







Research Article

## Effect of High-Intensity Interval Training and *Portulaca Oleracea* Extract on C-Reactive Protein and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ in Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease

Mehdi Javadi Kia<sup>1</sup> , Ameneh Barjaste Yazdi<sup>2\*</sup> , Rambod Khajei<sup>2</sup> , Mohamad Reza Hosein Abadi<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Ph.D Student of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor of Corrective Movements, Department of Physical Education, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

\*Corresponding author: Ameneh Barjaste Yazdi, Department of Physical Education, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran. E-mail: [barjaste.a7@gmail.com](mailto:barjaste.a7@gmail.com)

DOI: [10.32592/nkums.15.2.13](https://doi.org/10.32592/nkums.15.2.13)

How to Cite this Article:

Javadi Kia M, Barjaste Yazdi A, Khajei R, Hosein Abadi MR. Effect of High-Intensity Interval Training and *Portulaca Oleracea* Extract on C-Reactive Protein and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. J North Khorasan Univ Med Sci. 2023;15(2):13-21. DOI: 10.32592/nkums.15.2.13

Received: 23 Nov 2022

Accepted: 16 Apr 2023

Keywords:

C-Reactive Protein

High-Intensity Interval Training

Nonalcoholic Fatty Liver

*Portulaca Oleracea* extract

Tumor Necrosis Factor- $\alpha$

Abstract

**Introduction:** The present study aimed to investigate the effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) and *Portulaca Oleracea* extract on serum levels of C-Reactive Protein (CRP) and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in rats with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

**Method:** A total of 25 male Wistar rats were randomly divided into five groups: healthy control, fatty liver control, *Portulaca Oleracea* extract, HIIT, 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 eight weeks, five sessions per week with seven repetitions of 1 minute at 90% maximum speed accompanied by active rest intervals, including 2 minutes of running at 20% maximum speed.

**Results:** Serum levels of C-Reactive Protein and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in *Portulaca Oleracea* extract, HIIT, and HIIT+*Portulaca Oleracea* extract groups were significantly lower than the fatty liver control group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** As evidenced by the results of this study, HIIT alone and combined with *Portulaca Oleracea* extract can exert positive effects on liver inflammation in patients with NAFLD and prevent disease progression.



## تأثیر تمرینات تناوبی شدید و مصرف عصاره خرفه بر سطح پروتئین واکنشگر C (CRP) و عامل نکروز تومور $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

مهدی جوادی کیا<sup>۱</sup>، آمنه برجسته یزدی<sup>۲\*</sup>، رامبد خواجه‌ای<sup>۲</sup>، محمدرضا حسین آبادی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت‌بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

<sup>۲</sup> استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت‌بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

<sup>۳</sup> استادیار حرکات اصلاحی، گروه تربیت‌بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

\* نویسنده مسئول: آمنه برجسته یزدی، گروه تربیت‌بدنی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران. ایمیل:

barjaste.a7@gmail.com

DOI: 10.32592/nkums.15.2.13

<b>چکیده</b>	تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۲
<b>مقدمه:</b> هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف مکمل خرفه بر سطح پروتئین واکنشگر C (CRP) و عامل نکروز تومور $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) در موش‌های مبتلا به NAFLD بود.	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۲
<b>روش کار:</b> بدین منظور، ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار به‌طور تصادفی انتخاب شدند و در پنج گروه کنترل سالم، کنترل کبد چرب، مصرف عصاره خرفه، تمرین HIIT و تمرین همراه با مصرف عصاره خرفه قرار داده شدند. به‌منظور القای NAFLD، موش‌ها به‌مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند. عصاره خرفه با توجه به وزن موش‌ها، با دوز ۴۰۰ mg/kg به گروه‌های مربوط خوراندند. پروتکل تمرینی HIIT به‌مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته با تکرار یک‌دقیقه‌ای با شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه انجام شد که با تناوب‌های استراحت فعال شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۲۰ درصد بیشینه همراه بود.	<b>واژگان کلیدی:</b> کبد چرب غیرالکلی عصاره خرفه تمرین تناوبی شدید پروتئین واکنشگر C عامل نکروز تومور $\alpha$
<b>یافته‌ها:</b> سطح سرمی CRP و TNF- $\alpha$ در گروه عصاره، تمرین و تمرین+عصاره به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کبد چرب پایین‌تر بود ( $P < 0.05$ ).	
<b>نتیجه‌گیری:</b> احتمالاً HIIT به‌تنهایی و همراه با مصرف مکمل خرفه می‌تواند اثرهای مثبتی در التهاب کبدی بیماران مبتلا به NAFLD بگذارد و از پیشرفت بیماری جلوگیری کند.	

### مقدمه

NAFLD بر عهده دارد و یکی از عوامل مهم در سبب‌شناسی این بیماری است [۴]. التهاب به عوارض طولانی‌مدتی مثل مقاومت به انسولین، اختلال در اندوتلیوم عروقی و آترواسکلروز منجر می‌شود که این التهاب میانجی مهمی در بروز استئاتوهپاتیت در نمونه‌های انسانی و حیوانی به شمار می‌رود [۵].

نشانه‌های التهابی مختلفی برای ارزیابی و کنترل پیشرفت NAFLD مدنظر قرار گرفته‌اند [۳، ۱]. افزایش بالاتر از حد طبیعی سایتوکاین‌ها، از جمله عامل نکروز تومور- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )، اینترلوکین-۶ (IL-6)، IL-1 $\beta$ ، IL-8 و پروتئین واکنشگر C (CRP)، به التهاب مزمن منجر می‌شوند [۶]. این سایتوکاین‌ها نشانگر بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت ملیتوس، پوکی استخوان، سرطان و NAFLD هستند [۷]. بر CRP به‌عنوان شاخص حساس و غیراختصاصی التهاب تأکید شده است. CRP عضوی از خانواده پنتراکسی‌هاست که نقش مهمی در پاسخ ایمنی و التهابی بر عهده دارد. افزایش سطح hs-CRP

