

Research Paper 

The simultaneous response of SOCS3 and the antioxidant enzyme SOD to aerobic exercise and cannabis in high-fat diet-fed rats

Masoumeh Mohamadkhani¹ , Mandana Gholami^{1*} , Heshmatolah Parsian² ,
Hossein Abednatanzi¹

Received: July 11, 2025

Revised: September 16, 2025

Accepted: September 17, 2025

ABSTRACT

Objective: The aim of the present study was to investigate the changes and correlation between the antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) and the expression of the inhibitor of cytokine signaling 3 (SOCS3) gene in rats fed a high-fat diet (HFD) after 6 weeks of aerobic training with cannabis supplementation.

Methodology: In this study, 40 male Wistar rats were divided into 5 groups (8 each): healthy control, high-fat diet (HFD), HFD + aerobic training, +HFD cannabis supplementation (Sup) and HFD+Tr+Sup. After the training intervention for 6 weeks, cannabis supplementation was gavage after each training session at a dose of 100ng/kg to the rats in the supplement groups. The liver of the rats was examined with a Zonacare-Q9 ultrasound device. After the training intervention, SOCS3 variable was measured by RealTime PCR and SOD by ELISA. One-way ANOVA and Pearson correlation were used to analyze the data.

Results: The results showed that high-fat diet in the HFD group induced grade 2 fatty liver and increased cholesterol and triglyceride levels ($p < 0.05$). The HFD, HFD+Sup, and HFD+Tr groups had a significant decrease in SOD ($p < 0.05$). The HFD+Tr, HFD+sup, and HFD+Tr+Sup groups showed a significant decrease in SOCS3 compared to the HFD group ($p < 0.05$). Also, the decrease in SOCS3 in the HFD+Tr+Sup group was significant compared to the HFD+Sup and HFD+Tr groups. ($p > 0.05$)

Conclusion: No relationship was found between antioxidant enzymes and SOCS3. However, exercise training and cannabis supplementation were able to regulate lipid profiles, SOD, and SOCS3 after a high-fat diet.

Keywords: Cannabis supplementation, Aerobic Exercise, Antioxidant Enzymes, Fatty liver

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Physical Education and Sport Sciences 'shQ.C', Islamic Azad University, Shahr_e Qods, Iran.

* Corresponding author's e-mail address: mandanagholami@iaui.ir

Cite this article: Mohamadkhani, M., Gholami, M., Parsian, H., Abednatanzi, H., (2025). The simultaneous response of SOCS3 and the antioxidant enzyme SOD to aerobic exercise and cannabis in high-fat diet-fed rats. *Journal of Metabolism and Exercise*, 15 (2), 59-74.

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.31149.418>

Extended Abstract

Introduction and State of Problem

The aim of the present study was to investigate the changes and correlation between the antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) and the expression of the inhibitor of cytokine signaling 3 (SOCS3) gene in rats fed a high-fat diet (HFD) after 6 weeks of aerobic training with cannabis supplementation.

Methodology

In this study, 40 male Wistar rats were divided into 5 groups (8 each): healthy control, high-fat diet (HFD), HFD + aerobic training, +HFD cannabis supplementation (Sup) and HFD+Tr+Sup. After the training intervention for 6 weeks, cannabis supplementation was gavage after each training session at a dose of 100ng/kg to the rats in the supplement groups. The liver of the rats was examined with a Zonecare-Q9 ultrasound device. After the training intervention, SOCS3 variable was measured by RealTime PCR and SOD by ELISA. One-way ANOVA and Pearson correlation were used to analyze the data.

Results

The results showed that high-fat diet in the HFD group induced grade 2 fatty liver and increased cholesterol and triglyceride levels ($p < 0.05$). The HFD, HFD+Sup, and HFD+Tr groups had a significant decrease in SOD ($p < 0.05$). The HFD+Tr, HFD+sup, and HFD+Tr+Sup groups showed a significant decrease in SOCS3 compared to the HFD group ($p < 0.05$). Also, the decrease in SOCS3 in the HFD+Tr+Sup group was significant compared to the HFD+Sup and HFD+Tr groups. ($p > 0.05$).

Table 1. Table Table

Variabel	Mean	Standard Deviation	Significance Level
Age	22.1	5.4	0.05

Discussion and Conclusion

No relationship was found between antioxidant enzymes and SOCS3. However, exercise training and cannabis supplementation were able to regulate lipid profiles, SOD, and SOCS3 after a high-fat diet.

Originality/Value

Research Limitations/Implications

One of the important limitations of this study is that the intervention model used failed to establish a clear and significant relationship between serum antioxidant levels and liver tissue anti-inflammatory factors. Therefore, more detailed and in-depth studies in this field seem necessary

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All procedures of this study were conducted following guidelines for working with laboratory animals under the supervision of the Ethics Committee of the Islamic Azad University, Science and Research Branch, and ethics approval code IR.IAU.SRB.REC.1403.137 was obtained.

Funding

This study received no funding from public, commercial, or non-profit Organizations.

Authors' contribution

All authors contributed to the design, implementation, and writing of all parts of the present study.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict.

Acknowledgments





The authors express their gratitude to the people who participated in this study and to their research staff.

References

1. Gannon OJ, Robison LS, Salinero AE, Abi-Ghanem C, Mansour FM, Kelly RD, Tyagi A, Brawley RR, Ogg JD, Zuloaga KL. High-fat diet exacerbates cognitive decline in mouse models of Alzheimer's disease and mixed dementia in a sex-dependent manner. *J Neuroinflammation*. 2022 May 14;19(1):110.
2. Tan BL, Norhaizan ME. Effect of High-Fat Diets on Oxidative Stress, Cellular Inflammatory Response and Cognitive Function. *Nutrients*. 2019 Oct 25;11(11):2579.
3. Kamali Sarvestani, A., Hosseini, S. E., Mehrabani, D., & Hashemi, S. A. (2022). Investigation of the effects of cannabis (hashish) on the expression levels of Bax and Bcl-2 genes in adipose tissue cells of adult male rats. *Alborz University Medical Journal*, 11(3), 325-338. <http://dx.doi.org/10.29252/aums.11.3.7> [In Persian].
4. Li, Y., et al., Mendelian Randomization Analysis of the Association of SOCS3 Methylation with Abdominal Obesity. *Nutrients*, 2022. 14(18): p. 3824.
5. Emami, S. R., Jafari, M., Haghshenas, R., & Ravasi, A. (2023). Ameliorative effect of sixteen weeks endurance training on biochemical and oxidative damage in high fat diet induced obese rats. *Indian Journal of Experimental Biology (IJEB)*, 61(02), 107-115 [In Persian].
6. Tajik, T., Baghaei, K., Moghadam, V. E., Farrokhi, N., & Salami, S. A. (2022). Extracellular vesicles of cannabis with high CBD content induce anticancer signaling in human hepatocellular carcinoma. *Biomed. Pharmacother*, 152(113209), 10-1016 [In Persian].



