شدید: جهت آشنا سازی با نوارگردان، ابتدا رت‌های گروه تمرین به مدت یک هفته (۵ جلسه)، به مدت ۱۰ تا

هفته چهارم ادامه و تا پایان هفته هشتم 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 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. رت‌ها در گروه تمرین، ۵ روز در هفته با دو روز استراحت در وسط و آخر هفته به مدت ۸ هفته تمرین کردند (۲۷). بخش‌های هوایی گیاه خرفه از منطقه رویش آن در خراسان رضوی جمع‌آوری و پس از تأیید 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 توسعه داده شده بود، استاندارد شد (۳۰). بعد از تأیید در آزمایشگاه کنترل کیفی بر اساس وزن رت با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به گروه‌های مربوطه به صورت گاوآژ خورانه شد (۳۱). رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ناشتایی شبانه با استفاده از تزریق درون صفاقی ترکیبی از داروی کتامین (۶۰ تا ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن

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 رت‌ها 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  $VO_{2max}$  رت‌های صحرایی نر وجود دارد ( $r=0.94-0.98$ ،  $p<0.005$ ) (۲۷، ۲۸). از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن میزان  $VO_{2max}$  رت‌های صحرایی نر را برآورد کرد (۲۹). بعد از ۲ روز استراحت پس از مرحله‌ی آشنایی و اندازه‌گیری  $VO_{2max}$ ، برنامه ورزشی اجرا شد. پروتکل تمرینی با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه که معادل ۷ تلاش ۱ دقیقه‌ای و سرعت ۳۰ متر در دقیقه و استراحت فعال بین فعالیت‌ها با شدت ۱۵ درصد سرعت بیشینه در هفته‌ی اول انجام شد که تدریجاً با افزایش متوسط ۸۰ درصد سرعت بیشینه و در هفته دوم ۸۵ درصد سرعت بیشینه و در هفته سوم ۹۰ درصد سرعت بیشینه و در

با استفاده از کیت تحقیقاتی کمپانی نووس بیولوژیکال<sup>۲</sup> مخصوص موش‌های صحرایی و طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. حساسیت روش اندازه‌گیری ۳/۷۵ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. برای اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک و جهت اطمینان از همسان بودن واریانس‌ها بین گروهی از آزمون ل‌وین<sup>۳</sup> استفاده شد. برای بررسی معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها از آمار استنباطی آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه تفاوت‌های بین گروهی از آزمون‌های تعقیبی توکی و تامهان<sup>۴</sup> استفاده شد. به‌منظور رد یا تأیید فرضیه‌ها، سطح معناداری ۰/۰۵ <math>P</math> در نظر گرفته شد و از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۶ برای تجزیه تحلیل داده‌ها استفاده شد.

#### بحث

در جدول ۱ اطلاعات توصیفی مربوط به وزن رت‌ها در ابتدای دوره پژوهش، پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و ابتلا به NAFLD و انتهای دوره پژوهش گزارش شده است. در ابتدا سعی بر آن شد که تمامی گروه‌ها همگن بوده و میانگین وزن رت‌های گروه‌های تحقیق یکسان باشد.

بدن) و زیلازین (هشت میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس بلافاصله شکم حیوان شکافته و سریعاً بافت کبد جدا و با محلول طبیعی سالین شست‌وشو داده شد. سپس به‌منظور تهیه سرم موردنیاز جهت اندازه‌گیری میزان انسولین، به‌صورت مستقیم با سرنگ پنج سی‌سی دارای سر سوزن ۲۴، خون‌گیری از بطن چپ قلب انجام‌شده و نمونه خون به‌آرامی در جدار داخلی لوله‌آزمایش تخلیه شد. قبل از سانتریفیوژ جهت جداسازی سرم، نمونه در لوله‌آزمایش در دمای اتاق (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ دقیقه برای لخته شدن نگهداری خواهد شد. سپس لوله‌های آزمایش در چاهک‌های دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شده و دستگاه روی سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جهت جداسازی سرم تنظیم گردید. پس از سانتریفیوژ، سرم توسط سمپلر به میکروتیوپ ۲ منتقل و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. 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<sup>۱</sup> آمریکا با شماره کاتالوگ DEIA1897 اندازه‌گیری شد. سطح ANGPTL4 کبدی به روش الایزا

<sup>3</sup> levene

<sup>4</sup> Tukey & Tamhane

<sup>1</sup>Creative Diagnostics

<sup>2</sup> Novus Biologicals

**جدول ۱. مقایسه وزن آزمودنی‌ها در پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه‌های تحقیق**

گروه‌ها	مرحله	پیش‌آزمون	هفته دوازدهم	پس‌آزمون
کنترل سالم		۲۰۶/۶۸±۵/۰۷	۲۳۵/۸۶±۱۰/۶۷	۲۷۶/۷۸±۱۸/۳۵
کنترل کبد چرب		۲۰۷/۵۰±۶/۲۳	۲۶۵/۴۲±۱۶/۲۹	۳۰۹/۴۸±۲۱/۸۵
تمرین		۲۰۹/۳۸±۵/۷۶	۲۵۷/۲۰±۱۰/۰۵	۲۶۸/۳۲±۱۷/۴۱
عصاره		۲۰۹/۵۸±۶/۶۴	۲۶۶/۴۰±۱۵/۱۸	۲۸۴/۱۶±۱۴/۲۲
تمرین+عصاره		۲۰۸/۵۴±۴/۲۹	۲۵۹/۳۶±۱۳/۹۳	۲۷۷/۴۸±۱۲/۲۴

\* نشانه تفاوت معنادار بین گروه‌های تحقیق در  $P < 0.05$ .