کبد چرب وضعیتی بالینی است که با تجمع لیپیدها در سلول‌های کبدی مشخص می‌شود. به‌طور سنتی، محتوای چربی سلول‌های کبدی زمانی که به بیش از ۵ درصد از وزن کبد افزایش یابد، به‌عنوان کبد چرب در نظر گرفته می‌شود [۱]. در گذشته، به کبد چرب به‌عنوان یک آسیب‌شناسی خوش‌خیم و برگشت‌پذیر توجه می‌شد و نشان‌دهنده پاسخ غیراختصاصی کبد به استرس متابولیک با منشآت مختلف بود [۲]؛ با این حال، به‌طور فزاینده‌ای، به‌عنوان بخشی از طیفی دیده می‌شود که می‌تواند از کبد چرب شروع و به وضعیتی کشنده، مانند سرطان کبد (HCC) خوش‌خیم ختم شود. مصرف الکل شایع‌ترین عامل ایجاد کبدچرب است که ممکن است در افراد غیرالکلی نیز دیده شود و موجودیت بالینی آن بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) شناخته می‌شود که معمولاً با اجزای مختلف سندرم متابولیک، از جمله چاقی، دیابت شیرین و دیس‌لیپیدمی همراه است [۳]. گزارش‌های مختلف نشان می‌دهند که افزایش التهاب نقش مهمی در کنترل پیشرفت

در مجموع، از آنجا که بیماری‌زایی و پیشرفت NAFLD به تعادل بین عوامل التهابی مربوط است و با توجه به نقش تمرین ورزشی و عصاره خرفه در کنترل بیماری NAFLD و همچنین با توجه به توصیه‌های صورت‌گرفته درباره مصرف عصاره خرفه و تمرینات ورزشی HIIT در این بیماری، هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تمرینات تناوبی شدید و مصرف هم‌زمان عصاره خرفه بر سطوح CRP و TNF- $\alpha$  در موش‌های نر مبتلا شده به NAFLD با رژیم غذایی پرچرب است.

## روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به‌همراه دو گروه کنترل و سه گروه تجربی بود که به‌شیوه آزمایشگاهی انجام شد. در این تحقیق، از ۲۵ سر موش نر بالغ از نژاد ویستار با دامنه وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۵ گرم و سن شش هفته استفاده شد که از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی خریداری شد. مطابق با خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی، موش‌ها در قفس‌های سه یا چهارتایی و تحت شرایط استاندارد (چرخه ۱۲ ساعته روشنایی تاریکی، دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی و سازگاری با محیط جدید، ۵ سر موش به‌عنوان گروه رژیم غذایی استاندارد (گروه اول) برای بررسی تغییرات وزن در طول دوره پژوهش انتخاب شدند. ۲۰ سر موش دیگر، به‌مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند تا به NAFLD مبتلا شوند. این رژیم غذایی شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین بود. پس از ۱۲ هفته، موش‌های صحرایی نر بالغ به‌طور تصادفی، به چهار گروه کنترل کبد چرب، تمرین، تمرین+عصاره و عصاره با تعداد برابر در هر گروه (۵ سر) تقسیم شدند. با مصرف رژیم غذایی پرچرب (۶۰ درصد چربی) به‌مدت ۱۲ هفته، مبتلا شدن به کبد چرب غیرالکلی صورت گرفت. به‌منظور اطمینان از ابتلا به NAFLD، سطح آنزیم‌های کبدی موش‌ها اندازه‌گیری شد و افزایش سطح آنزیم‌های کبدی به‌عنوان معیار ورود به تحقیق در نظر گرفته شد. با توجه به اینکه هدف این پژوهش بررسی اثر مستقل تمرین ورزشی و عصاره گیاهی دانه خرفه بود، گروه کنترل بیمار و سه گروه آزمایشی تا انتهای پژوهش، با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند. همه مراحل پژوهش با توجه به دستورالعمل کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی و با کد IR.NKUMS.REC.1400.075 انجام شد.

به‌منظور تهیه عصاره گیاه خرفه، بخش‌های هوایی گیاه خرفه در منطقه رویش آن در شهرستان چناران خراسان رضوی جمع‌آوری و پس از شناسایی توسط کارشناس گیاه‌شناسی (کد هراریومی ۰۱/۰۱/۱۵۱)، با آب شسته شدند و بعد از خشک شدن، آسیاب شدند و بعد از تأیید در آزمایشگاه کنترل کیفی، براساس وزن موش‌ها با دوز ۴۰۰ mg/kg به گروه‌های مربوط به‌صورت گاوژ خوراندند.

به‌عنوان شاخصی از التهاب مزمن، می‌تواند بیماری‌های مختلف التهابی، نظیر دیابت، چاقی و کبد چرب را پیش‌بینی کند [۶، ۸، ۹]. افزایش سطح این شاخص در پیشرفت بیماری NAFLD به‌خوبی ثابت شده است [۹-۱۱]. عامل TNF- $\alpha$  نیز یک سایتوکاین چندکاره پیش‌التهابی است که به خانواده بزرگ TNF- $\alpha$  تعلق دارد و در عملکردهای دفاع بیولوژیکی میانجی‌شده توسط التهاب درگیر می‌شود. سایتوکاین التهابی TNF- $\alpha$  برای اولین بار در سرم موش متعاقب تزریق اندوتوکسین کشف شد و نکروز انواع معینی از سلول‌های توموری را در پی داشت [۱۲]. فعال‌سازی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، مثل TNF- $\alpha$  در بافت چربی و کبد، نقش مهمی در بیماری‌زایی و پیشرفت بیماری NAFLD بازی می‌کند [۱۳]. نشان داده‌اند که افزایش بیان TNF- $\alpha$  در کبد، در بیماران مبتلا به NAFLD، نشان‌دهنده پیشرفت بیماری به‌سمت مرحله فیروز است [۱۴، ۱۵].