پاسخ همزمان SOCS3 و آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD به تمرین هوازی و کانابیس در رت‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب

معصومه محمدخانی¹ , ماندانا غلامی^{1*} , حشمت اله پارسیان² , حسین عابدنطنزی¹ 

تاریخ دریافت: 1404/4/20

تاریخ بازنگری: 1404/06/25

تاریخ پذیرش: 1404/06/26

چکیده

هدف: هدف مطالعه حاضر بررسی تغییرات و همبستگی بین آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و بیان ژن مهارکننده سیگنال‌دهی سایتوکینی (SOCS3) در رت‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (HFD) بعد از 6 هفته تمرین هوازی با مکمل یاری کانابیس بود.

روش‌شناسی: در این مطالعه، 40 سر رت نر ویستار به 5 گروه (8 تایی): کنترل سالم، رژیم غذایی پرچرب (HFD)، + HFD، تمرین هوازی (Tr)، + HFD، مکمل کانابیس (Sup) و HFD+Tr+Sup تقسیم شدند. پس از مداخله تمرینی به مدت 6 هفته، مکمل کانابیس پس از هر نوبت از تمرین با دوز 100 ng/kg به رت‌های گروه‌های مکمل گاوژ شد. کبد رت‌ها، به منظور بررسی القاء کبد چرب با دستگاه سونوگرافی 9 Zonecare-Q مورد بررسی قرار گرفت. پس از مداخله تمرین بیان ژن SOCS3 با روش RealTime Per و SOD به روش الیزا اندازه‌گیری شد. برای آنالیز داده‌ها از روش آماری آنوا یک راهه و همبستگی پیرسون استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که رژیم غذایی پرچرب در گروه HFD باعث القاء کبد چرب گردید و افزایش مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید شد ($p>0/05$). گروه‌های HFD، HFD+Sup و HFD+Tr+Sup کاهش معنی‌دار SOD را نسبت به گروه کنترل سالم داشتند ($p>0/05$). گروه‌های HFD+Tr، HFD+sup، HFD+Tr+Sup و HFD+Tr+Sup کاهش معنی‌دار SOCS3 را نسبت به گروه HFD نشان دادند ($p>0/05$). همچنین کاهش SOCS3 در گروه HFD+Tr+Sup نسبت به گروه HFD+Sup و HFD+Tr معنی‌دار بود ($p>0/05$).

نتیجه‌گیری: بین آنزیم آنتی‌اکسیدانی و SOCS3 ارتباطی یافت نشد. با این وجود تمرین ورزشی و مکمل کانابیس قادر به تنظیم پروفایل لیپیدی، SOD و SOCS3 بعد از رژیم غذایی پرچرب شدند.

واژه‌های کلیدی: مکمل کانابیس، تمرین هوازی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کبد چرب.

1. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

2. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر قدس، ایران.

* نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: mandanaghohami@iaui.ac.ir

استناد: محمدخانی، معصومه؛ غلامی، ماندانا؛ پارسیان، حشمت اله؛ عابدنطنزی، حسین. (1404). پاسخ همزمان SOCS3 و آنزیم

آنتی‌اکسیدانی SOD به تمرین هوازی و کانابیس در رت‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب، 15 (2)، 59 - 74

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.31149.418>



نوآوری پژوهش و پیام کلی

اهداف پژوهش های حاضر توصیف نقش حیاتی کانابیس در تنظیم آپوپتوز و اتوفاژی است. این اطلاعات ممکن است در تجزیه و تحلیل چشم انداز استفاده از آن به عنوان یک عامل ضد التهابی و ضد اکسایشی در درمان سرطان ها به خصوص HCC، ابتکاری برای استفاده بالینی مفید باشد (36).

مقدمه

تغذیه با غذای پرچرب و چاقی ناشی از آن زیر بنای بسیاری از بیماری ها را تشکیل می دهد (1). مکانیسم اصلی که چاقی چگونه موجب توسعه بیماری ها می شود به درستی معلوم نیست (2) محققان در تلاش برای کشف و درک دلایل مختلف چاقی هستند. چاقی با چندین عامل پیچیده داخلی (ژنتیکی و فیزیولوژیکی) و بیرونی مانند عوامل اجتماعی-اقتصادی و محیطی مرتبط است (3) اما توسعه التهاب و فشار اکسایشی از محتمل ترین مکانیسم ها برای توجیه اثرات بیماری زای چاقی می باشد (4) التهاب مزمن نشانه چاقی است و به طور مستقیم با چندین بیماری که توسط پزشکان مشاهده می کنند، مرتبط است. این پاسخ التهابی منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب مرتبط با مقاومت به انسولین، سطح گلوکز، چربی خون و فشار خون بالا که منجر به سندرم متابولیک می شود. بروز سندرم متابولیک مستقیماً با دیابت نوع 2 (DM2)، بیماری قلبی عروقی، بیماری کبد و کلیه، آپنه خواب و زوال شناختی مرتبط است (5) و مسیر سیگنالینگ SOCS3-JAK-STAT3 در طول دوره چاقی، عملکرد مناسب لپتین و انسولین را مختل می کند و یک چرخه بیهوده ایجاد می کند که باعث افزایش وزن می شود (6) و از طرفی مطالعات تجربی نشان داده اند که SOCS3 به نوبه خود نه تنها به طور منفی سیگنال دهی لپتین و IL-6 را تنظیم می کند، بلکه عملکرد انسولین (INS) را نیز مختل می کند و در نهایت منجر به چاقی و مقاومت به انسولین می شود (7) و همچنین تنظیم SOCS3 مکانیسم های تکثیر سلول های سرطانی بر مسیرهای مختلف تکثیر سرطان مانند $TGF \beta$ ، JAK/STAT، mTOR، Ras/MAPK و مسیرهای Wnt تأثیر می گذارد (8).

علاوه بر این، افزایش بیان SOCS1 و SOCS3 در کبد موش های چاق با عدم تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین مرتبط بوده است (8 و 9). این یافته ها بر نقش SOCS3 در اختلالات متابولیک و همچنین نقش بالقوه آن در پیشرفت بیماری های کبدی تأکید دارند (10). مطالعات انجام شده بر روی هیپاتوسیت های موش و سلول های کارسینوما کبدی انسانی نشان داده اند که IL-6 از طریق افزایش بیان SOCS3، باعث مهار فسفریلاسیون تیروزین 1-IRS شده و به این ترتیب مقاومت به انسولین را القا می کند (11) و چاقی همچنین ارتباط نزدیکی با استرس اکسیداتیو دارد؛ وضعیتی که با عدم تعادل بین تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) و مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی شناخته می شود (12). مطالعات نشان داده اند که استرس اکسیداتیو پایدار در شرایط چاقی منجر به آسیب های سلولی و بافتی می شود و در نتیجه به بروز اختلالات متابولیک و التهاب مزمن کمک می کند (13). چاقی با رسوب بیش از حد چربی بدن مشخص می شود و به دلیل عدم تعادل انرژی، به ویژه در هنگام مصرف رژیم های غذایی غنی از چربی ایجاد

می‌شود. چاقی مرتبط با رژیم غذایی پرچرب (HFD) در بیماران مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) که به عنوان یکی از جهانی‌ترین علل بیماری کبد در سراسر جهان، به ویژه در کشورهای غربی در حال ظهور است، بسیار رایج است (2). سلول‌ها یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی را بر اساس اجزای آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) به کار می‌گیرند تا از آسیب سلولی ناشی از ROS محافظت کنند. قرار گرفتن سلول‌های کبدی در معرض سطوح بیش از حد لیپیدها، استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی را از طریق مکانیسم‌های مختلف تحریک می‌کند (14). اثرات سمی لیپیدها اغلب به عنوان سمیت چربی شناخته می‌شود. از آنجایی که کبد ظرفیت بازسازی بالایی دارد، استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی نهایی باعث تکثیر سلولی قابل توجهی می‌شود و به طور همزمان باعث گسترش سلول‌های کوپفر ساکن کبد می‌شود (15).