( $p=0.02$ ). به‌منظور مقایسه سطوح **ANGPTL4** و مقاومت به انسولین در گروه‌های تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در جدول ۲ یافته‌های آزمون آماری در خصوص مقایسه اثر تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف عصاره خرفه بر سطوح **ANGPTL4** و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی نر مبتلا به **NAFLD** در گروه‌های تحقیق ارائه شده است.

با توجه به نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه که در جدول فوق گزارش شده می‌توان دریافت که وزن رت‌ها در گروه‌های تحقیق در گروه‌بندی اولیه تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند ( $p=0.889$ ). پس از ۱۲ هفته دریافت رژیم غذایی پرچرب جهت القای **NAFLD** در رت‌های صحرایی باعث افزایش وزن رت‌ها گردیده است ( $p=0.008$ ). بعد از ۸ هفته **HIIT** و دریافت عصاره خرفه نیز تفاوت معناداری بین وزن رت‌ها در گروه‌های تحقیق مشاهده شد

**جدول ۲. میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای پژوهش در گروه‌های مورد مطالعه**

شاخص	کنترل سالم	کنترل کبد چرب	تمرین	عصاره	تمرین+عصاره	F	P
گلوکز	۱۱۱/۲۰±۹/۹۶	۱۶۷/۰۱±۱۸/۵۰	۱۳۰/۸۰±۸/۸۴	۱۳۲/۶۰±۱۱/۴۸	۱۱۵/۴۰±۵/۴۱	۱۷/۷۷	*/۰.۰۱
انسولین	۱/۷۶±۰/۵۰	۳/۶۸±۱/۸۱	۰/۹۸±۰/۲۵	۱/۲۸±۰/۹۶	۰/۷۲±۰/۳۷	۷/۴۶	*/۰.۰۱
مقاومت به انسولین	۴/۹۴±۰/۷۰	۷/۳۴±۰/۳۱	۵/۳۶±۰/۷۰	۵/۶۸±۱/۲۲	۵/۴۰±۰/۹۵	۶/۱۵	*/۰.۰۰۲
<b>ANGPTL4</b>	۳۲/۴۶±۸/۷۱	۹۹/۰۱±۲۵/۰۹	۶۵/۶۶±۹/۰۱	۶۱/۴۲±۴/۹۶	۳۲/۹۸±۹/۳۱	۲۱/۰۷	*/۰.۰۱

\* نشانه تفاوت معنادار بین گروه‌های تحقیق در سطح  $p < 0.05$ .

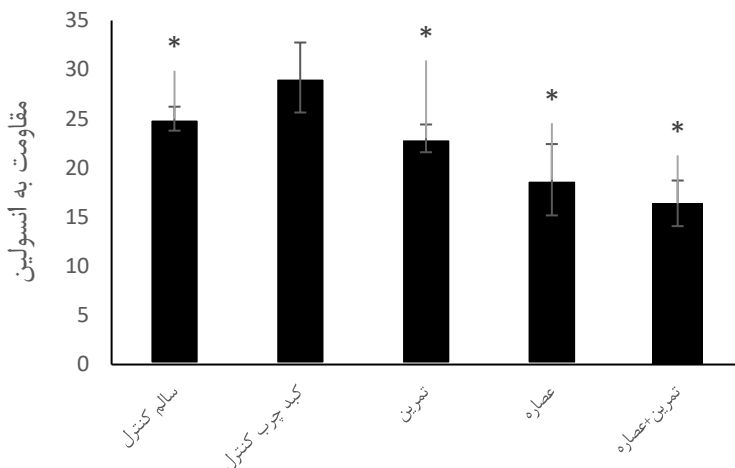
شاخص در گروه HIIT ( $p=0/002$ )، مصرف عصاره خرفه ( $p=0/007$ ) و تمرین همراه با عصاره ( $p=0/001$ ) به طور معناداری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. سطح انسولین پلاسما در گروه‌های مصرف عصاره خرفه، HIIT و تمرین همراه با عصاره تفاوتی مشاهده نشد ( $p>0/05$ ).

مقایسه مقاومت به انسولین گروه‌های تحقیق: بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه که در جدول ۲ ارائه شده است بین مقاومت به انسولین گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معناداری 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 معناداری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ( $p=0/002$ ). سطح این شاخص در گروه HIIT ( $p=0/01$ )، مصرف عصاره خرفه ( $p=0/037$ ) و تمرین همراه با عصاره ( $p=0/012$ ) به طور معناداری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. میزان مقاومت به انسولین در گروه‌های مصرف عصاره خرفه، HIIT و تمرین همراه با عصاره تفاوتی مشاهده نشد ( $p>0/05$ ). نمودار ۱، مقایسه مقاومت به انسولین متعاقب ۸ هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه را ارائه می‌دهد.