مطالعات قبلی ارتباط بین NAFLD و سبک زندگی بی‌تحرك را پیشنهاد کرده‌اند. فرض بر این است که ورزش بدنی با کاهش تجمع TG داخل کبدی، بهبود حساسیت به انسولین و کاهش استرس اکسایشی، فواید چندعاملی برای اختلالات متابولیک دارد و درمانی توصیه‌شده برای چاقی، دیابت و اختلالات متابولیکی است [۱۶]. تمرین استقامتی شامل دوچرخه‌سواری یا دویدن با شدت کم تا متوسط است که برای حداقل ۳۰ دقیقه انجام می‌شود. انجام این تمرین پنج روز در هفته، برای کاهش خطر ابتلا به اختلال متابولیک پیشنهاد شده است [۱۷، ۱۸]؛ با این حال، مردم اغلب قادر به انجام منظم تمرینات استقامتی نیستند و ارائه یک برنامه آموزشی عملی‌تر ضروری است [۱۷]. تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) شکلی از فعالیت بدنی با دوره‌های کوتاه و تناوب‌های فعالیت شدید است که به‌دنبال آن، دوره‌های استراحت یا فعالیت ورزشی با شدت کمتر تکرار می‌شوند [۱۷، ۱۹]. بر اساس مطالعات صورت‌گرفته، شدت ورزش نسبت به حجم ورزش در بهبود اختلال متابولیک مؤثرتر است [۲۰]؛ بنابراین، انتظار می‌رود که HIIT در بهبود دیابت و NAFLD در مقایسه با تمرینات استقامتی مؤثرتر باشد [۲۱].

از طرف دیگر، گیاه دارویی خرفه یکی از داروهای گیاهی پرمصرف است. دانه‌ها و برگ‌های خرفه کاربردهای درمانی متعددی دارند، خواص دارویی آن شامل این موارد است: کاهش قند خون، کاهش کلسترول خون، آنتی‌اکسیدان، ضد درد، ضدالتهاب، ترمیم‌کننده زخم و گشادکننده برونش [۲۲-۲۴]. خرفه غنی‌ترین منبع غیرحیوانی امگا ۳ و اسیدهای چرب اشباع‌نشده چندگانه شناخته می‌شود، همچنین، سرشار از ویتامین E، ویتامین C، بتاکاروتن و فلاونوئیدها است [۲۵]. این گیاه حاوی کومارین‌ها، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها و گلیکوزیدهای آنتراکینون است [۲۶]. از آنجایی که ایمنی و اثر غیرسمی مصرف خرفه در مطالعات قبلی ثابت شده است، پیشنهاد کرده‌اند که از آن به‌عنوان درمانی عملی در بیماران مبتلا به NAFLD استفاده شود [۲۴].

از کیت شماره DY510 از شرکت دئوست انجام شد. به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها، از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. پس از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده‌ها، به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه بین گروه‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه جفتی گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری  $P < 0/05$  استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS20 صورت گرفت.

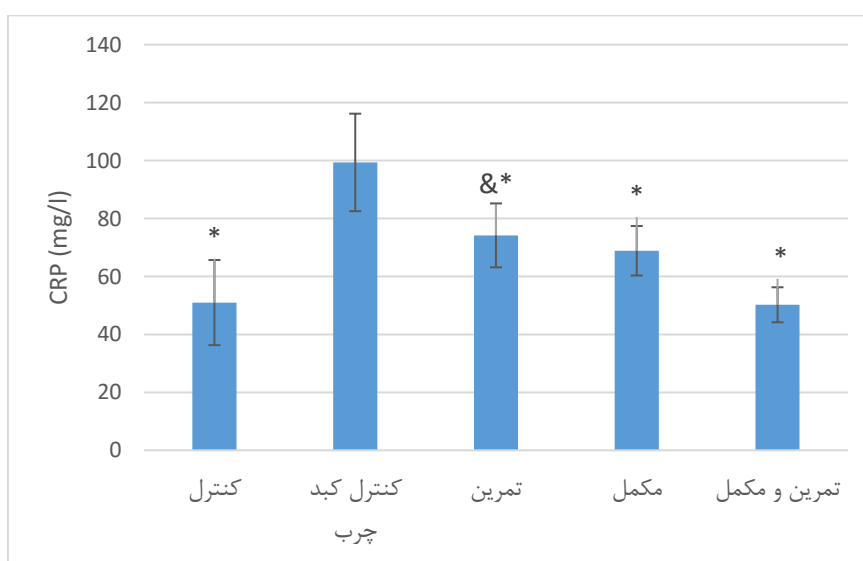
### یافته‌ها

به منظور مقایسه سطوح سرمی CRP و TNF- $\alpha$  در گروه‌های تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در جدول ۱، یافته‌های آزمون آماری در خصوص مقایسه اثر تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف عصاره خرفه بر سطوح سرمی CRP و TNF- $\alpha$  موش‌های صحرایی نر مبتلا به NAFLD در گروه‌های تحقیق ارائه شده است.

#### سطوح سرمی CRP گروه‌های تحقیق

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین سطح سرمی CRP گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F=13/89$  و  $P=0/001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح سرمی CRP در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم کنترل بالاتر بود ( $P < 0/05$ ). سطح این شاخص در گروه عصاره، تمرین و تمرین+عصاره، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کبد چرب پایین‌تر بود ( $p < 0/05$ ). بین سطح سرمی CRP در گروه تمرین، عصاره و تمرین+عصاره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). نمودار ۱، مقایسه سطح سرمی CRP در نتیجه ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه را در گروه‌های تحقیق نشان می‌دهد.