افزون بر این، تمرینات استقامتی موجب افزایش فسفریلاسیون پروتئین‌ها در مسیر سیگنال‌دهی پل‌تین (pJAK2/pSTAT3) و کاهش محتوای فاکتور نکروز توموری-آلفا (TNF- α)، گیرنده شبه تول (TLR4)، مهارکننده سیگنال‌دهی سیتوکین 3 (SOCS3) و فسفاتاز تیروزین پروتئین (PTP1B) می‌شود. همچنین، این نوع تمرینات باعث کاهش فسفریلاسیون کیناز مهارکننده I κ B در هیپوتالاموس حیوانات چاق می‌گردد، که نشان‌دهنده نقش بالقوه آن در تنظیم التهاب و سیگنال‌دهی متابولیکی است (16). با این حال، ورزش به عنوان یک مداخله غیر دارویی مؤثر برای کند کردن روند پیشرفت بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) شناخته می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در موش‌ها طی تمرینات ورزشی حاکی از توانایی ایجاد یک مکانیسم جبرانی در برابر استرس اکسیداتیو از طریق سازگاری با سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و فرایندهای ترمیمی است (17 و 18).

علاوه بر فعالیت بدنی، مداخلات تغذیه‌ای مناسب، مانند کانابیدیول (CBD)، به دلیل طیف گسترده‌ای از اثرات زیستی از جمله خواص ضدالتهابی، ضدسرطانی و محافظت‌کننده عصبی، مورد توجه قرار گرفته‌اند. (CBD)، به عنوان یک ترپنوئید غیرروان‌گردان، نشان داده است که بر سلول‌های ستاره‌ای کبد (HSCs) تأثیر می‌گذارد و منجر به تجمع ماتریکس و فیبروز کبدی می‌شود. یک مطالعه بنیادی در مورد HSCها نشان داد که CBD مسیر سیگنال‌دهی پایین‌دستی (IRE1/ASK1/JNK (c-Jun N-terminal kinase) را فعال کرده و آپوپتوز را تحریک می‌کند که در نهایت منجر به مرگ سلول‌های HSC می‌شود. نویسندگان این مطالعه پیشنهاد کردند که CBD می‌تواند به عنوان یک عامل درمانی بالقوه برای هیپاتیت مزمن مورد استفاده قرار گیرد، چرا که از طریق القای آپوپتوز در HSCهای فعال، میزان فیبروز کبدی را کاهش می‌دهد (19). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی CBD تنها به ساختار مولکولی آن محدود نمی‌شود، بلکه به توانایی آن در افزایش بیان سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد کلیدی، از جمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX)، نیز مربوط است. این اثر از طریق مسیر سیگنال‌دهی Nrf2/Keap1 (فاکتور هسته‌ای مرتبط با اریترئوئید 2) اعمال می‌شود که نقش حیاتی در دفاع سلولی در برابر استرس اکسیداتیو دارد (20).

با توجه به شواهد موجود مبنی بر اثرات هم‌افزایی تمرین ورزشی و مصرف مکمل‌ها در بهبود پاسخ‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی، مطالعه حاضر با هدف بررسی این فرضیه انجام شده است که آیا مداخله‌ی همزمان تمرین هوازی و مصرف مکمل کانابیس می‌تواند بر بیان ژن SOCS3 و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD در رت‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب تأثیرگذار باشد یا خیر؟



روش‌شناسی

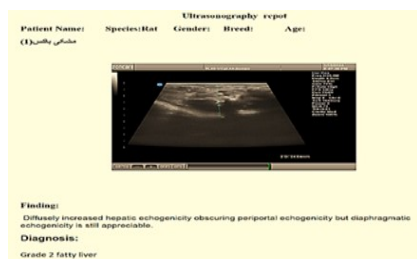
این مطالعه با هدف توسعه‌ای، از نوع مقطعی از نظر بازه زمانی، در محیط آزمایشگاهی، با طراحی آینده‌نگر و به روش تجربی انجام شد. تأییدیه اخلاقی این پژوهش توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی تهران با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1403.137 صادر شده است. جامعه آماری این پژوهش شامل ۴۰ سر رت نژاد ویستار، با دامنه سنی ۱۰ تا ۱۲ هفته و میانگین وزن 240 ± 20 گرم بود. این حیوانات از مجتمع تولیدی تحقیقاتی مؤسسه پاستور ایران تهیه و به آزمایشگاه زیست‌شناسی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات منتقل شدند. نگهداری آن‌ها تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی صورت گرفت. موش‌ها به‌طور آزاد (*ad libitum*) به آب و غذا دسترسی داشتند. رژیم غذایی مورد استفاده، ویژه رت‌ها و بر اساس نیازهای کالری و ترکیبات مغذی طراحی شده بود. حیوانات به مدت دو هفته جهت سازگاری در ده قفس استاندارد موش ($30 \times 15 \times 15$ سانتی‌متر) تحت شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. شرایط محیطی شامل چرخه نوری ۱۲ ساعته روشنایی/تاریکی، دمای متوسط 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد بود. در طول دوره سازگاری، رژیم غذایی استاندارد استفاده شد که پس از آن با رژیم غذایی پرچرب از شرکت جوانه خراسان جایگزین شد. این رژیم ۲.۵ کیلوکالری به ازای هر گرم تأمین می‌کرد و شامل ۱۹.۶٪ پروتئین، ۳٪ چربی، و ۷۷.۴٪ سایر مواد مغذی بود.

پروتکل رژیم غذایی پرچرب

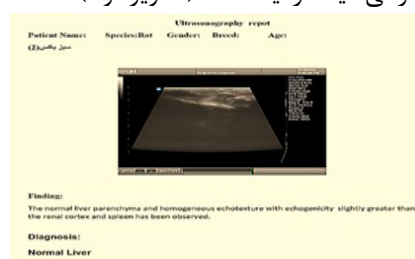
به‌جز گروه کنترل سالم (۸ موش) که به‌صورت تصادفی انتخاب شد، تمامی حیوانات با رژیم غذایی پرچرب به مدت دو ماه تغذیه شدند. این رژیم با افزودن ۴۰٪ روغن جامد گیاهی نسبت به رژیم نرمال به غذای روزانه آن‌ها اعمال شد. مقدار روغن افزوده‌شده معادل ۳۷٪ از وزن رژیم استاندارد بود. وزن بدن حیوانات با استفاده از ترازوی دیجیتال برند (500Sunli BLK-) با دقت ۰.۱ گرم، دو بار در هفته، پیش از شروع رژیم و در طول دوره تغذیه با رژیم پرچرب اندازه‌گیری شد. پس از گذشت دو ماه، تعداد ۳۲ سر از موش‌هایی که رژیم پرچرب دریافت کرده بودند، به‌صورت تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند (۸ موش در هر گروه) (21, 22). 1. گروه رژیم غذایی پرچرب (HFD). 2. گروه رژیم پرچرب همراه با تمرین ورزشی (HFD+Tr). 3. گروه رژیم پرچرب همراه با مکمل (HFD+Sup). 4. گروه رژیم پرچرب همراه با تمرین و مکمل (HFD+Tr+Sup)