مقایسه سطوح گلوکز خون ناشتا گروه‌های تحقیق: بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه که در جدول ۲ ارائه شده است بین سطح گلوکز خون ناشتای گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معناداری 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 معناداری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ( $p=0/001$ ). سطح این شاخص در گروه HIIT ( $p=0/001$ )، مصرف عصاره خرفه ( $p=0/002$ ) و تمرین همراه با عصاره ( $p=0/001$ ) به طور معناداری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. اما سطح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های مصرف عصاره خرفه، HIIT و تمرین همراه با عصاره تفاوتی مشاهده نشد ( $p>0/05$ ).

مقایسه سطوح انسولین گروه‌های تحقیق: بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه که در جدول ۲ ارائه شده است بین سطح انسولین پلاسما گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معناداری وجود دارد ( $F=7/463$ ) و ( $p=0/001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح انسولین پلاسما در گروه کنترل کبد چرب به طور معناداری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ( $p=0/037$ ). سطح این





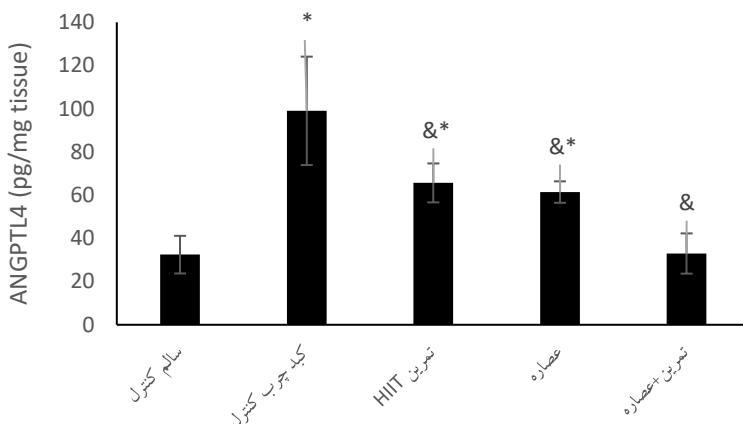
شکل ۱. مقایسه مقاومت به انسولین در گروه‌های تحقیق متعاقب ۸ هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه در گروه‌های تحقیق.

\* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کبد چرب کنترل در سطح معناداری  $p < 0.05$ .

کنترل کبد چرب بود. اما سطح ANGPTL4

در گروه‌های HIIT ( $p = 0.007$ ) و مصرف مکمل ( $p = 0.020$ ) همچنان نسبت به گروه سالم کنترل بالاتر بود ولی بین گروه تمرین همراه با عصاره و گروه سالم کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد. ( $p = 0.999$ ) بین گروه HIIT و مصرف مکمل تفاوت معناداری مشاهده نشد ( $p = 0.986$ ). سطح ANGPTL4 در گروه‌های HIIT ( $p = 0.008$ ) و مصرف مکمل ( $p = 0.023$ ) نسبت به گروه تمرین همراه با مکمل به طور معناداری بالاتر بود. در نمودار ۲، مقایسه سطح ANGPTL4 کبدی متعاقب ۸ هفته HIIT و مصرف مکمل خرفه را ارائه شده است.

مقایسه سطوح ANGPTL4 گروه‌های تحقیق: بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه که در جدول ۲ ارائه شده است بین سطح ANGPTL4 گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معناداری وجود دارد ( $F = 21.077$  و  $p = 0.005$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح ANGPTL4 در گروه کنترل کبد چرب به طور معناداری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ( $p = 0.01$ ). سطح این شاخص در گروه HIIT ( $p = 0.007$ )، مصرف مکمل خرفه ( $p = 0.002$ ) و تمرین همراه با مکمل ( $p = 0.001$ ) به طور معناداری پایین‌تر از گروه



شکل ۲. مقایسه سطح ANGPTL4 کبدی در گروه‌های تحقیق متعاقب ۸ هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه در گروه‌های تحقیق.

\* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و & نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کبد چرب کنترل در سطح معناداری  $p < 0.05$ .