پروتکل تمرینی HIIT با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه که معادل ۷ تلاش یک‌دقیقه‌ای 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 هفته چهارم، ادامه و تا پایان هفته هشتم انجام شد. تناوب‌های استراحت فعال شامل ۲ دقیقه دوییدن 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 در دقیقه بود و سرد کردن به مدت ۱ دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه، ۲ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه به پایان رسید. موش‌ها در گروه تمرین، ۵ روز در هفته با دو روز استراحت در وسط و آخر هفته، به مدت ۸ هفته تمرین کردند [۲۷]. تمامی موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) با نسبت ۵ به ۲ بهوش شدند. سپس، متخصصان کارآموده جراحی و خون‌گیری از بطن چپ موش‌ها را انجام دادند. نمونه‌خون به‌آرامی در جدار داخلی لوله آزمایش حاوی هپارین تخلیه شد، سپس، لوله‌های آزمایش در چاهک‌های دستگاه سانتریفیوژ (فامکو، ایران) قرار داده شد و دستگاه روی سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی سرم تنظیم شد. پس از سانتریفیوژ، سرم توسط سمپلر به میکروتیوپ ۲ ml منتقل و در فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری سطح سرمی CRP از کیت الیزا به شماره کاتالوگ DY1744 از شرکت دئوست ساخت کشور کانادا استفاده شد. اندازه‌گیری سطح TNF- $\alpha$  سرم نیز با استفاده از کیت الیزا و با استفاده

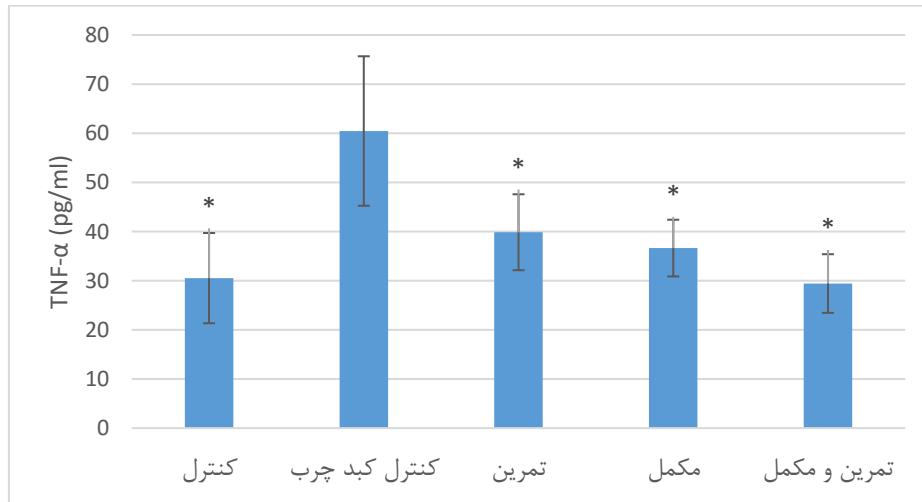


نمودار ۱. مقایسه سطح سرمی CRP در نتیجه ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه. \* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل و & نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کبد چرب کنترل و & نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه. \* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کبد چرب کنترل و & نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه سالم کنترل در سطح معناداری  $P < 0/05$ .

سطوح سرمی TNF- $\alpha$  در گروه‌های تحقیق

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین سطح سرمی TNF- $\alpha$  گروه‌های تحقیق پس از ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F=9/265$  و  $P=0/001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح سرمی TNF- $\alpha$  در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم کنترل بالاتر بود

( $P<0/05$ ). سطح این شاخص در گروه عصاره، تمرین و تمرین+عصاره به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کبد چرب پایین‌تر بود ( $P<0/05$ ). بین سطح سرمی TNF- $\alpha$  در گروه تمرین، عصاره و تمرین+عصاره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>0/05$ ). نمودار ۲ مقایسه سطح سرمی TNF- $\alpha$  در نتیجه ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه را در گروه‌های تحقیق نشان می‌دهد.



نمودار ۲. مقایسه سطح سرمی TNF- $\alpha$  در نتیجه ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه در گروه‌های تحقیق. \* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کبد چرب کنترل در سطح معناداری  $P<0/05$

بحث

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) به خطری مهم برای سلامتی تبدیل شده است و یکی از علل شایع بیماری مزمن کبد است. مطالعات اپیدمیولوژیک مختلف شیوع NAFLD را در محدوده ۱۸ درصد تا ۴۶ درصد در جمعیت عمومی تخمین زده‌اند [۲۸]. این بیماری در ابتدا به‌عنوان یک بیماری خوش‌خیم در نظر گرفته می‌شد؛ اما اکنون، به یکی از علل اصلی بیماری مزمن کبد تبدیل شده است و یافتن راه‌های کنترل و درمان این بیماری یکی از مباحث داغ مجامع پزشکی به حساب می‌آید [۱]؛ بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین HIIT و مصرف عصاره خرفه بر سطح TNF- $\alpha$  و CRP سرمی در موش‌های مبتلا به NAFLD بود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که القای NAFLD در موش‌های نر و بیستار افزایش سطح عوامل التهابی CRP و TNF- $\alpha$  را در پی داشت. نشان داده‌اند که مصرف رژیم غذایی پرچرب در موش‌ها به افزایش بیان گیرنده هسته‌ای  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ )، استئاتوز کبدی و افزایش بیان CRP، IL-6، IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$  منجر می‌شود [۲۹]. بیان بیش از حد CRP و TNF- $\alpha$  به‌عنوان نشانه التهاب در چاقی و آسیب‌شناسی NAFLD و ارتباط اصلی با مقاومت به انسولین در این آزمودنی‌ها در نظر گرفته می‌شود [۳۰]. TNF- $\alpha$  پس از اتصال به گیرنده خود می‌تواند آبشارهای سیگنالینگ پروآپوپتوز یا آنتی‌آپوپتوز را فعال کند که به فعال شدن

NF- $\kappa B$  منجر می‌شود؛ بنابراین، زنده ماندن سلولی، التهاب، متابولیسم و سایر تولیدات سایتوکاینی را تنظیم می‌کند [۲۹]. TNF- $\alpha$  در بافت چربی و عضلانی انسان‌های چاق و در مدل‌های چاقی جوندگان بیش از حد تولید می‌شود [۳۰]. موش‌های چاقی که در آن‌ها TNF- $\alpha$  یا گیرنده‌اش حذف شده بود، در مقایسه با گروه کنترل، حساسیت بیشتری به انسولین داشتند [۳۱]. بیان شده است که TNF- $\alpha$  از طریق NF- $\kappa B$  هم مقاومت به انسولین را تقویت می‌کند و هم فعال می‌شود و در تغییرات التهابی و متابولیکی کبد نقش کلیدی را بر عهده دارد [۲۹]. در این راستا، نشان داده‌اند که بیان ژن TNF- $\alpha$  و گیرنده‌اش در بافت کبد و چربی در بیماران NASH افزایش می‌یابد [۳۲]. حاجی قاسم و همکاران (۲۰۱۹)، سطوح بالاتری از TNF- $\alpha$  را در کبد موش‌های مبتلا به NAFLD مشاهده کردند؛ درحالی‌که IL-10 ضدالتهابی به‌طور درخور توجهی کاهش یافت [۳۳]، همچنین، التهاب سیستمیک درجه‌پایین با افزایش سطوح نشانگرهای التهابی مختلف، از جمله CRP همراه است [۳۴]. افزایش سطح CRP در بیماران مبتلا به NAFLD به‌عنوان یک بیماری که با افزایش التهاب سیستمیک همراه است، به‌خوبی اثبات شده است [۱]؛ حتی لی و همکاران (۲۰۱۷)، افزایش سطح CRP را به‌عنوان پیش‌گویی‌کننده شروع NAFLD در بیماران سالم معرفی کرده‌اند [۳۵].