القا کبد چرب

به منظور بررسی القا کبد چرب بر اساس رژیم غذایی پرچرب اجرا شده، قبل از شروع پروتکل تمرین و مکمل، ۴ سر رت یکی از گروه شاهد و سه سر از آزمودنی تحت رژیم پرچرب، بطور تصادفی با دستگاه سونوگرافی **Zonacare-Q9** ساخت ووان چین با پروب مخصوص حیوانات کوچک، توسط دکتر دامپزشک مورد سونوگرافی کبد و احشاء قرار گرفتند، که به غیر از یک سر رت شاهد در سایر آزمودنی‌ها شواهد کبد چرب گرید 2 قابل مشاهده بود که در گزارش سونوگرافی قید گردیده است (تصویر 1 و 2).



تصویر 2: جواب سونوگرافی کبد چرب گرید 2 (نمونه رژیم پرچرب)



تصویر 1: جواب سونوگرافی کبد نرمال (نمونه شاهد)

تمرین ورزشی

گروه های HFD+Tr و HFD+Tr+Sup به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ روز بر روی تردمیل آزمایشگاهی شرکت مهندسی پیشرو اندیشه صنعت مدل نوید لاین با کد محصول ۱۲۶۰۳ تحت تمرین قرار گرفتند. روش تمرین با تغییر در شدت و مدت تمرین بدین شرح صورت گرفت. در کل دوره تمرین به مدت ۵ دقیقه در ابتدا و انتهای هر تمرین شرایط گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۱۰m/Min رعایت شد. در هفته اول با سرعت ۱۵m/Min به مدت ۳۰ دقیقه، هفته دوم ۱۸m/Min به مدت ۳۵ دقیقه، هفته سوم ۲۱m/Min به مدت ۴۰ دقیقه، هفته چهارم ۲۳m/Min به مدت ۴۵ دقیقه، هفته پنجم ۲۵m/Min مدت ۵۰ دقیقه و هفته ششم ۲۷m/Min به مدت ۶۰ دقیقه پروتکل تمرین به مورد اجرا گذاشت شد.

مکمل

گروه های HFD+Sup و HFD+Tr+Sup با استفاده از گیاه کانابیس تهیه شده از پژوهشکده گیاهان دارویی به شماره ثبت -10420HT- 397 به صورت عصاره هیدرو الکلی گیاه کانابیس با دوز 5, 100ng/kg روز در هفته به مدت 6 هفته پس از هر نوبت از تمرین گاوژ شدند (23و24).

تشریح و اندازه گیری های آزمایشگاهی

48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی جهت کاهش اثرات حاد تمرین، حیوانات به شرکت دانش بنیان ژنتیک و بیولوژی کیمیا اندیشه طب به شماره ثبت ۲۰۵۹۳۲ جهت انجام آزمایشات و نمونه گیری های لازم منتقل شدند. مراحل قربانی شدن شامل خونگیری و تهیه نمونه های بافتی (کبد) در طی ۸ ساعت توسط دکتر دامپزشک و تیم همراه صورت گرفت. نمونه های بافتی کبد جهت بررسی بیان ژن SOCS3 با روش Real Time Pcr نیز گرد آوری شد. در مطالعه حاضر کلاسترول با استفاده از کیت شرکت دلتا درمان پارت (تهران، ایران) با کد PI 012 اندازه گیری شد. ضریب تغییرات آزمون این کیت 0.9986 بود. تری گلیسرید نیز با استفاده از کیت شرکت دلتا درمان پارت (تهران، ایران) اندازه گیری شد. HDL و LDL با استفاده از کیت های شرکت دلتا درمان پارت (تهران، ایران) با روش Direct-Enzymatic برای اندازه گیری فتومتریک ارزیابی شد. میزان فعالیت آنزیم SOD توسط کیت به روش الایزا و بر اساس پروتکل شرکت خریداری شده اندازه گیری گردید.

بیان ژن SOCS3 کبد

برای بررسی بیان ژن های SOCS3 در هر گروه از تکنیک PCR Real Time استفاده شد. برای آماده سازی پرایمرها از آب مقطر حاوی پرایمر لیوفیلیزه 10 میکرولیتر، پرایمر جلویی (Primer Forward) و پرایمر معکوس (Primer Revers) 0/5 میکرولیتر، 1cDNA و آب دی اتیل پیرو کربنات (DEPC Water) 8 میکرولیتر استفاده شد. برای بررسی بیان ژن به روش qRT-PCR RNA کل سلول با استفاده از محلول کیزول و بر اساس پروتکل شرکت سیناژن استخراج شد. کیفیت RNA های استخراج شده با دستگاه اسپکترومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تهیه cDNA تک رشته ای از پرایمر Oligo dt و آنزیم نسخه برداری معکوس براساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR در دستگاه ABI Step One طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. چرخه های واکنشی Real-Time PCR برای ژن socs3 با سه دمای 94، 60 و 72 درجه سانتی گراد انجام شد. نمودار ذوب (Melting) جهت بررسی صحت واکنش های PCR انجام شد. از گلیسر آلدئید 3 فسفات (GAPDH) به عنوان ژن مرجع socs3 استفاده گردید. میزان بیان ژن های کنترل و تجربی به صورت توامان با هم اندازه گیری شد. پرایمرهای مورد استفاده در جدول 1 آمده است.

جدول 1. مشخصات پرایمرهای استفاده شده در تحقیق

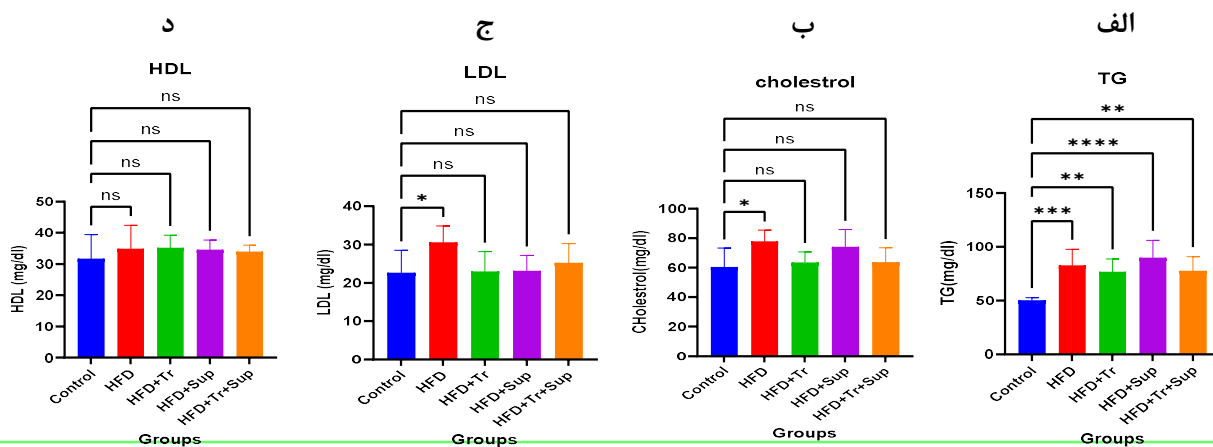
ژن	توالی آغازگرها
<i>SOCS3</i>	GGACCAAGAACCTACGCATCCA CACCAGCTTGAGTACACAGTCG

