Original Article

The effect of a high-intensity interval training with *Portulaca oleracea* supplementation on Irisin and TLR4 in the liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease

Farahnia M[1], Hosseinabadi MR[1*], Zarei M[2], Soltani M[3]

1- Department of Physical Education, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, I.R. Iran.
2- Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Literature and Humanities, University of Neyshabur, Neyshabur, I.R. Iran.
3- Department of Physical Education, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. Iran.

Received: 2023/05/15 | Accepted: 2023/07/2

Abstract:

Background: Lifestyle modification through dietary interventions and exercise training is still one of the most effective ways to treat non-alcoholic fatty liver disease. The aim of this study was to investigate the effect of a high-intensity interval training along with *Portulaca oleracea* supplementation on Irisin and TLR4 in the liver tissues of rats with non-alcoholic fatty liver disease.

Materials and Methods: In this experimental study, 30 male Wistar rats were divided into two groups: non-alcoholic fatty liver disease (n=25) and healthy control (n=5). Non-alcoholic fatty liver was induced by 12 weeks of high-fat diet. After confirming non-alcoholic fatty liver disease, rats (n=20) were assigned into four subgroups; non-alcoholic fatty liver control group (n=5), *Portulaca oleracea* supplement group (n=5), training group (n=5) and training group + *Portulaca oleracea* supplement (n=5). *Portulaca oleracea* supplement was given daily and a high-intensity interval training was presented for 8 weeks, 5 sessions per week. The amounts of Irisin and TLR4 in liver tissue were measured using the sandwich ELISA method.

Results: Irisin levels were significantly higher in the training+*Portulaca oleracea* supplement group compared to the fatty liver control group (P=0.001), the interval training group (P=0.018) and *Portulaca oleracea* supplement group (P=0.033). The TLR4 levels in the training+*Portulaca oleracea* supplement group (P=0.007) and the high intensity interval training group (P=0.045) were significantly lower than the fatty liver control group.

Conclusion: High-intensity interval training along with *Portulaca oleracea* supplementation leads to increases in Irisin release and decreases in the TLR4 levels in the liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease, which may be effective in improving non-alcoholic fatty liver disease.

Keywords: High-intensity interval training, *Portulaca oleracea*, Non-alcoholic fatty liver disease, Irisin, TLR4

***Corresponding Author**
Email: mrhoseinabadi@gmail.com
Tel: 0098 514 262 1902
Fax: 0098 514 262 1905

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2023; Vol. 27, No 3, Pages 244-253

Please cite this article as: Farahnia M, Hosseinabadi MR, Zarei M, Soltani M. The effect of high intensity interval training with Portulaca Oleracea supplementation on Irisin and TLR4 in the liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease. ***Feyz*** 2023; 27(3): 244-53.

تاثیر تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل خرفه بر آیریزین و TLR4 بافت کبد رت‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی

مجید فرح نیا[۱]، محمدرضا حسین آبادی[۱*]، مهدی زارعی[۲]، محمود سلطانی[۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: اصلاح سبک زندگی از طریق مداخلات رژیم غذایی و تمرین ورزشی همچنان یکی از مؤثرترین راه‌های درمان کبد چرب غیرالکلی است. هدف از تحقیق حاضر تعیین تاثیر تمرین تناوبی شدید همراه با مکمل خرفه بر آیریزین و TLR4 بافت کبد رت های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ موش‌صحرایی نژاد ویستار نر با دامنه وزنی ۱۸۵-۱۶۰ گرم به دو گروه اصلی کبدچرب غیرالکلی (n=۲۵) و کنترل سالم (n=۵) تقسیم شدند. کبد چرب غیر الکلی با ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب القاء شد. پس از تایید ابتلا به کبد چرب غیر الکلی (n=۵) رت‌های مبتلا (n=۲۰) به چهار زیرگروه کنترل کبد چرب (n=۵)، گروه مکمل خرفه (n=۵)، گروه تمرین (n=۵) و گروه تمرین+مکمل خرفه (n=۵) تقسیم شدند. مکمل خرفه به صورت روزانه و تمرین تناوبی شدید به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته در گروه‌های مربوطه اعمال شد. مقادیر آیریزین و TLR4 بافت کبد به روش الایزای ساندویچی اندازه‌گیری شد.

نتایج: مقادیر آیریزین در گروه تمرین + مکمل خرفه در مقایسه با گروه کنترل کبد چرب (P=۰/۰۰۱)، گروه تمرین تناوبی (P=۰/۰۱۸) و گروه مکمل خرفه (P=۰/۰۳۳) به‌طور معناداری بالاتر بود. مقادیر TLR4 در گروه تمرین + مکمل خرفه (P=۰/۰۰۷) و گروه تمرین تناوبی (P=۰/۰۴۵) نسبت به گروه کنترل کبد چرب به‌طور معناداری پایین‌تر بود.

نتیجه‌گیری: تمرین تناوبی شدید به‌همراه مصرف مکمل خرفه منجر به افزایش آیریزین و کاهش TLR4 بافت کبد رت‌های صحرایی مبتلا به کبدچرب غیرالکلی می‌گردد که ممکن است در بهبود کبدچرب غیرالکلی موثر باشد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، خرفه، بیماری کبد چرب غیر الکلی، آیریزین، TLR4

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و هفتم، شماره ۳، مرداد-شهریور ۱۴۰۲، صفحات ۲۵۳-۲۴۴

مقدمه

بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease) در حال حاضر شایع‌ترین بیماری مزمن کبد در سراسر جهان است [۱]. بر اساس یک مرور سیستماتیک و متاآنالیز، شیوع جهانی NAFLD از ۲۵/۳ درصد در سال‌های ۱۹۹۰-۲۰۰۶ به ۳۸ درصد در سال‌های ۲۰۱۶-۲۰۱۹ افزایش یافته است [۲]. این بیماری با رسوب چربی در سلول‌های کبدی که با التهاب همراه است، مشخص می‌شود، که می‌تواند به فیبروز پیشرفته، سیروز و سرطان کبد گسترش یابد [۳]. التهاب مزمن یکی عوامل اصلی و نشانه پیشرفت NAFLD است که با فعال شدن سلول‌های کبدی ساکن، جذب سلول‌های التهابی در گردش، و تنظیم مثبت چندین واسطه التهابی محلول مشخص می‌شود [۴].