یکی از یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که تمرین ورزشی HIIT به کاهش سطح CRP و TNF- $\alpha$  در موش‌های NAFLD منجر شد. تمرین

دویدن روی نوارگردان و رژیم غذایی کم‌کالری از طریق فعال‌سازی لیپولیز، بیش‌تنظیمی پروتئین جفت‌نشده-۱ و گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسی‌زوم‌ها و تغییرات در آدیپوسایتوکاین‌ها به بهتر شدن وضعیت التهابی منجر می‌شود [۴۵]. اشاره شده است که ترکیب این مداخلات با کاهش بیان میانجی‌های پیش‌التهابی، از جمله TNF- $\alpha$  و IL-1 $\beta$ ، التهاب کبدی را نیز کاهش می‌دهند و موجب کاهش مقادیر آنزیم‌های کبدی و عوامل التهابی، نظیر CRP در افراد مبتلا به NAFLD می‌شوند [۴۶].

از طرف دیگر، بر استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های کبدی بسیار تأکید شده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مصرف عصاره خرفه به‌تنهایی و همراه با تمرین ورزشی می‌تواند بهبود شاخص‌های التهابی را در موش‌های مبتلا به NAFLD به‌همراه داشته باشد. چندین فعالیت دارویی برای خرفه، از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدسرطانی، تعدیل‌کننده ایمنی و خواص ضد درد گزارش شده است [۴۷، ۴۸]. دو آکالوئید جداشده از گیاه خرفه، اولراکون و اولراسیمین، اثرهای ضدالتهابی درخور توجهی بر ماکروفاژهای تحریک‌شده با لیپوپلی ساکارید (LPS) نشان داده‌اند. این ترکیبات به‌طور قابل ملاحظه‌ای از تولید اکسیدنیتریک (NO) جلوگیری می‌کنند؛ علاوه بر این، آن‌ها به‌طور درخور توجهی ترشح TNF- $\alpha$ ، IL-6، TNF- $\alpha$ ، NO و پروستاگلاندین E2 و همچنین mRNA سیکلو‌اکسیژناز ۲ و نیتریک اکسید سنتاز القایی را کاهش دادند [۴۹]. کیم و همکاران (۲۰۰۹)، پیشنهاد کردند که بیان mRNA عوامل التهابی، از جمله TNF- $\alpha$  و IL-1 $\beta$  توسط خرفه به‌روشی وابسته به دوز سرکوب می‌شود؛ درحالی‌که بیان COX-2 در سلول‌های سرطان معده تحریک‌شده با LPS بدون تغییر باقی می‌ماند [۵۰]. لی و همکاران (۲۰۱۲)، نشان دادند که پیش‌تیمار سلول‌ها با عصاره آبی خرفه نقش مهمی در سرکوب تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) درون سلولی القاشده با TNF- $\alpha$ ، بیان بیش از حد مولکول چسبندگی بین سلولی-۱ (ICAM-1) و چسبندگی سلول‌های عروقی دارد؛ در نتیجه، نشان داده شده است که عصاره آبی خرفه دارای اثرهای ضدالتهابی عروقی بوده و می‌تواند در پیشگیری و درمان بیماری‌های التهابی عروقی مؤثر باشد [۵۱]. از طرف دیگر، خرفه یک پلی‌ساکارید محلول در آب به‌نام CPOP (پلی‌ساکارید خرفه‌ای خام) دارد. در سال‌های اخیر، چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که التهاب ناشی از سایتوکاین مسئول پاتوژن بسیاری از بیماری‌های متابولیک، از جمله دیابت نوع ۲ و NAFLD است [۴۷]. برخی از سایتوکاین‌های التهابی از جمله TNF- $\alpha$  و IL-6 در ایجاد مقاومت به انسولین نقش دارند و خطر اختلال عملکرد میکروواسکولار را در این بیماری‌ها افزایش می‌دهند. CPOP به‌طور معنی‌داری سطح TNF- $\alpha$  و IL-6 را در موش‌های دیابتی و همچنین سوپراکساید دیسموتاز و مالون دی‌آلدئید را کاهش داد. این نتایج نشان می‌دهند که اثر ضددیابتی CPOP ممکن است با اثرهای آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن مرتبط