روش های تحلیل آماری

داده ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد استفاده شدند. نرمال بودن داده ها با آزمون آماری شاپیروویلیک مورد تایید قرار گرفت. برای بررسی تغییرات متغیرهای تحقیق بین گروه های مختلف تحقیق از آزمون آماری آنوا یک راهه استفاده شد. همچنین آزمون تعقیبی توکی نیز برای بررسی تغییرات هر یک از متغیرها بین گروه ها استفاده شد. برای بررسی همبستگی بین *SOD* سرمی و *SOCS3* بافت کبد از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. داده های با استفاده از نرم افزار آماری *SPSS* ورژن 26 آنالیز شده و همچنین برای ترسیم نمودارها از نرم افزار *Graph Pad Prism9* استفاده شد. سطح معنی داری نیز $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

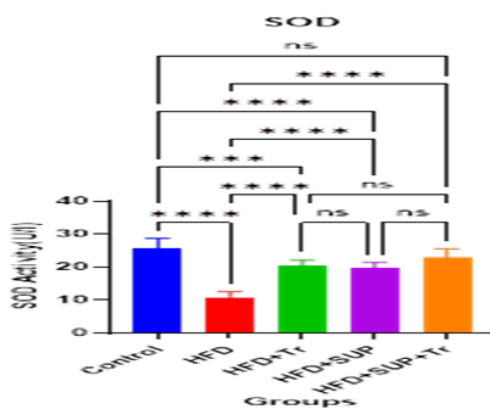
تغییرات پروفایل لیپیدی حیوانات در گروه های مختلف تحقیق در شکل 1 نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری آنوا یک راهه نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق در *TG* تفاوت معنی داری وجود دارد ($F=7.024$, $p=0.0004$) نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تمام گروه های *HFD* افزایش معنی دار در *TG* را نسبت به گروه کنترل سالم نشان دادند ($p < 0.05$) (شکل 1 الف). نتایج آزمون آماری آنوا یک راهه نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق در *CHOLESTROL* تفاوت معنی داری وجود دارد ($F=4.112$, $p=0.0084$) نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تنها گروه *HFD* افزایش معنی دار در کلسترول را نسبت به گروه کنترل سالم نشان داد ($p < 0.05$) با این وجود گروه های درمانی تغییرات معنی داری نسبت به گروه *HFD* در کلسترول را نشان ندادند (شکل 1 ب). نتایج آزمون آماری آنوا یک راهه نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق در *LDL* تفاوت معنی داری وجود دارد ($F=3.522$, $p=0.0172$) نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه های *HFD+Tr* و *HFD+Sup* کاهش معنی دار *LDL* را نسبت به گروه *HFD* نشان دادند (شکل 1 ج). نتایج آزمون آماری آنوا یک راهه نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق در *HDL* تفاوت معنی داری وجود ندارد ($F=0.4162$, $p=0.7957$) (شکل 1 د).



شکل 1. تغییرات تری گلیسرید (الف)، سطوح کلسترول (ب)، LDL (ج) و HDL (د) در گروه های مختلف تحقیق. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد نشان داده شده اند. سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شده است. مخفف: HFD.

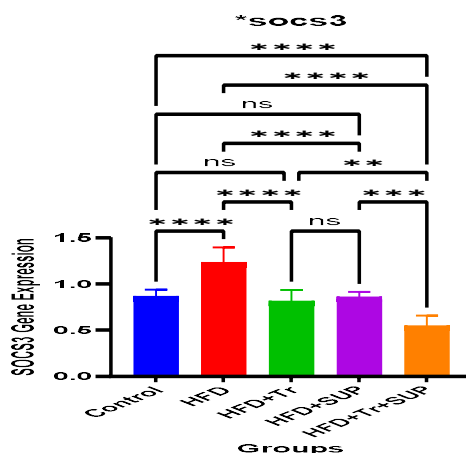
رژیم غذایی پرچرب، Tr: تمرین، Sup: مکمل

تغییرات شاخص آنتی اکسیدانته SOD در گروه های مختلف تحقیق در شکل 2 نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری آنوا یک راهه نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق در (SOD $p < 0.0001$, $F = 49.14$, $p < 0.0001$) و HFD ($p < 0.0001$) تفاوت معنی داری وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که گروه های HFD ($p < 0.0001$) و HFD+Sup ($p < 0.0001$) و HFD+Tr ($p < 0.0005$) کاهش معنی دار SOD را نسبت به گروه کنترل سالم داشتند. نسبت به گروه HFD، تمام گروه های درمانی افزایش معنی دار در SOD را نشان دادند.



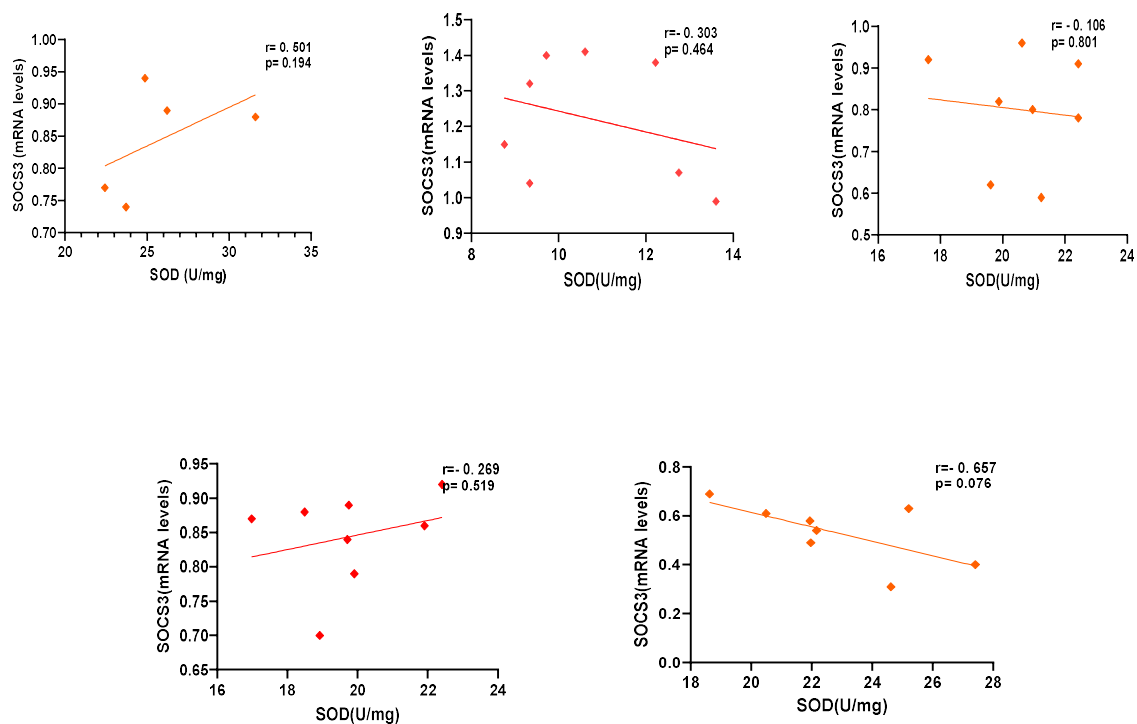
شکل 2. تغییرات SOD در گروه های مختلف تحقیق. داده های به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد نشان داده شده اند. سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شده است. مخفف: HFD. رژیم غذایی پرچرب، Tr: تمرین، Sup: مکمل.