۱. گروه تربیت بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

۲. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه نیشابور، نیشابور، ایران

۳. گروه تربیت بدنی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

*** نشانی نویسنده مسؤول:**

گروه تربیت بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور

تلفن: ۰۵۱۴۲۶۲۱۹۰۱ **دورنویس:** ۰۵۱۴۲۶۲۱۹۰۵

پست الکترونیک: mrhoseinabadi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۲۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۲/۴/۱۱

تعداد فزاینده‌ای از شواهد نشان می‌دهد که گیرنده‌های شبه تول (TLRs:Toll-like receptors)، به‌ویژه TLR4، نقش کلیدی در پاتوژنز بیماری‌های التهابی مزمن کبد دارند. TLR4 گیرنده اصلی اندوتوکسین است که یک واسطه مرکزی التهاب کبد مرتبط با بیماری کبدی غیر الکلی است [۵]. مطالعات حیوانی نشان می‌دهد که سیگنال‌دهی TLR4 باعث پیشرفت و تشدید NAFLD می‌شود [۶]. به نظر می‌رسد که کبد هدف اصلی لیپوپلی‌ساکارید (LPS: Lipopolysaccharide) بوده و LPS-TLR4 یک مسیر کلیدی برای پیشرفت NAFLD باشد [۶].

آیریزین یک میوکین است که با تحریک قهوه‌ای بافت چربی سفید منجر به افزایش مصرف انرژی می‌شود و اخیراً نقش‌های آن مورد توجه محققان قرار گرفته است. هورمون آیریزین توسط چندین بافت از جمله عضله اسکلتی، عضله قلب، بافت چربی، مغز، غدد زیرجلدی، معده، طحال، بیضه و بافت کبد ترشح می‌شود [۷]. در این میان، بافت کبد، تنظیم‌کننده بزرگ جریان متابولیکی در بدن است. این ظرفیت برای برداشت، به ویژه برداشت چربی‌ها، ممکن است برای شروع کبد چرب، از اهمیت کلیدی برخوردار باشد [۸، ۹]. آیریزین نقش مهمی در بروز و توسعه NAFLD ایفا می‌کند،

اما مکانیسم آن هنوز به طور کامل مشخص نشده است. اخیراً گزارش شده که سطح سرمی آیریزین با محتوای تری‌گلیسیرید کبدی ارتباط دارد که نشان دهنده نقش مهم کبدی آن است. همبستگی بین آیریزین و NAFLD در سال‌های اخیر به یک کانون تحقیقاتی جدید تبدیل شده است [۱۰]. پیشنهاد گردیده که آیریزین، فعال شدن التهابی ماکروفاژهای تحریک شده توسط LPS را کاهش می‌دهد و اثرات قابل توجهی بر فعال شدن مسیر پایین دست گیرنده TLR4 و رهاسازی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی دارد، با این حال هنوز به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است [۱۱]. اگرچه اثرات آسیب‌شناسی NAFLD به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است، اما مکانیسم‌های سلولی و مولکولی دقیق این بیماری به خوبی درک نشده است. مطالعات نشان می‌دهند که رویکردهای درمانی NAFLD بر اصلاح سبک زندگی به ویژه کاهش کالری دریافتی و مداخلات ورزشی متمرکز شده‌اند [۳].

تمرینات اینتروال با شدت بالا (HIIT: High-intensity interval training) نوعی خاص از تمرینات ورزشی پر شدت هستند، که شامل دوره‌های کوتاه و متناوب فعالیت شدید و به دنبال آن دوره‌های استراحت مکرر یا ورزش با شدت پایین است [۱۲]. انتظار می‌رود ورزش‌های پرشدت مانند HIIT در بهبود NAFLD موثر باشند. با وجود اینکه چند کارازمایی بالینی معدود تاثیر تمرین HIIT در بیماران NAFLD را مورد بررسی قرار داده‌اند [۱۳, ۱۴] با این حال Xiong و همکاران (۲۰۲۱) در یک مطالعه فراتحلیل بیان داشتند که اثرات درمانی HIIT بر NAFLD باید توسط مطالعات بیشتری مورد بررسی قرار گیرد [۱۵].

خرفه گیاهی با خواص دارویی است که حاوی میزان بالایی عناصر معدنی و ترکیبات فنولی است که به واسطه درصد بالای ویتامین E و C و بتاکاروتن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد [۱۶-۱۸]. عصاره خرفه علاوه بر کاهش بیان آنزیم‌های محدودکننده سرعت سنتز اسیدچرب در کبد و اسیدچرب سنتتاز، به واسطه دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند پراکسیداسیون لیپید را مهار کند. همچنین عصاره خرفه دارای خاصیت هیپولیپیدمیک بوده و حاوی مقادیر زیادی آلکالوئیدهای فنولیک است که با افزایش اسیدهای چرب غیراشباع، سنتز کلسترول را مهار می‌کند [۱۹, ۲۰].

با توجه به عوامل بیماری‌زایی NAFLD، و فواید HIIT و اثرات مکمل خرفه در بهبود شدت این بیماری، به نظر می‌رسد ترکیب این دو به واسطه هم افزاییِ احتمالی اثرات آنها، به عنوان یک استراتژی جدید درمانی برای بیماران مبتلا به NAFLD در نظر گرفته شود. بنابراین به منظور درک و شناخت بهتر مسیرهای متابولیک درگیر در رژیم غذایی پرچرب و مداخله مصرف مکمل خرفه و تمرینات تناوبی، هدف از مطالعه حاضر تعیین تاثیر تمرینات تناوبی شدید همراه با مکمل خرفه بر آیریزین و TLR4 بافت کبد رت‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بود.