به‌طور معناداری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود. سطح این شاخص در گروه HIIT، مصرف عصاره خرفه و تمرین همراه با عصاره به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود. در مطالعه حاضر سطح ANGPTL4 به‌طور معناداری در گروه HIIT از گروه کنترل سالم بیشتر بود. مطالعات نشان داده‌اند که سطوح سرمی ANGPTL4 در افراد چاق که درصد بافت چربی بیشتری دارند، عموماً بالاتر است (۳۲، ۳۳). لو<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۰ نتیجه گرفتند که در واقع، بیان ANGPTL4 تحت تنظیم مثبت استرس‌های مرتبط با چاقی قرار می‌گیرد؛ به‌طوری‌که با القاء عامل نکرودهنده

#### بحث

هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر تمرینات تناوبی شدید همراه با مصرف عصاره خرفه بر سطح *angptl4* کبدی و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح *angptl4* کبدی در گروه کبد چرب کنترل بالاتر از گروه سالم کنترل بود. HIIT و مصرف عصاره خرفه باعث کاهش سطح *angptl4* کبدی در موش‌های مبتلا به کبد چرب شد. ترکیب تمرین و عصاره باعث کاهش بیشتر این شاخص در کبد موش‌های مبتلا به NAFLD شد و آن را به سطح موش‌های سالم رساند. مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبد چرب

<sup>1</sup> Lu

نشان دادند که علی‌رغم تفاوت‌های زیاد در شدت و حجم تمرین، HIIT باعث بهبود در مقاومت به انسولین در روز بعد از تمرین، و همچنین سازگاری‌های متابولیکی طولانی‌مدت در عضلات اسکلتی در بزرگسالان مبتلا به چاقی می‌شود (۳۵). مطالعات نشان داده است که کاهش گلیکوژن عضلانی ناشی از ورزش، عامل اصلی بهبود مقاومت به انسولین پس از تمرین است (۳۶). مطالعات اسچنک<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که تغییرات در لیپیدهای داخل سلولی و واسطه‌های لیپیدی (مانند دی اسیل گلیسرول و سرامید) پس از ورزش حاد نیز باعث بهبود مقاومت به انسولین پس از ورزش حاد می‌شود (۳۸). تروست<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که از دیدگاه بالینی، در مقاومت به انسولین، زمان تمرین به‌عنوان عامل اصلی در کاهش پایبندی به ورزش شناخته شده است (۳۹). در مطالعه حاضر، ما از HIIT به‌عنوان تمرین مرجع استفاده کردیم. در این نوع تمرین، علاوه بر مدت‌زمان زیاد تمرین، شدت آن هم بالا بود پس احتمالاً یکی از دلایل وجود تفاوت معنادار بین گروه تمرین و گروه کنترل کبد چرب در سطح مقاومت به انسولین، پروتکل HIIT بوده است. برخی از اختلافات در مورد تأثیرات

تومور آلفا<sup>۱</sup> (TNF- $\alpha$ ) و اینترفرون گاما<sup>۲</sup> (IFN $\gamma$ )، بیان ژنی ANGPTL4 افزایش می‌یابد. عوامل TNF- $\alpha$  و IFN $\gamma$  از جمله آدیپوسایتوکاین‌های پیش التهابی مشتق از بافت چربی و تنظیم‌کننده مثبت ANGPTL4 هستند (۳۴) که به دنبال تمرینات ورزشی و از دست دادن وزن، کاهش می‌یابند. بنابراین، هرگونه تغییر در محتوای بافت چربی و ترکیب بدنی به دنبال تمرینات ورزشی، می‌تواند از طریق تاثیر بر سطوح TNF- $\alpha$  و IFN $\gamma$ ، سبب تغییر در سطوح سرمی ANGPTL4 گردد. در مطالعه حاضر، سطوح سرمی TNF- $\alpha$  و IFN $\gamma$  اندازه‌گیری نشد ولی می‌توان احتمال داد که شاید HIIT از طریق کاهش وزن و بهبود ترکیب بدن و متعاقب آن، کاهش سطوح TNF- $\alpha$  و IFN $\gamma$ ؛ سبب کاهش سطوح سرمی ANGPTL4 شده باشد.

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که HIIT می‌تواند مقاومت به انسولین را در مقایسه با شرایط کنترل کاهش دهد. ما نشان دادیم که تحت شرایط کنترل‌شده، HIIT در بهبود مقاومت به انسولین و در نتیجه بهبود احتمالی کنترل چربی کبد و نتایج مرتبط با کبد چرب غیرالکلی مؤثر است. به‌صورت هم‌راستا با پژوهش حاضر، رایان و همکاران (۲۰۲۰)

<sup>3</sup>Schenk<sup>4</sup>Turcotte<sup>1</sup> Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ <sup>2</sup> interferony

هفته‌ای القای کبد چرب با رژیم پرچرب شروع شد و تاثیر HIIT بر مقدار مقاومت به انسولین آشکار بود و نتایج هم‌راستا با تحقیق گفته شده به دست آمد. تاکاهاشی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۵)، دریافتند که ورزش اختلال متابولیسم لیپید و مقاومت انسولین را در بیماران مبتلا به NAFLD به‌طور قابل توجهی بهبود داد. این یافته‌ها نشان داد که تمرینات ورزشی شامل به بهبود ویژگی‌های سندرم متابولیک در بیماران مبتلا به بیماری کبد چرب کمک می‌کند (۴۵).