تغییرات بیان ژن SOCS3 در گروه های مختلف تحقیق در شکل 3 نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری آنوا یک راهه نشان داد که بین گروه های مختلف تحقیق در بیان ژن SOCS3 تفاوت معنی داری وجود دارد ($F = 6.677$, $p = 0.0005$). بر اساس آزمون تعقیبی توکی گروه های HFD+Tr، HFD+sup، HFD+Tr+Sup و HFD+Tr+Sup کاهش معنی دار SOCS3 را نسبت به گروه HFD نشان دادند ($p < 0.05$). همچنین کاهش SOCS3 گروه HFD+Tr+Sup نسبت به گروه HFD+Sup و HFD+Tr معنی دار بود ($p < 0.05$).



شکل 3. تغییرات بیان ژن SOCS3 در گروه‌های مختلف تحقیق. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شده است. مخفف: HFD: رژیم غذایی پرچرب، Tr: تمرین، Sup: مکمل.

برای بررسی همبستگی بین شاخص آنتی‌اکسیدانتي SOD و بیان ژن SOCS3 از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که بین SOD و بیان ژن SOCS3 در گروه‌های مختلف تحقیق همبستگی وجود نداشت (شکل 4).



شکل 4. همبستگی بین شاخص آنتی‌اکسیدانتي SOD و بیان ژن SOCS3 در گروه‌های مختلف تحقیق. الف: گروه کنترل، ب: گروه HFD، ج: گروه HFD+Tr، د: گروه HFD+Sup، ه: گروه HFD+Tr+Sup. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شده است. مخفف: HFD: رژیم غذایی پرچرب، Tr: تمرین، Sup: مکمل.

بحث

یکی از پیامدهای اصلی چاقی ناشی از رژیم‌های غذایی پرچرب، بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) است که به یکی از دلایل اصلی بیماری‌های کبدی در سراسر جهان، به‌ویژه در کشورهای غربی، تبدیل شده است (25). در حال حاضر، بیش از ۶۵۰ میلیون نفر در جهان به NAFLD مبتلا هستند و این بیماری به‌عنوان یک عامل خطر قابل توجه در بروز کارسینومای هپاتوسلولار (HCC) شناخته می‌شود (26). چاقی می‌تواند خطر ابتلا به HCC را حداقل سه برابر بیشتر از سایر علل افزایش دهد. کارسینومای هپاتوسلولار مسئول ۹۰٪ سرطان‌های اولیه کبد است و سومین علت مرگ

ناشی از سرطان محسوب می‌شود (27). استرس اکسیداتیو به‌عنوان یک عامل تومورزای مهم شناخته می‌شود که در مراحل آغازین و پیشرفت سرطان کبد نقش دارد. یکی از رویدادهای کلیدی در پیشرفت HCC، سطوح بالای گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که ناشی از بار اضافی اسیدهای چرب و التهاب مزمن می‌باشد (28). قابل توجه است که افزایش ترشح اینترلوکین ۶ (IL-6) ناشی از عوامل تغذیه‌ای در بافت چربی سفید می‌تواند با کبد ارتباط برقرار کند و منجر به افزایش بیان سرکوبگر سیگنال‌دهی سیتوکین ۳ (SOCS3) در کبد شود، که در نهایت عملکرد انسولین را مختل می‌کند (29). مولکول‌های SOCS به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های بازخورد منفی عمل کرده و در شرایط چاقی موجب اختلال در عملکرد لپتین و انسولین شده و یک چرخه معیوب ایجاد می‌کند که به افزایش بیشتر وزن منجر می‌شود. پیشرفت‌های اخیر در مدل‌های ژنتیکی موش‌ها همراه با رژیم‌های غذایی متنوع، سازوکارهای مولکولی زیربنایی این فرآیند را روشن ساخته‌اند (30). با توجه به اینکه تمرین ورزشی و مکمل کانابیس از عوامل مؤثر در کاهش التهاب و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی محسوب می‌شوند، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر همزمان این دو مداخله بر بیان ژن SOCS3 و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD در رت‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب طراحی شده است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شاخص‌های پروفایل لیپیدی (LDL، کلسترول و تری‌گلیسرید) با مصرف HFD افزایش معنی‌دار داشت با این وجود مقادیر LDL در گروه‌های HFD+Tr و HFD+Sup کاهش معنی‌داری نسبت به گروه HFD داشت. گروه‌های HFD و HFD+Sup و HFD+Tr کاهش معنی‌دار SOD را نسبت به گروه کنترل سالم داشتند و نسبت به گروه HFD، تمام گروه‌های درمانی افزایش معنی‌دار در SOD را نشان دادند همچنین گروه‌های HFD+sup، HFD+Tr، HFD+Tr+Sup و HFD+Tr+Sup افزایش معنی‌دار SOCS3 را نسبت به گروه HFD نشان دادند و افزایش SOCS3 گروه HFD+Tr+Sup نسبت به گروه HFD+Sup و HFD+Tr معنی‌دار بود. مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر، تحقیق آبراهیم و همکاران (2021) نشان داد که مصرف بلندمدت رژیم غذایی پرچرب (HFD) منجر به افزایش وزن، دیس‌لیپیدمی، افزایش سطوح گلوکز و انسولین، کاهش بیان PPAR- γ و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، CAT، GPX، GR، GSH) می‌شود (28). علاوه بر این، اسویدرسا و همکاران (2019) رابطه بین آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی، هموستاز ردوکس، و آسیب اکسیداتیو را در ۶۷ بیمار مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم‌های SOD، GPX و GR، به‌همراه شاخص‌های آسیب اکسیداتیو (GSH، TOS، AGE، MDA، DNA/RNA)، در بیماران مبتلا به مراحل ابتدایی و پیشرفته NAFLD در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته بود (29). در مطالعه‌ای که توسط یوکیان و همکاران (2022) انجام شد، افزایش سطح متیلاسیون ژن SOCS3 با چاقی شکمی در جمعیت روستایی چین ارتباط داشت. این یافته‌ها نشان می‌دهند که متیلاسیون SOCS3 می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه برای پیش‌بینی یا تشخیص چاقی شکمی مورد استفاده قرار گیرد (30). در مجموع، این مطالعات بر نقش حیاتی مسیره‌های متابولیسمی و التهابی ناشی از چاقی در ایجاد مقاومت به انسولین، استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد کبد تأکید دارند. با توجه به این‌که استرس اکسیداتیو و التهاب مزمن از عوامل کلیدی در بروز استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH) محسوب می‌شوند، شکلی نکرولتهایی از بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) که حتی در غیاب سیروز می‌تواند به کارسینومای هپاتوسلولار (HCC) منجر شود. ورزش و مصرف مکمل‌های کانابیدیول می‌توانند نقش مهمی در کاهش این عوامل ایفا کنند. با هدف قرار دادن استرس اکسیداتیو و التهاب، این مداخلات پتانسیل بهبود سلامت کبد و بازگرداندن تعادل متابولیسمی را دارا هستند. در مطالعه‌ای که توسط سیدرضا امامی و همکاران (2023) انجام شد، اثرات رژیم غذایی پرچرب (HFD) و ۱۶ هفته تمرینات استقامتی بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در گروه‌های کنترل و تجربی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GST در پلاسمای گروه HFD