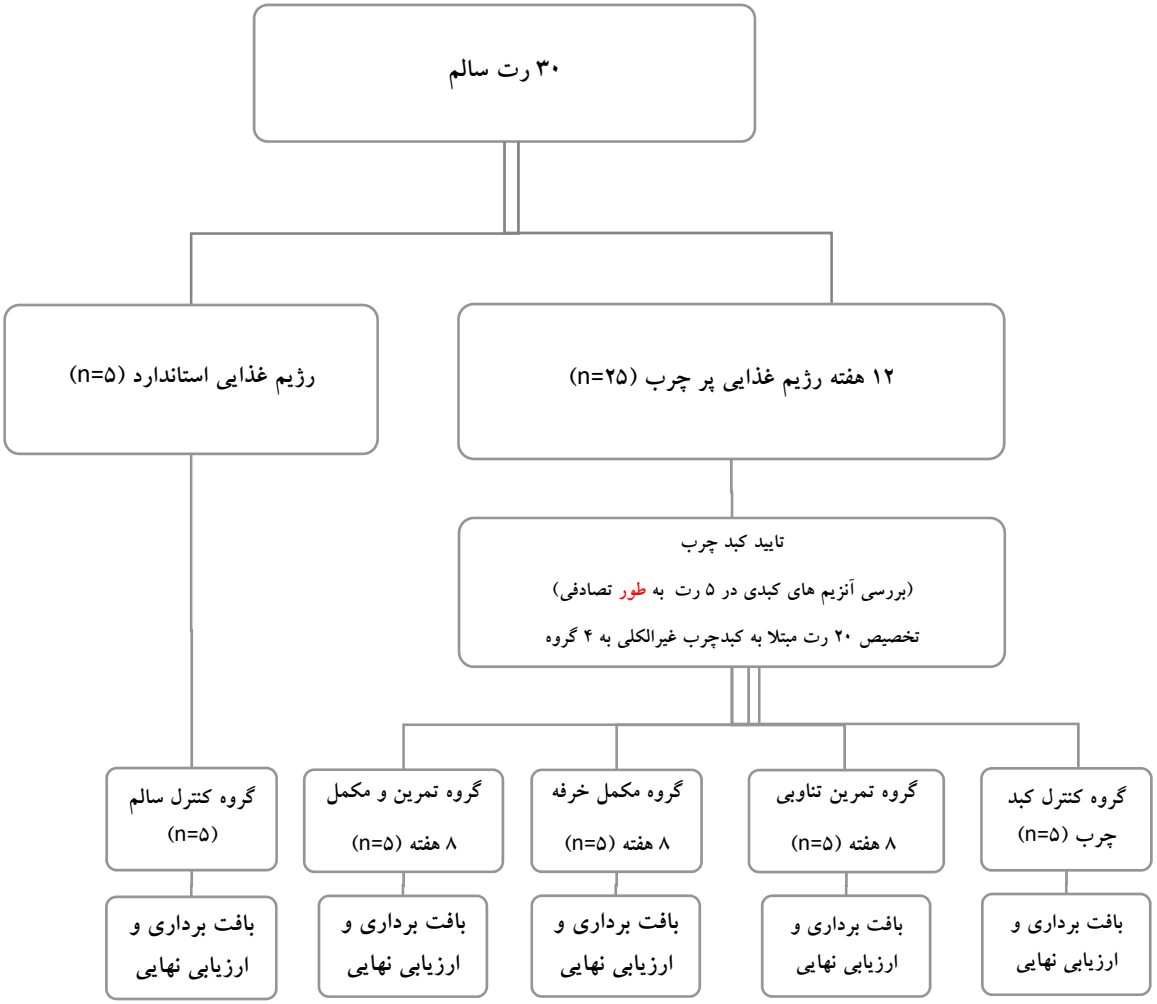
مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع پژوهش‌های تجربی با طرح پس آزمون شامل دو گروه کنترل (کنترل سالم و کنترل کبد چرب) و سه گروه تجربی، در سال ۱۴۰۱ انجام شد.

در این مطالعه ۳۰ سر رت صحرایی نر بالغ نژاد ویستار از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی با دامنه وزنی ۱۸۵-۱۶۰ گرم و سن ۶ هفته خریداری و نگهداری شدند. رت‌ها در شرایط استاندارد (دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه ۱۲ ساعته روشنایی- تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذا و بر اساس دستورالعمل نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی و سازگاری با محیط جدید، ۵ رت به عنوان گروه "کنترل رژیم غذایی استاندارد" برای بررسی تغییرات وزن در طول دوره پژوهش انتخاب شدند. ۲۵ رت دیگر، با هدف ابتلا به NAFLD به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (رژیم غذایی شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین) قرار گرفتند [۲۱]. جهت تأیید NAFLD تعداد ۵ رت به صورت تصادفی انتخاب و بیهوش شدند. نمونه خون از قلب برای ارزیابی آنزیم‌های کبدی جمع آوری شد و بافت کبد برای انجام بافت‌شناسی و تأیید نهایی استخراج گردید. پس از ۱۲ هفته، رت‌های مبتلا به NAFLD باقی‌مانده (۲۰ رت) به‌طور تصادفی به ۴ گروه «کنترل کبد چرب»، «تمرین»، «تمرین + مکمل» و «مکمل» (هر گروه ۵ رت) تقسیم شدند [۲۲, ۲۳] (شکل ۱). گروه کنترل کبد چرب و سه گروه تجربی تا انتهای پژوهش، با رژیم غذایی پرچرب، تغذیه شدند.

رت‌ها در گروه تمرین برای یک هفته (۵ جلسه) به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه و با سرعت ۱۰-۶ متر بر دقیقه به منظور آشنایی با دویدن روی نوار گردان به تمرین پرداختند. برای تعیین دقیق شدت تمرین، آزمون حداکثر سرعت دویدن با استفاده از نوار گردان به روش غیرمستقیم انجام شد. در این روش، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، آزمون دویدن رت شروع و سرعت نوار گردان هر ۲ دقیقه یک‌بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه افزایش یافت، تا زمانی که رت‌ها دیگر قادر به ادامه دویدن نباشند. این سرعت حداکثر به عنوان سرعت بیشینه در نظر گرفته شد. ارتباط بالایی بین حداکثر اکسیژن مصرفی و سرعت دویدن روی نوار گردان در رت‌ها وجود دارد ($P<0/05$، r=۰/۹۴-۰/۹۸)، ازاین‌رو می‌توان با توجه به

سرعت دویدن میزان حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌های صحرایی نر را برآورد کرد [۲۴، ۲۵]. با توجه به ارتباط بالای سرعت دویدن بیشینه روی نوار گردان و حداکثر اکسیژن مصرفی در رت‌ها، برنامه تمرینی بر اساس شدتی از سرعت بیشینه رت‌ها اجرا شد. برنامه تمرینی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته با ۲ روز استراحت در وسط و آخر هفته اجرا شد. برنامه تمرینی HIIT با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه معادل ۷ تلاش یک دقیقه‌ای و سرعت ۳۰ متر در دقیقه و استراحت فعال بین فعالیت‌ها با سرعت ۱۵ متر در دقیقه در هفته اول انجام شد. به تدریج با افزایش ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم، ۸۵ درصد سرعت بیشینه در هفته سوم، ۹۰ درصد سرعت بیشینه در هفته چهارم ادامه و تا پایان هفته هشتم انجام شد (جدول ۱). گرم کردن به مدت سه دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه و ۲ دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه و سرد کردن به مدت یک دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه و ۲ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه به ترتیب ابتدا و انتهای تمرین انجام شد.