گیاه خرفه به دلیل داشتن امگا ۳ و خواص آنتی‌اکسیدانی خود فواید تغذیه‌ای فراوانی را ارائه می‌دهد. علاوه بر این، خرفه تنها گیاه عالی شناخته شده برای تولید اسید ایکوزاپنتانوئیک<sup>۴</sup> (EPA) و اسید دوکوزاهگزانوئیک<sup>۵</sup> (DHA) است (۴۶). همچنین نسبت اسیدهای چرب n-6 به n-3 در خرفه کم است و این نتایج آنجایی اهمیت می‌یابد که عدم تعادل بین اسیدهای چرب اشباع‌نشده چند غیراشباع n-6 تا n-3، همان‌طور که در رژیم غذایی غربی یافت می‌شود، ممکن است خطر ابتلا به NAFLD را افزایش دهد (۴۷). در مورد رابطه امگا ۳ و سطح ANGPTL4، برندز<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای نشان دادند که کاهش باواسطه انسولین در سطوح ANGPTL4 با

تمرین ورزشی بر مقاومت به انسولین نیز ممکن است به دلیل زمان اندازه‌گیری بعد از آخرین جلسه و محتوا و ترکیب وعده‌های غذایی مصرف‌شده پس از ورزش باشد (۴۰). در مطالعه حاضر، مقدار مقاومت به انسولین، ۴۸ ساعت بعد از آخرین روز تمرین موردبررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که اثرات ورزش می‌تواند حداقل تا چند روز پس از ورزش باقی بماند، به‌خصوص اگر وعده‌های غذایی مصرف‌شده بعد از ورزش، گلیکوژن عضلات را جبران نکند (۴۱، ۴۲). بااینکه برخی از مطالعات گزارش کردند که ورزش هیچ تأثیری بر تجمع چربی کبد در موش‌های چاق ناشی از رژیم غذایی پرچرب ندارد، اما در مطالعه گاوتیر<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۴) مشاهده شد که ورزش به‌طور کامل از استئاتوز کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب جلوگیری می‌کند (۴۳). همچنین در مطالعه جدید کوک<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده شد که تمرین استقامتی استئاتوز کبدی را کاهش داد و همچنین باعث فعال‌سازی بیوژنز میتوکندری شد و متابولیسم اسید چرب را نیز افزایش داد (۴۴). علت تفاوت بین این یافته‌های متضاد ممکن است این باشد که در این مطالعات، تمرین هم‌زمان با القای رژیم غذایی اعمال شد. در مطالعه حاضر، شروع HIIT درست بعد از پایان مدت‌زمان ۱۲

<sup>4</sup>Eicosapentaenoic Acid<sup>5</sup>Docosahexaenoic Acid<sup>6</sup>Brands<sup>1</sup> Gauthier<sup>2</sup> Cook<sup>3</sup> Takahashi

۳۰۰ میلی‌گرم در روز به مدت ۱۲ هفته تأثیر معناداری بر آنزیم‌های کبدی، پروفایل لیپیدی و شاخص‌های گلیسمی نداشت (۴۰). نتایجی که مغایر نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر بود. نتایج به‌دست‌آمده ما حاکی از تأثیر گذاری معناداری در سطوح انسولین و مقاومت به انسولین بود. مطالعات نشان داده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ موجود در عصاره خرفه از طریق افزایش مصرف انرژی و کاهش بیان آنزیم‌های محدودکننده سرعت سنتز اسید چرب در کبد باعث مهار پراکسیداسیون لیپید می‌شود. از سوی دیگر، خرفه حاوی مقادیر زیادی آکالوئیدهای در این آزمایش، با تغذیه پرکالری، مدلی از موش‌های NAFLD ایجاد شد. نتایج نشان داد که علاوه بر مقاومت به انسولین که با چاقی، تحمل غیرطبیعی گلوکز، هیپرانسولینمی و اختلال متابولیک لیپید مشخص می‌شود، در حیوانات ایجاد شد. در مطالعه نشان داده شد که عصاره خرفه می‌تواند علاوه بر کاهش وزن بدن، تحمل گلوکز و متابولیسم لیپید مختل را بهبود بخشد، هیپرانسولینمی و مقاومت به انسولین را در موش‌های مدل NAFLD کاهش دهد (۵۴). نشان داده شده است که خرفه سرشار از اسید چرب غیراشباع امگا-۳، ویتامین E، ویتامین C، کاروتن، گلوکاتینون و

تزریق هم‌زمان امولسیون لیپیدی حاوی درصد بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه یا امولسیون لیپیدی حاوی چربی غیراشباع امگا ۳ کاهش می‌یابد. در این مطالعه ANGPTL4 پلاسما در طول هیپرانسولینمی، ۳۲ درصد از سطح پایه کاهش یافت. این کاهش با واسطه انسولین در غلظت ANGPTL4 در طی هم‌زمان روغن‌زیتون تا حدی کاهش یافت و در طی انفوزیون هم‌زمان روغن سویا به‌طور کامل کاهش یافت (۴۸). علاوه بر این، پلی ساکاریدهای خرفه به‌عنوان ترکیبات زیست فعال معرفی شده‌اند که ممکن است ترشح/تولید انسولین را در سلول‌های رده سلولی  $\beta$  ترشح‌کننده انسولین (سلول‌های INS-1) تعدیل کنند (۴۹). اثرات محافظتی و اثرات ضد دیابتی دانه‌های خرفه یا عصاره خرفه در مطالعات حیوانی مختلفی گزارش شده است (۵۰-۵۳). باین‌حال اکثر مطالعات انسانی که به بررسی اثر دانه خرفه در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداخته‌اند، نتایج متناقضی را نشان داده‌اند (۴۰، ۵۴). یک متآنالیز اخیر نشان داده است که مصرف خرفه ممکن است سطح گلوکز و تری‌گلیسیرید خون ناشتا را بهبود بخشد (۵۵). به‌طور ناهمسو با نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر، درویش دماوندی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که عصاره خرفه با دوز