پس از ۱۶ هفته کاهش یافت؛ که این یافته‌ها با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD در مطالعه حاضر نیز مطابقت دارد (31). تایوک و همکاران (2018) تأثیر درمان با تردمیل را بر نشان‌گرهای استرس اکسیداتیو و وضعیت آنتی‌اکسیدانی درون‌زا در موش‌های چاق طی ۲۸ روز بررسی کرد. موش‌ها به ۴ گروه تقسیم شدند: کنترل طبیعی، کنترل چاقی (KP)، و دو گروه تمرین (۱۰P1: ۱۰ دقیقه در روز، ۲P2: ۲۰ دقیقه در روز). درمان با تردمیل باعث کاهش سطح MDA خون و افزایش سطح GSH، فعالیت MnSOD و کاتالاز در موش‌های چاق نسبت به گروه کنترل KP شد. تمرین ۱۰×۱ دقیقه در روز تأثیر مثبتی بر بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو داشت (32). در مطالعه‌ای که توسط رودولف مارینو و همکاران (2018) انجام شد، اثرات ورزش بر تنظیم فرآیندهای التهابی، استرس شبکه آندوپلاسمی، و آپوپتوز در نورون‌های هیپوتالاموسی موش‌های چاق مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ورزش موجب افزایش فسفریلاسیون پروتئین‌های مسیر سیگنال‌دهی لپتین (Pjak2/pSTAT3) و کاهش سطوح فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α)، گیرنده محلول ۴ (TLR4)، SOCS3، فسفاتاز تیروزین پروتئین 1 (PTP1B) و نیز کاهش فسفریلاسیون کیناز مهارکننده IκB در هیپوتالاموس حیوانات چاق شد (33). مشخص شده است که کانابیدیول (CBD) باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPx) می‌شود؛ آنزیم‌هایی که در خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نقش دارند و از آسیب اکسیداتیو به کبد جلوگیری می‌کنند. نتایج مطالعه‌ای که توسط سامیا و همکاران انجام شد، نشان داد که CBD موجب بهبود آنزیم‌های کبدی (GGT, AST, ALT)، کاهش استرس اکسیداتیو (افزایش SOD و CAT) و کاهش MDA شده و به این ترتیب، نقش محافظتی و درمانی آن در برابر کارسینومای هپاتوسلولار (HCC) را به اثبات رساند که در مطالعه حاضر افزایش SOD با مصرف CBD نسبت به گروه HFD همخوان است (34). تاجیک و همکاران (2022) توانایی وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از کانابیس (CDEVs) با محتوای بالای CBD را در القای مسیرهای ضدسرطانی در سلول‌های سرطان هپاتوسلولار انسانی (HCC) مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آن‌ها حاکی از آن است که CDEVs می‌توانند به‌عنوان حامل‌های طبیعی ایده‌آل برای فیتوکانابینوئیدهای زیست‌فعال عمل کرده و یک استراتژی نویدبخش برای مدیریت سرطان ارائه دهند. این نتایج بر پتانسیل درمانی ترکیبات مشتق از کانابیس در تعدیل مسیرهای سلولی مرتبط با سرکوب تومور تأکید دارند (35).

نتیجه‌گیری کلی و پیام مقاله

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد استفاده از مکمل کانابیس همراه با تمرین ورزشی هوازی می‌تواند از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و ارتقاء فاکتورهای ضدالتهابی در سطح سلولی، اثرات سودمندی به‌همراه داشته باشد و قادر به تنظیم پروفایل لیپیدی، SOD و SOCS3 بعد از رژیم غذایی پرچرب شوند.

محدودیت‌ها

یکی از محدودیت‌های مهم این پژوهش آن است که الگوی مداخله‌ای به‌کاررفته نتوانست ارتباط مشخص و معناداری میان سطوح آنتی‌اکسیدان‌های سرمی و فاکتورهای ضدالتهابی بافت کبد برقرار کند. از این رو انجام مطالعات دقیق‌تر و عمیق‌تر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.



پیشنهاد برای مطالعات آتی

بر اساس محدودیت‌های پژوهش، پیشنهاد برای مطالعات آتی ذکر شود.

ملاحظات اخلاقی

رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی

تمام مراحل این مطالعه با رعایت دستورالعمل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی تحت نظارت کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انجام شد و کد تأیید اخلاق 1403.137IR.IAU.SRB.REC. اخذ گردید.

منابع مالی

این مطالعه هیچ بودجه‌ای از سازمان‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش بخش‌های مطالعه حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

تضاد منافع ندارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رسالهٔ مقطع دکتری رشته تربیت بدنی گرایش فیزیولوژی ورزش می‌باشد. از همه کسانی که در این پژوهش ما را در مراحل مختلف یاری رساندند، صمیمانه قدردانی و تشکر مینماییم.

References

- Gannon OJ, Robison LS, Salinero AE, Abi-Ghanem C, Mansour FM, Kelly RD, Tyagi A, Brawley RR, Ogg JD, Zuloaga KL. High-fat diet exacerbates cognitive decline in mouse models of Alzheimer's disease and mixed dementia in a sex-dependent manner. *J Neuroinflammation*. 2022 May 14;19(1):110.
- Tan BL, Norhaizan ME. Effect of High-Fat Diets on Oxidative Stress, Cellular Inflammatory Response and Cognitive Function. *Nutrients*. 2019 Oct 25;11(11):2579 .
- De Lorenzo, A.; Romano, L.; Di Renzo, L.; Di Lorenzo, N.; Cennamo, G.; Gualtieri, P. Obesity: A preventable, treatable, but relapsing disease. *Nutrition* 2020, 71, 110615. [CrossRef]
- Cleveland Clinic. Childhood Obesity. May 2022. Available online: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/9467-obesity-in-children> (accessed on 26 December 2022).
- Howell, C. R., Juarez, L., Agne, A. A., Nassel, A. F., Scarinci, I. C., Ayala, G. X., & Cherrington, A. L. (2022). Assessing Hispanic/Latino and non-Hispanic white social determinants of obesity among a community sample of residents in the rural southeast US. *Journal of immigrant and minority health*, 24(6), 1469-1479.
- Sabio, G., Das, M., Mora, A., Zhang, Z., Jun, J. Y., Ko, H. J., ... & Davis, R. J. (2008). A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance. *Science*, 322(5907), 1539-1543.
- Shi, H., Cave, B., Inouye, K., Bjørnbæk, C., & Flier, J. S. (2006). Overexpression of suppressor of cytokine signaling 3 in adipose tissue causes local but not systemic insulin resistance. *Diabetes*, 55(3), 699-707.
- Ueki, K., Kondo, T., Tseng, Y. H., & Kahn, C. R. (2004). Central role of suppressors of cytokine signaling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse. *Proceedings of the national academy of sciences*, 101(28), 10422-10427.