شکل ۱-طرح تحقیق و گروه بندی رت‌ها

جدول ۱- برنامه تمرین تناوبی شدید

		هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
تناوب شدید	تعداد تناوب	۷	۸	۸	۹	۹	۹	۹	۹
	مدت زمان تناوب (دقیقه)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
	سرعت (متر بر دقیقه)	۳۰	۳۲	۳۴	۳۸	۳۸	۳۸	۳۸	۳۸
استراحت فعال بین تناوب‌ها	مدت زمان (دقیقه)	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
	سرعت(متر بر دقیقه)	۱۵	۱۷	۱۹	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱

خرفه، از منطقه رویش آن در خراسان رضوی جمع‌آوری شد. بخش‌های هوایی گیاه، پس از تأیید کارشناس گیاه‌شناسی، با آب شستشو داده و سپس خشک شد. مصرف مکمل خرفه روزانه ۴۰۰ میلی‌گرم پودر خشک شده خرفه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در نظر گرفته شد. پودر خشک شده خرفه در یک ارلن تمیز با ۵ برابر وزنی آب مقطر به خوبی مخلوط و پس از بستن درب ظرف به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد. سپس مخلوط همگن شده صاف و تفاله‌ها و اضافات از آن جدا شد. مایع همگن حاصل در حمام آب گرم رطوبت‌گیری شد. پودر حل شده خرفه به صورت روزانه به دو گروه مکمل خرفه و گروه تمرین + مکمل خرفه، به صورت گاواژ (تغذیه و وارد کردن مایعات غذایی از راه لوله به معده) خورانده شد [۲۶]. تمامی رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و به طور ناشتا شبانه، با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) با نسبت ۳ به ۱ بیهوش شدند. پس از تأیید بیهوشی در قسمت پوست ناحیه شکم به سمت قفسه سینه حیوان شکاف ایجاد شد و با ظاهر شدن بافت کبد، بافت برداری انجام گرفت. بافت بلافاصله با آب مقطر شستشو و در محلول سالین قرار داده شد. نمونه‌ها داخل میکروتیوپ قرار داده شد و به سرعت در نیتروژن مایع، منجمد و تا زمان انجام سنجش‌ها، به فریزر با دمای ۸۰ -درجه سانتیگراد منتقل گردید.

مقادیر TLR4 بافت کبد به روش الایزای ساندویچی و با استفاده از کیت شرکت MyBioSource آمریکا با حساسیت عملکردی ۰/۰۶ نانوگرم بر میلی‌لیتر، ضریب تغییرات درون سنجی ۱۰> درصد و ضریب تغییرات میان سنجی ۱۲> درصد اندازه گیری شد. مقادیر آیریزین بافت کبد به روش الایزای ساندویچی و با استفاده از کیت شرکت LSBio آمریکا با حساسیت عملکردی ۳۷/۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، ضریب تغییرات درون سنجی ۵/۲۶> درصد و ضریب تغییرات میان سنجی ۵،۱۳> درصد اندازه گیری شد.

ملاحظات اخلاقی

همه مراحل پژوهش با توجه به دستورالعمل کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی و با کد IR.IAU.NEYSHABUR.REC.1401.014 انجام شد.

محاسبات آماری

به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها، به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به منظور مقایسه گروه‌ها به صورت دو به دو از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. شاخص تعیین اندازه اثر Cohen برای مقایسه میزان تاثیر هر یک از متغیرهای مستقل استفاده شد. سطح معناداری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت.

نتایج

گزارش بررسی نرمال بودن داده‌ها در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- نتایج نرمال بودن داده‌ها

	آزمون شاپیرو- ویلک			
	آیریزین		TLR4	
گروه	درجه آزادی	P	درجه آزادی	P
کنترل سالم	۵	۰/۵۷۲	۵	۰/۳۴۵
کنترل کبد چرب	۵	۰/۵۸۱	۵	۰/۳۰۰
مکمل خرفه	۵	۰/۹۳۰	۵	۰/۵۷۶
تمرین تناوبی	۵	۰/۲۸۵	۵	۰/۱۸۰
تمرین تناوبی+ مکمل خرفه	۵	۰/۷۲۹	۵	۰/۵۷۱

تاثیر تمرین تناوبی و مکمل خرفه بر وزن بدن

نتایج نشان داد پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پر چرب بین گروه‌ها تفاوت معناداری از چه نظر؟؟ وجود دارد (P=۰/۰۰۸)، وزن رت‌های گروه کنترل کبد چرب (P=۰/۰۱۲) و گروه مکمل خرفه (P=۰/۰۰۹) نسبت به گروه کنترل سالم به طور معناداری بالاتر بود. در انتهای مطالعه و پس از مداخله، وزن گروه کنترل کبد چرب نسبت به سه گروه سالم (P=۰/۰۲۶)، گروه تمرین تناوبی (P=۰/۰۰۴) و گروه تمرین + مکل خرفه (P=۰/۰۳۰) به‌طور معناداری بالاتر بود (جدول ۳).

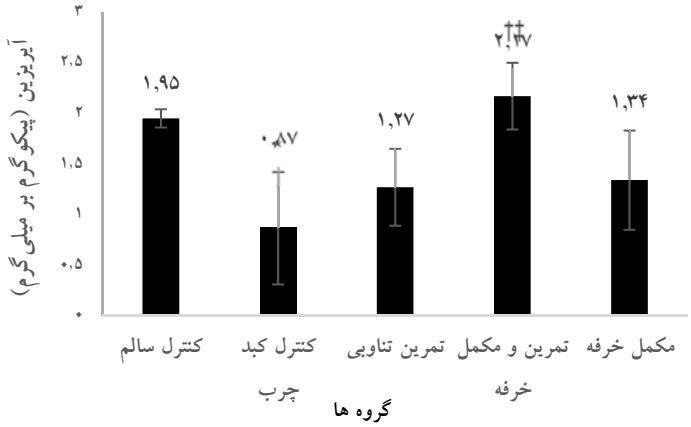
جدول ۳- وزن (گرم) آزمودنی‌ها در پیش آزمون و پس آزمون گروه‌های تحقیق