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تمرین تناوبی شدید به‌تنهایی و یا همراه با مصرف عصاره خرفه، احتمالاً یکی از مؤثرترین راهکارها برای کاهش میزان مقاومت به انسولین است و همچنین تاثیر مثبتی بر میزان ANGPTL4 در موش‌های مبتلا به NAFLD دارد. نتایج این تحقیق نشان‌دهنده آن است که تمرینات تناوبی شدید با یا بدون مصرف عصاره خرفه می‌تواند در کنترل بیماری NAFLD و کاهش عوارض زیان‌بار این پدیده مؤثر باشد و احتمالاً موجب عدم پیشرفت این پدیده در بیماران می‌شود.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی برای نویسندگان در این تحقیق وجود ندارد.

غیره است و گزارش شده است که این اسید چرب غیراشباع در کاهش مقاومت به انسولین، هیپرلیپیدمی، و پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی تأثیر دارد (۵۶). مغایر با نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر، در پژوهش فرزانی و همکاران (۲۰۱۴) عصاره دانه خرفه نتوانست موجب بهبود سطوح ماتریکس متالوپروتئینازها در افراد دیابتی شود، با توجه با این پژوهش احتمالاً دانه خرفه منجر به افزایش ترشح سطح انسولین می‌گردد (۵۷). طبق گزارش ال سید<sup>۱</sup> (۲۰۱۱) و همسو با مطالعه حاضر، مصرف دانه گیاه خرفه در درمان بیماران دیابتی نوع دو در مقایسه با متفورمین منجر به کاهش معناداری در گلوکز ناشتای پلازما و سطح سرمی انسولین شد (۵۸).

### منابع

1. Khorasani S, Azizi H, Yousefi M, Salari R, Bahrami-Taghanaki H, Behravanrad P. An evidence-based review on integrative medicine in weight control. *Complementary Medicine Journal*. 2017;7(1):1828-50.
2. Safarpor M, Kohan L, Porkhajeh A. Comparative study of anthropometric parameters in non-alcoholic fatty liver disease patients and healthy subjects. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2015;22(3):225-31.
3. Behzadimoghadam M, Galedari M, Motalebi L. The effect of eight weeks resistance training and low-calorie diet on plasma levels of liver enzymes and liver fat in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2018;12(4):25-32.
4. Skrypnik D, Ratajczak M, Karolkiewicz J, Mądry E, Pupek-Musialik D, Hansdorfer-Korzon R, et al. Effects of endurance and endurance-strength exercise on biochemical parameters of liver function in women with abdominal obesity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016; 80:1-7.
5. 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.
6. Schultz A, Mendonca LS, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Swimming training beneficial effects in a mice model of nonalcoholic fatty liver disease. *Experimental and toxicologic pathology*. 2012;64(4):273-82.
  7. Slentz CA, Bateman LA, Willis LH, Shields AT, Tanner CJ, Piner LW, et al. Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2011;301(5): E1033-E9.
  8. Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. *Journal of hepatology*. 2012;56(1):255-66.
  9. Hickman IJ, Macdonald GA. Impact of diabetes on the severity of liver disease. *The American journal of medicine*. 2007;120(10):829-34.
  10. Aroner SA, Mukamal KJ, St-Jules DE, Budoff MJ, Katz R, Criqui MH, et al. Fetuin-A and risk of diabetes independent of liver fat content: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *American journal of epidemiology*. 2017;185(1):54-64.
  11. Semmler G, Datz C, Reiberger T, Trauner M. Diet and exercise in NAFLD/NASH: Beyond the obvious. *Liver International*. 2021;41(10):2249-68.
  12. Hallsworth K, Trenell M. *Physical Activity in NAFLD: What and How Much? Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*: Springer; 2020. p. 289-307.
  13. Guo L, Li S-Y, Ji F-Y, Zhao Y-F, Zhong Y, Lv X-J, et al. Role of Angptl4 in vascular permeability and inflammation. *Inflammation Research*. 2014;63(1):13-22.
  14. Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase. *Journal of lipid research*. 2002;43(12):1997-2006.
  15. Le Jan S, Amy C, Cazes A, Monnot C, Lamandé N, Favier J, et al. Angiopoietin-like 4 is a proangiogenic factor produced during ischemia and in conventional renal cell carcinoma. *The American journal of pathology*. 2003;162(5):1521-8.
  16. Wang Y, Liu LM, Wei L, Ye WW, Meng XY, Chen F, et al. Angiopoietin-like protein 4 improves glucose tolerance and insulin resistance but induces liver steatosis in high-fat-diet mice. *Molecular Medicine Reports*. 2016;14(4):3293-300.
  17. Ma Y, Wang Y, Wang X, Yang L, Lang J, Zhao D. 1884-P: Serum ANGPTL2, ANGPTL3, and ANGPTL4 as potential biomarkers for diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes*. 2019;68(Supplement\_1).
  18. Domínguez-Pérez GA, Vera-Gómez E, Hernández-Patricio A, Gutiérrez-Buendía JA, De la Vega-Moreno K, Zamora-Alemán CR, et al. Relation of ANGPTL4 with the Concentration of LPL and Hepatic Fibrosis in Patients with NAFLD. *Metabolism-Clinical and Experimental*. 2020;104.
  19. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *International journal of obesity*. 2008;32(4):684-91.
  20. Gibala MJ. High-intensity interval training: a time-efficient strategy for health promotion? *Current sports medicine reports*. 2007;6(4):211-3.
  21. Karami M, Ghafari M, Banitalebi E. Comparison of the Effect of Two Personalized Low Volume-High Intensity and Combined (Strength-Aerobic) Exercises on