ورزشی مژمن یکی از عوامل مهم در کنترل التهاب در بدن است. هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر، خالق‌زاده و همکاران (۲۰۲۰)، نشان دادند که هشت هفته HIIT به کاهش معنادار IL-6، TNF- $\alpha$  و آسپاراتات آمینوترانسفراز در موش‌های چاق مبتلا به NAFLD منجر شد [۳۶]. همچنین، کوانیشی و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش دادند که ورزش مژمن (۱۶ هفته) بیان TNF- $\alpha$  mRNA کبدی را در موش‌هایی که با رژیم غذایی پرچرب تغذیه می‌شوند، کاهش می‌دهد [۳۷]. آن‌ها در تحقیق دیگری دریافتند که تمرین مژمن، التهاب کبدی را که توسط TNF- $\alpha$  بررسی شد، کاهش می‌دهد و همچنین، کموکاین‌ها و مولکول‌های چسبندگی را در مدل موش NASH ناشی از رژیم غذایی پرچرب سرکوب می‌کند، نفوذ ماکروفاژهای التهابی کبدی را کاهش می‌دهد و کبد چرب را تضعیف می‌کند [۳۸]. فرزانی و همکاران (۲۰۱۸)، نشان دادند که ورزش هوازی میانگین سطح IL-10 ضدالتهابی را در موش‌ها افزایش می‌دهد؛ اما TNF- $\alpha$  را کاهش می‌دهد [۳۹]. حاجی قاسم و همکاران (۲۰۱۹)، نشان دادند که مصرف مکمل رزوراترول به‌تنهایی یا همراه با تمرینات تناوبی و تداومی، باعث کاهش معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدئید و TNF- $\alpha$  شد [۳۳]. همچنین، کاظمی و همکاران (۱۳۹۵)، نشان دادند که پنج هفته تمرین HIIT باعث کاهش TNF- $\alpha$  در بافت چربی احشایی و زیروپوستی در موش‌های صحرایی نر شد [۴۰]. محمودی و همکاران (۱۳۹۸)، با بررسی تأثیر دویدن روی نوارگردان و رژیم غذایی کم‌کالری بر مقادیر ویسفاتین و CRP در افراد مبتلا به NAFLD، گزارش کردند که مقادیر ویسفاتین و CRP در گروه تمرین و ترکیب تمرین و رژیم غذایی کاهش معناداری را نشان داد [۴۱]. افزایش وزن و درصد چربی متعاقب آن، در بیماران مبتلا به NAFLD، یکی از دلایل مهم ایجاد التهاب و شروع‌کننده بیماری عنوان شده است، از این منظر، کاهش وزن در این بیماران می‌تواند بسیار مفید باشد. صومی و همکاران (۱۳۹۶)، با بررسی یک دوره برنامه مداخله کاهش وزن در آزمودنی‌های مبتلا به NAFLD، کاهش معنادار عوامل التهابی، از جمله مقادیر CRP را نشان دادند [۴۲]. همچنین، عنوان شده است که تمرین ورزشی می‌تواند به‌طور غیرمستقیم سطح غلظت گردش خون نشانگرهای التهابی را از طریق تحریک کاهش توده چربی بدن تنظیم کند و در نتیجه، باعث کاهش نفوذ ماکروفاژها در بافت‌های محیطی شود و از پیشرفت NAFLD جلوگیری کند [۴۳]. لذا، کاهش وزن ناشی از تمرین ورزشی و مصرف عصاره خرفه که در تحقیق حاضر مشاهده شد، می‌تواند عامل کاهش عوامل التهابی در این آزمودنی‌ها باشد. از طرف دیگر، اشاره شده است که بافت چربی منبع اصلی تولید IL-6 است و با کاهش بافت چربی، مقادیر سرمی آن نیز کاهش می‌یابد. کاهش مقادیر سرمی IL-6 باعث کاهش تولید مقادیر CRP می‌شود، همچنین، تمرین ورزشی با تنظیم کاهش فعالیت سمیاتیک، کاهش مقادیر TNF- $\alpha$  را در پی دارد که محرک تولید IL-6 است و لذا، مانع از افزایش تولید CRP می‌شود [۴۴]. به‌علاوه، احتمالاً ترکیب تمرین



به‌تنهایی و همراه با مصرف مکمل خرفه می‌تواند اثرهای مثبتی در التهاب کبدی بیماران مبتلا به NAFLD داشته باشد و از پیشرفت بیماری جلوگیری کند.

### سپاسگزاری

از تمامی کسانی که محققان را در انجام این تحقیق یاری کردند، به‌خصوص مسئولان آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، تشکر و قدردانی می‌شود. (کد اخلاق: IR.IAU.NEYSHABUR.REC.1401.007)

### تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

### References

- Kumar R, Porwal Y, Dev N, Kumar P, Chakravarthy S, Kumawat A. Association of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in Asian Indians: A cross-sectional study. *J Family Med Prim Care*. 2020;**9**(1):390-394. DOI: 10.4103/jfmpc.jfmpc\_887\_19 PMID: 32110624
- EI-Serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;**126**(2):460-468. DOI: 10.1053/j.gastro.2003.10.065 PMID: 14762783
- Rodríguez-Hernández H, Simental-Mendía LE, Rodríguez-Ramírez G, Reyes-Romero MA. Obesity and inflammation: epidemiology, risk factors, and markers of inflammation. *Int J Endocrinol*. 2013;**2013**:678159. DOI: 10.1155/2013/678159 PMID: 23690772
- Klisis A, Isakovic A, Kocic G, Kavaric N, Jovanovic M, Zvrko E, et al. Relationship between oxidative stress, inflammation and dyslipidemia with fatty liver index in patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2018;**126**(06):371-378. DOI: 10.1055/s-0043-118667 PMID: 28895641
- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Unalp A, Behling CE, Lavine JE, et al. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD—clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology*. 2009;**49**(3):809-820. DOI: 10.1002/hep.22724 PMID: 19142989
- Abdulkhaleq L, Assi M, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap Y, Hezme M. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 2018;**11**(5):627-635. DOI: 10.14202/vetworld.2018.627-635 PMID: 29915501
- Colbert LH, Visser M, Simonsick EM, Tracy RP, Newman AB, Kritchevsky SB, et al. Physical activity, exercise, and inflammatory markers in older adults: findings from the health, aging and body composition study. *J Am Geriatr Soc*. 2004;**52**(7):1098-1104. DOI: 10.1111/j.1532-5415.2004.52307.x PMID: 15209647
- Libby P, Okamoto Y, Rocha VZ, Folco E. Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. *Circ J*. 2010;**74**(2):213-220. DOI: 10.1253/circj.cj-09-0706 PMID: 20065609
- Lee J, Yoon K, Ryu S, Chang Y, Kim HR. Correction: High-normal levels of hs-CRP predict the development of nonalcoholic fatty liver in healthy men. *PLoS One*. 2018;**13**(10):e0206834. DOI: 10.1371/journal.pone.0206834
- Nigam P, Bhatt SP, Misra A, Vaidya M, Dasgupta J, Chadha DS. Nonalcoholic fatty liver disease is closely associated with sub-

باشد [۵۲]؛ علاوه بر این، مشخص شده است که اسیدهای چرب امگا۳ موجود در برگ خرفه دارای خواص ضدالتهابی قوی هستند [۲۳]. در این راستا، نشان داده شده است که پیش‌درمان با عصاره آبی خرفه به‌دلیل محتوای مناسب اسیدهای چرب امگا۳، باعث مهار تولید ROS ناشی از TNF- $\alpha$  در کبد به‌صورت وابسته به دوز می‌شود. از طرف دیگر، اشاره شده است که مقدار بالای اسیدچرب غیراشباع امگا۳ در خرفه که اثر مهاری خود را بر روی آسیل ترانسفراز و کمپلکس آنزیم اسید چرب سنتز اعمال می‌کند، کاهش سنتز تری‌گلیسرید را در پی دارد [۵۳].