گروه‌ها	مرحله		
	پیش آزمون	هفته دوازدهم (پس از القاء کبد چرب غیرالکلی)	پس آزمون (پس از ۸ هفته مداخله تمرین تناوبی و مکمل)
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 تناوبی	۲۰۹/۳۸±۵/۷۶	۲۵۷/۲۰±۱۰/۰۵	۲۶۸/۳۲±۱۷/۴۱†
مکمل خرفه	۲۰۹/۵۸±۶/۶۴	۲۶۶/۴۰±۱۵/۱۸#	۲۸۴/۱۶±۱۴/۲۲
تمرین و مکمل خرفه	۲۰۸/۵۴±۴/۲۹	۲۵۹/۳۶±۱۳/۹۳	۲۷۷/۴۸±۱۲/۲۴†
مقادیر P	۰/۸۸۹	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۶*

* تفاوت معنی دار بین گروه‌های تحقیق P<۰/۰۵. #تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم P<۰/۰۵. †تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل کبد چرب P<۰/۰۵

تاثیر تمرین تناوبی و مکمل خرفه بر آیریزین کبدی

بین مقادیر آیریزین کبدی گروه‌های مطالعه پس از ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه تفاوت معناداری ثبت شد (P=۰). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که مقادیر آیریزین در گروه کنترل کبد چرب نسبت به گروه کنترل سالم به طور معناداری پایین‌تر بود (P=۰/۰۰۴، اندازه اثر= ۰/۸۰). همچنین نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که مقادیر آیریزین در گروه تمرین + مکمل خرفه نسبت به گروه کنترل کبد چرب به طور معناداری بالاتر بود (P=۰/۰۰۱، اندازه اثر= ۰/۸۱). مقادیر آیریزین کبدی در گروه تمرین + مکمل خرفه در مقایسه با گروه تمرین (P=۰/۰۱۸، اندازه اثر= ۰/۷۸) و گروه مکمل خرفه (P=۰/۰۳۳، اندازه اثر= ۰/۷۰) به طور معناداری بالاتر بود. با وجود بالاتر بودن آیریزین در گروه تمرین تناوبی و گروه مکمل خرفه نسبت به گروه کنترل کبد چرب، تفاوت معناداری در مقادیر آیریزین در گروه تمرین تناوبی (P=۰/۵۵۵، اندازه اثر= ۰/۳۸) و گروه‌های مکمل خرفه (P=۰/۳۹۲، اندازه اثر= ۰/۴۰) در مقایسه با گروه کنترل کبد چرب مشاهده نشد (نمودار ۱).

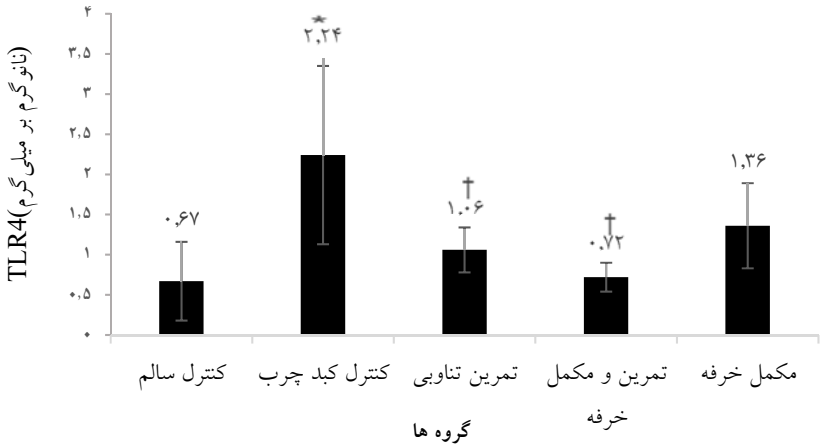


نمودار ۱- مقایسه مقادیر آیریزین بافت کبد در گروه‌های تحقیق

*** تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم (P<۰/۰۵). † تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل کبد چرب (P<۰/۰۵). ‡ تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین تناوبی و گروه مکمل خرفه (P<۰/۰۵).**

تاثیر تمرین تناوبی و مکمل خرفه بر TLR4 کبدی

نتایج نشان داد بین مقادیر TLR4 گروه‌های مطالعه پس از ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه تفاوت معناداری وجود دارد (P=۰/۰۰۴، اندازه اثر= ۰/۶۷). مقادیر TLR4 در گروه کنترل کبد چرب نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور معناداری بالاتر بود (P=۰/۰۰۵). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که مقادیر TLR4 در گروه تمرین + مکمل خرفه (P=۰/۰۰۷، اندازه اثر= ۰/۶۹) و گروه تمرین تناوبی (P=۰/۰۴۵، اندازه اثر= ۰/۵۸) نسبت به گروه کنترل کبد چرب به طور معناداری پایین‌تر بود. همچنین، مقادیر TLR4 بافت کبد در گروه مکمل خرفه نسبت به گروه کنترل کبد چرب پایین‌تر بود اما این تفاوت معنادار نبود (P=۰/۲۰۱، اندازه اثر= ۰/۴۵) (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه مقادیر TLR4 بافت کبد در گروه‌های تحقیق

* تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل سالم (P<۰/۰۵). † تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل کبد چرب (P<۰/۰۵).