- Angiopoietin-like Protein 4 (ANGPTL4) Serum Levels in Women with Type 2 Diabetes: A Short Report. *JRUMS* 2020; 19 (1) :97-106.
22. Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Rasekh F, Ramazani M. The effects of *Portulaca oleracea* alcoholic extract on induced hypercholesterolemia in rats. *Zahedan J Res Med Sci.* 2013;15(6):34-9.
  23. Miladi-Gorji H, Vafaei AA, Taherian AA, Vaezi T. The effects of aqueous extracts of *Portulaca oleracea* on withdrawal syndrome in mice. *Journal of Medicinal Plants.* 2009:51-7.
  24. Sahebkar KM, Azizi H, Yousefi M, Salari R, Bahrami TH, Behravanrad P. An evidence-based review on integrative medicine in weight control. 2017.
  25. Gatreh-Samani K, Farrokhi E, Khalili B, Rafieian M, Moradi M. Purslane (*Portulaca oleracea*) effects on serum paraoxanase-1 activity. *Journal of Shahrekord University of medical sciences.* 2011;13(1):9-14.
  26. 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.
  27. 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.
  28. 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.
  29. 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.
  30. 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.
  31. 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.
  32. Kersten S, Lichtenstein L, Steenbergen E, Mudde K, Hendriks HF, Hesselink MK, et al. Caloric restriction and exercise increase plasma ANGPTL4 levels in humans via elevated free fatty acids. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2009;29(6):969-74.
  33. Smart-Halajko MC, Robciuc MR, Cooper JA, Jauhainen M, Kumari M, Kivimaki M, et al. The relationship between plasma angiopoietin-like protein 4 levels, angiopoietin-like protein 4 genotype, and coronary heart disease risk. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2010;30(11):2277-82.
  34. Lu B, Moser A, Shigenaga JK, Grunfeld C, Feingold KR. The acute phase response stimulates the expression of angiopoietin like protein 4. *Biochemical and biophysical research communications.* 2010;391(4):1737-41.
  35. Ryan BJ, Schleh MW, Ahn C, Ludzki AC, Gillen JB, Varshney P, et al. Moderate-intensity exercise and high-intensity interval training affect insulin sensitivity



- similarly in obese adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2020;105(8): e2941-e59.
36. Henstridge DC, Forbes JM, Penfold SA, Formosa MF, Dougherty S, Gasser A, et al. The relationship between heat shock protein 72 expression in skeletal muscle and insulin sensitivity is dependent on adiposity. *Metabolism*. 2010;59(11):1556-61.
  37. Kavanagh K, Davis AT, Jenkins KA, Flynn DM. Effects of heated hydrotherapy on muscle HSP70 and glucose metabolism in old and young vervet monkeys. *Cell Stress Chaperones*. 2016;21(4):717-25.
  38. Schenk S, Horowitz JF. Acute exercise increases triglyceride synthesis in skeletal muscle and prevents fatty acid-induced insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(6):1690-8.
  39. Turcotte LP, Fisher JS. Skeletal muscle insulin resistance: roles of fatty acid metabolism and exercise. *Physical therapy*. 2008;88(11):1279-96.
  40. 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;35(6):3145-56.
  41. Hingst JR, Onslev JD, Holm S, Kjøbsted R, Frøsig C, Kido K, et al. Insulin Sensitization Following a Single Exercise Bout Is Uncoupled to Glycogen in Human Skeletal Muscle: A Meta-analysis of 13 Single-Center Human Studies. *Diabetes*. 2022;71(11):2237-50.
  42. Newsom SA, Schenk S, Thomas KM, Harber MP, Knuth ND, Goldenberg N, et al. Energy deficit after exercise augments lipid mobilization but does not contribute to the exercise-induced increase in insulin sensitivity. *Journal of applied physiology*. 2010; 108(3):554-60.
  43. Gauthier M, Couturier K, Charbonneau A, Lavoie J. Effects of introducing physical training in the course of a 16-week high-fat diet regimen on hepatic steatosis, adipose tissue fat accumulation, and plasma lipid profile. *International journal of obesity*. 2004;28(8):1064-71.
  44. Cook JJ, Wei M, Segovia B, Cosio-Lima L, Simpson J, Taylor S, et al. Endurance exercise-mediated metabolic reshuffle attenuates high-caloric diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Annals of Hepatology*. 2022;27(4):100709.
  45. Takahashi A, Abe K, Usami K, Imaizumi H, Hayashi M, Okai K, et al. Simple resistance exercise helps patients with non-alcoholic fatty liver disease. *International journal of sports medicine*. 2015;94(10):848-52.
  46. 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.
  47. Jeyapal S, Kona SR, Mullapudi SV, Putcha UK, Gurumurthy P, Ibrahim A. Substitution of linoleic acid with  $\alpha$ -linolenic acid or long chain n-3 polyunsaturated fatty acid prevents Western diet induced nonalcoholic steatohepatitis. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-14.
  48. Brands M, Sauerwein HP, Ackermans MT, Kersten S, Serlie MJ. Omega-3 long-chain fatty acids strongly induce angiopoietin-like 4 in humans. *J Lipid Res*.