### نتیجه‌گیری

در مجموع، این نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت HIIT و مصرف عصاره خرفه بر سطح TNF- $\alpha$  و CRP کبدی در موش‌های مبتلا به NAFLD است؛ بنابراین، با توجه به این نتایج، می‌توان دریافت که احتمالاً HIIT

clinical inflammation: a case-control study on Asian Indians in North India. *PLoS One*. 2013;**8**(1):e49286. DOI: 10.1371/journal.pone.0049286 PMID: 23326306

- Genc H, Dogru T, Kara M, Tapan S, Ercin CN, Acikel C, et al. Association of plasma visfatin with hepatic and systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol*. 2013;**12**(4):380-387. PMID: 23813132
- Carswell E, Old LJ, Kassel R, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1975;**72**(9):3666-3670. DOI: 10.1073/pnas.72.9.3666 PMID: 1103152
- Abiru S, Migita K, Maeda Y, Daikoku M, Ito M, Ohata K, et al. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int*. 2006;**26**(1):39-45. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01191.x PMID: 16420507
- Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology*. 2003;**38**(2):413-419. DOI: 10.1053/jhep.2003.50316 PMID: 12883485
- Tilg H. The role of cytokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis*. 2010;**28**(1):179-185. DOI: 10.1159/000282083 PMID: 20460908
- Marques C, Motta V, Torres T, Aguila M, Mandarim-de-Lacerda C. Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. *Braz J Med Biol Res*. 2010;**43**(5):467-475. DOI: 10.1590/s0100-879x2010007500030 PMID: 20490434
- Hottenrott K, Ludyga S, Schulze S. Effects of high intensity training and continuous endurance training on aerobic capacity and body composition in recreationally active runners. *J Sports Sci Med*. 2012;**11**(3):483-488. PMID: 24149357
- Nalcakan GR. The effects of sprint interval vs. continuous endurance training on physiological and metabolic adaptations in young healthy adults. *J Hum Kinet*. 2014;**44**:97-109. DOI: 10.2478/hukin-2014-0115 PMID: 25713670
- Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol*. 2012;**590**(5):1077-1084. DOI: 10.1113/jphysiol.2011.224725 PMID: 22289907
- Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Spectr*. 2015;**28**(1):39-44. DOI: 10.2337/diaspect.28.1.39 PMID: 25717277
- Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjaee S,