بحث

هدف از تحقیق حاضر تعیین تأثیر تمرینات تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل خرفه بر مقادیر آیریزین و TLR4 بافت کبد رت‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بود. در مطالعه حاضر، پس از القاء کبد چرب در رت‌ها، مقادیر آیریزین کبدی در رت‌های مبتلا به NAFLD نسبت به رت‌های کنترل سالم به طور معناداری کاهش یافت که با یافته‌های برخی مطالعات پیشین مشابه است [۲۷، ۲۸]. Lu و همکاران کاهش سطح آیریزین در رت‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پر چرب را در مقایسه با رت‌های سالم گزارش کردند [۲۸]. برخی مطالعات نشان داده‌اند که آیریزین ممکن است به عنوان یک نشانگر زیستی تشخیصی NAFLD استفاده شود زیرا با پارامترهای آنتروپومتریک و بیوشیمیایی مرتبط با عملکرد کبد مرتبط است [۲۹]. Kosmalski و همکاران به ارتباط بین غلظت آیریزین و پیشرفت NAFLD مربوط به افزایش محتوای چربی در کبد، شروع التهاب و روند فیبروز اشاره کردند. پیشنهاد شد که سطح این میوکین ممکن است نشان‌دهنده یک فنوتیپ تهاجمی بیماری کبدی باشد که با افزایش محتوای چربی داخل کبدی، فیبروژنز و آسیب شدید کبدی همراه است [۲۹]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد پس از یک دوره تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل خرفه، مقادیر آیریزین کبدی در گروه تمرین تناوبی + مکمل خرفه نسبت گروه کنترل کبد چرب، گروه تمرین تناوبی و گروه مکمل خرفه به طور معناداری افزایش یافت. با توجه به اندازه اثر ۰/۸۱ در این گروه، می‌توان بیان داشت که تمرین تناوبی همراه با مکمل خرفه تاثیر زیادی در بهبود این شاخص دارد که نشان از تاثیرات هم‌افزایی تمرین و مکمل خرفه است. مطالعات متعددی اثرات تمرینات ورزشی بر آیریزین را در رت‌های تحت رژیم غذایی پر چرب بررسی کرده‌اند که نتایج متفاوتی نیز گزارش شده است. برخی مطالعات یافته‌های متفاوتی با مطالعه حاضر نشان دادند، به طور مثال، Seo و همکاران اثر عصاره سیر و تمرین استقامتی بر FNDC-5 عضله اسکلتی و آیریزین در مدل‌های رت با رژیم غذایی پرچرب را بررسی کردند و عدم تغییر سطح آیریزین را گزارش نمودند [۳۰]. به نظر می‌رسد کوتاه بودن دوره مداخله (دوره رژیم غذایی پرچرب ۶ هفته‌ای و تمرینات ۴ هفته‌ای) و تفاوت در پروتکل و شدت برنامه تمرینی و مکمل مورد استفاده، از مهمترین دلایل تفاوت یافته‌های مطالعه Seo و همکاران با مطالعه حاضر باشد. در مطالعه حاضر طول دوره رژیم غذایی پر چرب ۱۲ هفته و دوره مداخله تمرینی ۸ هفته بود که دوبرابر مطالعه Seo و همکاران می‌باشد. همچنین نوع برنامه تمرینی در مطالعه حاضر از نوع تمرینات تناوبی شدید و در مطالعه فوق تمرینات هوازی با شدت متوسط بود [۲۹]. با این حال، Lu و همکاران افزایش معنادار سطح آیریزین سرمی در رت‌های تغذیه شده با رژیم

غذایی پر چرب را پس از ۸ هفته تمرین هوازی گزارش کردند [۲۸]. عبدی و همکاران نیز افزایش بیان ژن آیریزین بافت چربی را پس از یک دوره تمرین مقاومتی در رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ گزارش کردند [۳۱]. در همین راستا، حسین‌زاده و همکاران افزایش معنادار آیریزین بافت کبد را پس از ۸ هفته تمرین استقامتی و مقاومتی در رت‌های صحرایی گزارش کردند [۳۲]. به نظر می‌رسد طول دوره تمرینی مطالعاتی که افزایش معنادار آیریزین را گزارش کردند حداقل ۸ هفته است [۲۸، ۳۱، ۳۲]. تاکنون مطالعه‌ای اثر تمرینات ورزشی به ویژه تمرینات تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل خرفه را بر آیریزین کبدی در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بررسی نکرده است.

در مطالعه حاضر، مقادیر TLR4 در گروه تمرین + مکمل خرفه و گروه تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل کبد چرب به طور معناداری پایین‌تر بود. با توجه به اندازه اثر گزارش شده می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب تمرینات تناوبی شدید و مکمل خرفه تاثیر بیشتری نسبت به تمرینات تناوبی و مکمل خرفه تنها دارد. شیروانی و همکاران به بررسی اثرات ۸ هفته تمرین شنا بر پروفایل لیپیدی و TLR4 بافت عضله رت‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب پرداختند و افزایش TLR4 در رت‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پر چرب را گزارش کردند که مشابه با مطالعه حاضر است که با افزایش وزن رت‌ها نیز همراه بود. در این مطالعه پس از تمرین شنا سطح TLR4 در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود [۳۳]. صیاد و همکاران عدم تغییر TLR4 کبدی را پس ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در رت‌های صحرایی نر مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی با رژیم غذایی پرچرب گزارش کردند. با این حال میزان TLR4 در گروه سالم تمرین کرده نسبت به گروه بیمار غیرفعال به طور معناداری پایین‌تر بود [۳۴]. صیاد و همکاران از جمله دلایل تفاوت یافته‌های خود با سایر مطالعات را، به تفاوت نوع بیماری، در دسترس بودن دائم رژیم غذایی پر چرب در کل دوره، تفاوت در مدت زمان دوره تمرینی، متغیرهای تمرینی و مدل تمرین نسبت دادند [۳۳]. مزینانی و همکاران نیز پیشنهاد کردند که تمرینات HIIT در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی به کاهش معنادار TLR4 بافت روده منجر می‌گردد [۳۵].

همانطور که اشاره شد اکثر مطالعات صرفاً اثر تمرینات ورزشی را بر TLR4 بررسی کرده‌اند. در مطالعه حاضر در گروه تمرین HIIT، TLR4 به طور معناداری پایین‌تر بود اما این کاهش در گروه مکمل و TLR4 نسبت به سایر گروه‌های بیمار شدیدتر گزارش شد. به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی از طریق سایتوکاین‌های ضدالتهابی، پروتئین‌های شوک گرمایی و گلوکوکورتیکوئید بتواند TLR4 را مهار کند [۳۶]. علاوه بر این به نظر می‌رسد یکی از عوامل کاهش TLR4 کبد، افزایش آیریزین باشد. به تازگی گزارش شده که آیریزین با سرکوب مسیر TLR4 [۳۷، ۳۸]، خواص ضد التهابی را اعمال می‌کند، که آیریزین را محتمل‌ترین عامل تمرینات ورزشی برای کاهش التهاب کبد معرفی می‌کند [۱۱]. مسیر MD2-TLR4 مسیرهای MAPK و NF-kB وابسته به MyD88 را برای القای سیتوکین‌های پیش‌التهابی فعال می‌کند، و به عنوان یکی از مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک حیاتی NAFLD در نظر گرفته شده است [۱۱، ۳۹]. Zhu و همکاران گزارش کردند که تمرینات ورزشی با ایجاد اختلال در مسیر MD2-TLR4، فعالیت مسیر TLR4 را کاهش می‌دهد. بنابراین، تنظیم پاسخ التهابی در NAFLD با تمرینات ورزشی حداقل تا حدی توسط آیریزین که مسیر MD2-TLR4 را مسدود می‌کند، میانجی گیری می‌شود [۱۱].