9. U Ueki, K., Kondo, T., & Kahn, C. R. (2004). Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) and SOCS-3 cause insulin resistance through inhibition of tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins by discrete mechanisms. *Molecular and cellular biology*, 24(12), 5434-5446.
10. Rui, L., Yuan, M., Frantz, D., Shoelson, S., & White, M. F. (2002). SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *Journal of Biological Chemistry*, 277(44), 42394-42398.
11. Senn, J. J., Klover, P. J., Nowak, I. A., Zimmers, T. A., Koniaris, L. G., Furlanetto, R. W., & Mooney, R. A. (2003). Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 278(16), 13740-13746.
12. Zhou, Y., Li, H., & Xia, N. (2021). The interplay between adipose tissue and vasculature: role of oxidative stress in obesity. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8, 650214.
13. Lian, C. Y., Zhai, Z. Z., Li, Z. F., & Wang, L. (2020). High fat diet-triggered non-alcoholic fatty liver disease: A review of proposed mechanisms. *Chemico-biological interactions*, 330, 109199.
14. Deponte, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5), 3217-3266.
15. Bessone, F., Razori, M. V., & Roma, M. G. (2019). Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76, 99-128.
16. Kruk, J., & Duchnik, E. (2014). Oxidative stress and skin diseases: possible role of physical activity. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(2), 561-568.
17. Vezzoli, A., Pugliese, L., Marzorati, M., Serpiello, F. R., La Torre, A., & Porcelli, S. (2014). Time-course changes of oxidative stress response to high-intensity discontinuous training versus moderate-intensity continuous training in masters runners. *PloS one*, 9(1), e87506.
18. Fu, Z., Zhao, P. Y., Yang, X. P., Li, H., Hu, S. D., Xu, Y. X., & Du, X. H. (2023). Cannabidiol regulates apoptosis and autophagy in inflammation and cancer: A review. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1094020.
19. Jîtcă, G., Ősz, B. E., Vari, C. E., Rusz, C. M., Tero-Vescan, A., & Pușcaș, A. (2023). Cannabidiol: bridge between antioxidant effect, cellular protection, and cognitive and physical performance. *Antioxidants*, 12(2), 485.
20. Speakman, J. R. (2019). Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. *International journal of obesity*, 43(8), 1491-1492.
21. Hariri, N., & Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews*, 23(2), 270-299.
22. Cheng ChaoHua, C. C., Zang GongGu, Z. G., Zhao LiNing, Z. L., Gao ChunSheng, G. C., Tang Qing, T. Q., Chen JianHua, C. J., ... & Su JianGuang, S. J. (2016). A rapid shoot regeneration protocol from the cotyledons of hemp (*Cannabis sativa* L.).
23. Kamali Sarvestani, A., Hosseini, S. E., Mehrabani, D., & Hashemi, S. A. (2022). Investigation of the effects of cannabis (hashish) on the expression levels of Bax and Bcl-2 genes in adipose tissue cells of adult male rats. *Alborz University Medical Journal*, 11(3), 325-338. <http://dx.doi.org/10.29252/aums.11.3.7>
24. Navarro-Yepes, J., Zavala-Flores, L., Anandhan, A., Wang, F., Skotak, M., Chandra, N., ... & Franco, R. (2014). Antioxidant gene therapy against neuronal cell death. *Pharmacology & therapeutics*, 142(2), 206-230.
25. Brahma, M. K., Gilglioni, E. H., Zhou, L., Trépo, E., Chen, P., & Gurzov, E. N. (2021). Oxidative stress in obesity-associated hepatocellular carcinoma: sources, signaling and therapeutic challenges. *Oncogene*, 40(33), 5155-5167.

26. El-Serag, H. B., & Kanwal, F. (2014). Obesity and hepatocellular carcinoma: hype and reality. *Hepatology*, 60(3), 779-781.
27. Wunderlich, C. M., Hövelmeyer, N., & Wunderlich, F. T. (2013). Mechanisms of chronic JAK-STAT3-SOCS3 signaling in obesity. *Jak-stat*, 2(2), e23878.
28. Albrahim, T., & Alonazi, M. A. (2021). Lycopene corrects metabolic syndrome and liver injury induced by high fat diet in obese rats through antioxidant, anti-inflammatory, antifibrotic pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 141, 111831.
29. Świdarska, M., Maciejczyk, M., Zalewska, A., Pogorzelska, J., Flisiak, R., & Chabowski, A. (2019). Oxidative stress biomarkers in the serum and plasma of patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Can plasma AGE be a marker of NAFLD? Oxidative stress biomarkers in NAFLD patients. *Free radical research*, 53(8), 841-850.
30. Li, Y., et al., Mendelian Randomization Analysis of the Association of SOCS3 Methylation with Abdominal Obesity. *Nutrients*, 2022. 14(18): p. 3824.
31. Emami, S. R., Jafari, M., Haghshenas, R., & Ravasi, A. (2023). Ameliorative effect of sixteen weeks endurance training on biochemical and oxidative damage in high fat diet induced obese rats. *Indian Journal of Experimental Biology (IJEB)*, 61(02), 107-115.
32. Susantiningsih, T., Perdani, R. R. W., Berawi, K., & Hadi, S. (2018). The effect of treadmill treatment on oxidative stress markers and endogenous antioxidant status in obesity mice. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(10), 1803.
33. Marinho, R., Munõz, V. R., Pauli, L. S., Ropelle, E. C., de Moura, L. P., Moraes, J. C., ... & Pauli, J. R. (2019). Endurance training prevents inflammation and apoptosis in hypothalamic neurons of obese mice. *Journal of cellular physiology*, 234(1), 880-890.
34. Hussein, S., Soliman, N. A., Dahmy, S. I. E., Khamis, T., Sameh, R., & Mostafa, F. M. (2024). Effectiveness of cannabidiol (CBD) on histopathological changes and gene expression in hepatocellular carcinoma (HCC) model in male rats: the role of Hedgehog (Hh) signaling pathway. *Histochemistry and Cell Biology*, 161(4), 337-343.
35. Tajik, T., Baghaei, K., Moghadam, V. E., Farrokhi, N., & Salami, S. A. (2022). Extracellular vesicles of cannabis with high CBD content induce anticancer signaling in human hepatocellular carcinoma. *Biomed. Pharmacother*, 152(113209), 10-1016.
36. Ze Fu, Peng-Yue Zhao, Xing-Peng Yang, Hao Li, Shi-Dong Hu, Ying-Xin Xu, Xiao-Hui Du. Cannabidiol regulates apoptosis and autophagy in inflammation and cancer: A review. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1094020. doi: 10.3389/fphar.2023.1094020.