- 2013;54(3):615-21.
49. Ebrahimian Z, Razavi BM, Mousavi Shaegh SA, Hosseinzadeh H. Effects of *Portulaca oleracea* L.(purslane) on the metabolic syndrome: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2022;25(11): 1275-1285.
50. Bai Y, Zang X, Ma J, Xu G. Anti-diabetic effect of *Portulaca oleracea* L. Polysaccharide and its mechanism in diabetic rats. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(8):1201.
51. Gavaher MA, Babazadeh D, Sadeghi A, Hejazi V, Sasani F, Moshavery A, et al. Comparative Assessment of *Portulaca oleracea*, Omega-3 Fatty Acids, and Combination of Selenium Plus Vitamin E on Histopathology of Pancreas in Diabetic Rats. *Journal of Veterinary Physiology and Pathology*. 2022;1(1):17-23.
52. Rakhshandeh H, Rajabi Khasevan H, Saviano A, Mahdinezhad MR, Baradaran Rahimi V, Ehtiati S, et al. Protective Effect of *Portulaca oleracea* on Streptozotocin-Induced Type I Diabetes-Associated Reproductive System Dysfunction and Inflammation. *Molecules*. 2022;27(18):6075.
53. Ramadan BK, Schaalan MF, Tolba AM. Hypoglycemic and pancreatic protective effects of *Portulaca oleracea* extract in alloxan induced diabetic rats. *BMC complementary and alternative medicine*. 2017;17(1):1-10.
54. 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.
55. Hadi A, Pourmasoumi M, Najafgholizadeh A, Kafeshani M, Sahebkar A. Effect of purslane on blood lipids and glucose: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytotherapy research*. 2019;33(1):3-12.
56. Simopoulos AP, Norman HA, Gillaspay JE, Duke JA. Common purslane: a source of omega-3 fatty acids and antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. 1992;11(4):374-82.
57. Farzanegi P. Impact of the Synchronization of *portulaca oleracea* and Aerobic Training on Levels of MMP2 and MMP9 and TIMP1 in Diabetic Women Type II. *Res-Mol-Med*. 2014;2(2):34-9.
58. El-Sayed M-IK. Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;137(1):643-51.



**Metabolism and Exercise**  
**A bioannual journal**

**Vol 12, Number 1, 2022**



**Changes in Angiotensin-like 4 Protein Level and Insulin Resistance in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effect of High Intensity Interval Training and Portulaca Oleracea extract**

kazemi-esfahani S<sup>1\*</sup>, Yaghoobi A<sup>2</sup>

Received: 11/12/2021

Accepted: 22/5/2022

Published: 21/04/2023

**Abstract**

**Aim:** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is closely related to insulin resistance. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of high intensity interval training (HIIT) and Portulaca Oleracea extract on Angiotensin-like 4 protein level and insulin resistance in rats with non-alcoholic fatty liver disease.

**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 7 repetitions of 1 minute at 90% maximum speed accompanied by active rest intervals including 2 minutes of running at 20% maximum speed. Hepatic ANGPTL4 level and insulin resistance were measured after 8 weeks of HIIT and consumption of purslane extract. One-way anova and tukey post hoc test was used for data analysis

**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. ANGPTL4 levels in the healthy control group was significantly higher than fatty liver control group (p=0.01). Levels of this index in HIIT group (p=0.036), Portulaca Oleracea extract (p=0.01) and HIIT+ Portulaca Oleracea extract (p=0.007) 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 ANGPTL4 and insulin resistance in patients with NAFLD.

**Keywords:** High intensity interval training, Portulaca Oleracea extract, ANGPTL4, insulin resistance, non-alcoholic fatty liver disease

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

\*Email: has4132@gmail.com