مطالعه حاضر نشان داد مصرف همزمان مکمل خرفه و تمرینات تناوبی شدید نسبت به هریک از تمرینات تناوبی شدید و مصرف مکمل خرفه به تنهایی، ممکن است مزیت‌های بیشتری را برای بیماران NAFLD به همراه داشته باشد. مکانیسم‌های دقیق اثرگذاری مکمل خرفه و هم افزایی آن با تمرینات ورزشی در بهبود NAFLD هنوز مشخص نشده و به مطالعات بیشتری نیاز است. عصاره خرفه دارای اثرات ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی فراوانی بوده و به عنوان یک درمان کمکی ممکن است التهاب و استرس اکسیداتیو را در بیماران NAFLD بهبود بخشد، با این حال، تاثیر خرفه بر استرس اکسیداتیو و نشانگرهای التهابی نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد [۴۰]. مطالعات نشان داده‌اند که TLR4 و میانجی‌های پایین دست آن در کبد، توسط LPS تنظیم می‌گردد. به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های کاهش TLR4، تاثیر مثبت عصاره خرفه بر بهبود آسیب اکسایشی و مهار LPS کبدی به واسطه سطوح بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در این گیاه باشد [۴۱]. همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که عصاره خرفه فعالیت آنزیم لیپاز پانکراس را مهار کرده و به واسطه فسفوریلاسیون AMPK، بیان PGC-1α را افزایش داده که در نهایت منجر به ترشح آیریزین می‌گردد [۴۲]. از این رو افزایش آیریزین بافت کبد و به دنبال آن کاهش TLR4 بافت کبد در رت‌های مبتلا به NAFLD در اثر تمرینات HIIT و مصرف مکل خرفه درو از انتظار نیست.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به تعداد کم نمونه‌ها در هر گروه و میزان دوز استفاده شده از مکمل خرفه اشاره کرد. این احتمال وجود دارد که اثرات عصاره خرفه در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی به مقدار دوز آن وابسته باشد [۱۹]، بنابراین تحقیقات بیشتر در این زمینه با مقادیر مختلف دوز مکمل خرفه و تعداد بیشتر نمونه‌ها می‌تواند به درک بهتر نتایج کمک نماید.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که تمرین تناوبی شدید به همراه مصرف مکمل خرفه منجر به افزایش آیریزین و کاهش TLR4 بافت کبد رت‌های صحرایی مبتلا به کبدچرب غیرالکلی می‌گردد. این تغییرات به نظر می‌رسد در بهبود شدت بیماری کبد چرب غیرالکلی موثر باشد. بنابراین با توجه به اثرات مفید فعالیت بدنی و ترکیبات مفید مکمل خرفه، انجام تمرینات HIIT به همراه مصرف این مکمل می‌تواند به‌عنوان درمان کمکی و جایگزین برای مبتلایان به این نوع بیماری مطرح شود. با این حال، انجام مطالعات بیشتر در خصوص تاثیر انواع مختلف تمرینات ورزشی و مکمل خرفه بر روی این شاخص‌ها و سایر شاخص‌های بیماری کبد چرب غیر الکلی ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه مستخرج از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور با کد ۱۶۲۶۵۹۳۵۹ - ۱۴۰۱/۱۱/۰۳ می‌باشد. این مطالعه بدون هیچ گونه کمک مالی و با هزینه شخصی نویسندگان انجام گرفته است.

References:

[1] Wong VW-S, Ekstedt M, Wong GL-H, Hagström H. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. ***J Hepatol*** 2023.
[2] Younossi Z, Golabi P, Paik J, Henry A, Van Dongen C, Henry L. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH): A systematic review. ***Hepatology*** 2023; 10.1097.
[3] Wang X, Jin X, Li H, Zhang X, Chen X, Lu K, et al. Effects of various interventions on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review and network meta-analysis. ***Frontiers Pharmacol*** 2023; 14: 849.
[4] Fontes-Cal TC, Mattos RT, Medeiros NI, Pinto BF, Belchior-Bezerra M, Roque-Souza B, et al. Crosstalk between plasma cytokines, inflammation, and liver damage as a new strategy to monitoring NAFLD progression. ***Frontiers Immunol*** 2021; 12: 708959.
[5] Soares J-B, Pimentel-Nunes P, Roncon-Albuquerque R, Leite-Moreira A. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases. ***Hepatol Int*** 2010; 4: 659-72.
[6] Miura K, Seki E, Ohnishi H, Brenner DA. Role of toll-like receptors and their downstream molecules in the development of nonalcoholic fatty liver disease. ***Gastroenterol Res Practice*** 2010; 2010.
[7] Perakakis N ,Triantafyllou GA, Fernández-Real JM, Huh JY, Park KH, Seufert J, et al. Physiology and role of irisin in glucose homeostasis. ***Nature Rev Endocrinol*** 2017; 13(6): 324-37.
[8] Askari H, Rajani SF, Poorebrahim M, Haghi-Aminjan H, Raeis-Abdollahi E, Abdollahi M. A glance at the therapeutic potential of irisin against diseases involving inflammation, oxidative stress, and apoptosis: an introductory review. ***Pharmacological Res*** 2018; 129: 44-55.
[9] Soliman N, Asalah A, Moursi S, Gamal S, Eldeen M. Effect of Exercise Training on Metabolic Homeostasis and Some Hemodynamics (Some Hepatic and Cardiovascular Functions) in Experimentally Induced Obesity. ***J Obesity Weight Loss Therapy*** 2018; 8: 2-13.
[10] Hu J, Ke Y, Wu F, Liu S, Ji C, Zhu X, et al. Circulating irisin levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. ***Gastroenterol Res Practice*** 2020;2020:1-9.
[11] Zhu W, Sahar NE, Javaid HMA, Pak ES, Liang G, Wang Y, et al. Exercise-induced irisin decreases inflammation and improves NAFLD by competitive binding with MD2. ***Cells*** 2021; 10(12): 3306.
[12] Hamasaki H. Perspectives on interval exercise interventions for non-alcoholic fatty liver disease. ***Medicines*** 2019; 6(3): 83.
[13] de Castro-de-Paiva P ,de Souza Marinho T, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. Intermittent fasting, high-intensity interval training, or a combination of both have beneficial effects in obese mice with nonalcoholic fatty liver disease. ***J Nutritional Biochemistry*** 2022; 104: 108997.
[14] Sabag A, Barr L, Armour M, Armstrong A, Baker CJ, Twigg SM, et al. The effect of high-intensity interval training vs moderate-intensity continuous training on liver fat: a systematic review and meta-analysis. ***J Clin Endocrinol Metab*** 2022; 107(3): 862-81.
[15] Xiong Y, Peng Q, Cao C, Xu Z, Zhang B. Effect of different exercise methods on non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis and meta-regression. ***Int J Environmental Res Public Health*** 2021; 18(6): 3242.
[16] Khorasani-Toroghi T, Yaghoubi A. Effect of High Intensity Interval Training and Portulaca Oleracea Supplement on Changes in Fetuin A Level and Insulin Resistance in Rats with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. ***J Mazandaran Univ Med Sci*** 2022; 32(212): 29-41.
[17] Kumar A, Sreedxaran S, Singx P, Ramchiary N. A review on bioactive phytochemicals, ethnomedicinal and pharmacological importance of Purslane (Portulaca olerecea L.). ***Res Square*** 202.١
[18] Kwon YR, Cho SM, Hwang SP, Kwon GM, Kim JW, Youn KS. Antioxidant, physiological activities, and acetylcholinesterase inhibitory activity of Portulaca oleracea extracts with different extraction methods. ***J Korean Society Food Sci Nutr*** 2014; 43(3): 389-96.
[19] Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Rasekh F, Ramazani M. The effects of Portulaca oleracea alcoholic extract on induced hypercholesteroleomia in rats. ***Zahedan J Res Med Sci*** 2013; 15(6).