- Khakdan S. High-intensity interval training (HIIT) alleviated NAFLD feature via miR-122 induction in liver of high-fat high-fructose diet induced diabetic rats. *Arch Physiol Biochem*. 2020;**126**(3):242-249. DOI: 10.1080/13813455.2018.1510968 PMID: 30318957
22. Chan K, Islam M, Kamil Ma, Radhakrishnan R, Zakaria M, Habibullah M, et al. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (Haw.) Celak. *J Ethnopharmacol*. 2000;**73**(3):445-451. DOI: 10.1016/s0378-8741(00)00318-4 PMID: 11090998
  23. Malek F, Boskabady M, Borushaki MT, Tohidi M. Bronchodilatory effect of *Portulaca oleracea* in airways of asthmatic patients. *J Ethnopharmacol*. 2004;**93**(1):57-62. DOI: 10.1016/j.jep.2004.03.015 PMID: 15182905
  24. Gheflati A, Adelnia E, Nadjarzadeh A. The clinical effects of purslane (*Portulaca oleracea*) seeds on metabolic profiles in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized controlled clinical trial. *Phytother Res*. 2019;**33**(5):1501-1509. DOI: 10.1002/ptr.6342 PMID: 30895694
  25. Alam M, Juraimi AS, Rafii M, Abdul Hamid A, Aslani F, Hasan M, et al. Evaluation of antioxidant compounds, antioxidant activities, and mineral composition of 13 collected purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions. *BioMed Res Int*. 2014;**2014**:296063. DOI: 10.1155/2014/296063 PMID: 24579078
  26. Sabzghabae AM, Kelishadi R, Jelokhanian H, Asgary S, Ghannadi A, Badri S. Clinical effects of *portulaca oleracea* seeds on dyslipidemia in obese adolescents a triple-blinded randomized controlled trial. *Med Arch*. 2014;**68**(3):195-199. DOI: 10.5455/medarch.2014.68.195-199 PMID: 25568533
  27. 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):1235-1241. DOI: 10.1152/jappphysiol.00594.2011 PMID: 21836050
  28. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*. 2011;**140**(1):124-131. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.09.038 PMID: 20858492
  29. Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol*. 2010;**5**:145-171. DOI: 10.1146/annurev-pathol-121808-102132 PMID: 20078219
  30. Duarte N, Coelho IC, Patarrão RS, Almeida JI, Penha-Gonçalves C, Macedo MP. How inflammation impinges on NAFLD: a role for Kupffer cells. *BioMed Res Int*. 2015;**2015**:984578. DOI: 10.1155/2015/984578 PMID: 26090470
  31. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;**115**(5):1111-1119. DOI: 10.1172/JCI25102 PMID: 15864338
  32. Meli R, Mattace Raso G, Calignano A. Role of innate immune response in nonalcoholic fatty liver disease: metabolic complications and therapeutic tools. *Front Immunol*. 2014;**5**:177. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00177 PMID: 24795720
  33. Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with nonalcoholic fatty liver disease. *Arch Physiol Biochem*. 2019;**125**(2):142-149. DOI: 10.1080/13813455.2018.1441872 PMID: 29463133
  34. Chiang CH, Huang CC, Chan WL, Chen JW, Leu HB. The severity of nonalcoholic fatty liver disease correlates with high sensitivity C-reactive protein value and is independently associated with increased cardiovascular risk in healthy population. *Clin Biochem*. 2010;**43**(18):1399-1404. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2010.09.003 PMID: 20846522
  35. Lee J, Yoon K, Ryu S, Chang Y, Kim HR. High-normal levels of hs-CRP predict the development of nonalcoholic fatty liver in healthy men. *PLoS One*. 2017;**12**(2):e0172666. DOI: 10.1371/journal.pone.0172666 PMID: 28234943
  36. Khaleghzadeh H, Afzalpour ME, Ahmadi MM, Nematy M, Sardar MA. Effect of high intensity interval training along with Oligopin supplementation on some inflammatory indices and liver enzymes in obese male Wistar rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Obes Med*. 2020;**17**:100177. DOI: 10.1016/j.obmed.2019.100177
  37. Kawanishi N, Yano H, Yokogawa Y, Suzuki K. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. *Exerc Immunol Rev*. 2010;**16**:105-118. PMID: 20839495
  38. Kawanishi N, Yano H, Mizokami T, Takahashi M, Oyanagi E, Suzuki K. Exercise training attenuates hepatic inflammation, fibrosis and macrophage infiltration during diet induced-obesity in mice. *Brain Behav Immun*. 2012;**26**(6):931-941. DOI: 10.1016/j.bbi.2012.04.006 PMID: 22554494
  39. Farzanegi P, Abbaszadeh H, Abbassi Daloui A, Kazemi M, Sabbaghian M, Shoeibi A, et al. Effects of aerobic exercise on histopathology and toxicology of ZnO and nano ZnO in male rats. *Toxicol Environ Chem*. 2018;**100**(1):103-114.
  40. Kazemi A, Eslami R, Karimghasemi L. The effect of high-intensity interval training on tumor necrosis factor-alpha levels in visceral and subcutaneous adipose tissue and insulin resistance in male rats. *Sport Physiol*. 2016;**8**(32):17-30. DOI: 10.22089/spj.2016.860
  41. Mahmoudi A, Siahkouhian M, Iranparvar M, Anari H. The effect of running on a treadmill and low calorie diet on visfatin and hs-CRP values in people with nonalcoholic fatty liver disease. *J Ardabil Uni Med Sci*. 2019;**19**(1):20-29. DOI: 10.29252/jarums.19.1.20
  42. Somi MH, Boostani K, Azadbakht S, Alizadeh M, Eftekharsadat AT, Ghojzadeh M. Determine effect of weight loss on serum level of inflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, CRP and TNF- $\alpha$  in obese patients with fatty liver disease. *Med J Tabriz Uni Med Sci*. 2017;**39**(3):61-69.
  43. Gonzalo-Encabo P, Maldonado G, Valadés D, Ferragut C, Pérez-López A. The role of exercise training on low-grade systemic inflammation in adults with overweight and obesity: A systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;**18**(24):13258. DOI: 10.3390/ijerph182413258 PMID: 34948868
  44. Haghiri H, Hejazi SM, Minae S. Changes of serum intercellular adhesion molecule-1, vascular adhesion molecule-1 and C-Reactive Protein in middle-aged men with heart failure after eight weeks of aerobic exercise. *SSU\_Journals*. 2017;**26**(4):494-504.
  45. Hashida R, Kawaguchi T, Bekki M, Omoto M, Matsue H, Nago T, et al. Aerobic vs. resistance exercise in nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review. *J Hepatol*. 2017;**66**(1):142-152. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.08.023 PMID: 27639843
  46. Guo R, Liang EC, So KF, Fung ML, Tipoe GL. Beneficial mechanisms of aerobic exercise on hepatic lipid metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatobil Pancreat Dis Int*. 2015;**14**(2):139-144. DOI: 10.1016/s1499-3872(15)60355-1 PMID: 25865685
  47. Baradaran Rahimi V, Rakhshandeh H, Raucci F, Buono B, Shirazinia R, Samzadeh Kermani A, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidant activity of *Portulaca oleracea* extract on LPS-induced rat lung injury. *Molecules*. 2019;**24**(1):139. DOI: 10.3390/molecules24010139 PMID: 30609661
  48. 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. DOI: 10.3390/molecules27186075 PMID: 36144807
  49. Xu L, Ying Z, Wei W, Hao D, Wang H, Zhang W, et al. A novel alkaloid from *Portulaca oleracea* L. *Nat Prod Res*.



- 2017;**31**(8):902-908. DOI: [10.1080/14786419.2016.1253081](https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1253081) PMID: [27806650](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27806650/)
50. Kim CH, Park PB, Choe SR, Kim TH, Jeong JK, Lee KG, et al. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Portulaca Oleracea* on the LPS-stimulated AGS cells. *J Physiol Pathol Korean Med* 2009;**23**(2):488-493.
51. Lee AS, Kim JS, Lee YJ, Kang DG, Lee HS. Anti-TNF- $\alpha$  activity of *Portulaca oleracea* in vascular endothelial cells. *Int J Mol Sci* 2012;**13**(5):5628-5644. DOI: [10.3390/ijms13055628](https://doi.org/10.3390/ijms13055628) PMID: [22754320](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22754320/)
52. Bai Y, Zang X, Ma J, Xu G. Anti-diabetic effect of *Portulaca oleracea* L. Polysaccharide and its mechanism in diabetic rats. *Int J Mol Sci* 2016;**17**(8):1201. DOI: [10.3390/ijms17081201](https://doi.org/10.3390/ijms17081201) PMID: [27463713](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27463713/)
53. Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden Heuvel JP, Wagner PR, West SG. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(2):243-252. DOI: [10.3945/ajcn.110.003871](https://doi.org/10.3945/ajcn.110.003871) PMID: [21159789](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21159789/)