[20] Sicari V, Loizzo MR, Tundis R, Mincione A, Pellicano TM. Portulaca oleracea L.(Purslane) extracts display antioxidant and hypoglycaemic effects. ***J Appl Bot Food Qual*** 2018; 91(1): 39-46.
[21] 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.
[22] Arifin WN, Zahiruddin WM. Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. The Malaysian journal of medical sciences: ***MJMS*** 2017; 24(5): 101.
[23] Eslami Z, Mohammadnajad PanahKandi Y, Sharifian S, Eghbal Moghanlou A, Sheikh SR, Mirghani SJ. Evaluation of the effect of aerobic exercise on UCP1 and MAPK p38 heat factor gene expression in subcutaneous adipose tissue in male Wistar rats fed a high-fat diet. ***Feyz*** 2021; 25(4): 1020-30. [in Persian]
[24] 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. ***J Appl Physiol*** 2011; 111(5): 1235-41.
[25] Kemi OJ, Loennechen JP, Wisløff U, Ellingsen Ø. Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. ***J Appl Physiol*** 2002; 93(4): 1301-9.
[26] 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 Res*** 2021; 35(6): 3145-56.
[27] Khan BH, Yaghmaei P, Parivar K, Habibi AE. Evaluating the effects of metformin on irisin and serum biochemical parameters in male sprague-dawley rats fed by a high-fat emulsion diet. 2022.
[28] Lu Y, Li H, Shen SW, Shen ZH, Xu M, Yang CJ, et al. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. ***Lipids Health Dis*** 2016; 15(1): 1-8.
[29] Kosmalski M, Drzewoski J, Szymczak-Pajor I, Zieleniak A, Mikołajczyk-Solińska M, Kasznicki J, et al. Irisin Is Related to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). ***Biomedicines*** 2022; 10(9): 2253.
[30] Seo DY, Kwak HB, Lee SR ,Cho YS, Song I-S, Kim N, et al. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. ***Nutr Res Practice*** 2014; 8(2): 177-82.
[31] Abdi A, Ramezani N, Amini M. FNDC5 Gene Expression and Irisin Protein Level of Visceral Fat Tissue after Eight Weeks of Resistance Training in Type 2 Diabetic Rats. ***J Ardabil Univ Med Sci*** 2018; 18(1): 80-90.
[32] Hoseinzadeh M, Rashidlamir A, Sadeghi Fazel F, Khajei R. The Effect of Eight Weeks Progressive Resistance and Endurance Training on Liver Tissue and Gastrocnemius Muscle's Irisin levels in Male Rats. ***J Sabzevar Univ Med Sci*** 2020; 27(3): 340-6.
[33] Shirvani H, Mirnejad R, Soleimani M, Arabzadeh E. Swimming exercise improves gene expression of PPAR-γ and downregulates the overexpression of TLR4, MyD88, IL-6, and TNF-α after high-fat diet in rat skeletal muscle cells. ***Gene*** 2021; 775: 145441.
[34] Sayyad M, Sheikhani H, Moqaddasi M, Jowhari A. The effect of 8 weeks of high-intensity interval water training on liver TLR-4 protein and serum TNF-α in male rats with non-alcoholic steatohepatitis by high-fat diet. ***J Appl Health Studies Sport Physiol*** 2022; 9(1): 125-35.
[35] Mazinani M, Shadmehri S, Shirvani H. Effect of high-intensity interval training and lactobacillus rhamnosus probiotic consumption on TLR4 and MYD88 expression in gut tissue in animal model of non-alcoholic fatty liver. ***Sci J Kurdistan Univ Med Sci*** 2021; 26(3): 13-24.
[36] Wu X-D, Zeng K, Liu W-L, Gao Y-G, Gong C-S, Zhang C-X, et al. Effect of aerobic exercise on miRNA-TLR4 signaling in atherosclerosis. ***Int J Sports Med*** 2014; 35(04): 344-50.
[37] Mazur-Bialy AI, Pocheć E, Zarawski M. Anti-inflammatory properties of irisin, mediator of physical activity, are connected with TLR4/MyD88 signaling pathway activation. ***Int J Mol Sci*** 2017; 18(4): 701.
[38] Yu Q, Li G, Ding Q, Tao L, Li J, Sun L, et al. Irisin protects brain against ischemia/reperfusion injury through suppressing TLR4/MyD88 pathway. ***Cerebrovascular Dis*** 2020; 49(4): 346-54.
[39] Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. ***Cellular Mol Life Sci*** 2019; 76: 99-128.
[40] Damavandi RD, Shidfar F, Najafi M, Janani L, Masoodi M, Heshmati J, et al. Effect of portulaca oleracea (purslane) extract on inflammatory factors in nonalcoholic fatty liver disease: A randomized, double-blind clinical trial. ***J Functional Foods*** 2023; 102: 105465.
[41] Karimi Zandi L, Noorbakhshnia M, Ehsanpour AA, Rajaeian S. Effect of hydro-alcoholic Portulaca-Oleracea extract on oxidative damage induced by bacterial Lipopolysaccharide (LPS) in liver of rat. ***J Shahrekord Univ Med Sci*** 2016; 17(6): 124-35.
[42] Shen CY, Jiang JG, Yang L, Wang DW, Zhu W. Anti-ageing active ingredients from herbs and nutraceuticals used in traditional Chinese medicine: pharmacological mechanisms and implications for drug discovery. ***British J Pharmacol*** 2017; 174(11): 1395-425.