

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

Tahereh Khorasani-Toroghi¹,

Ali Yaghoubi²

¹ MSc Student in Sports Physiology, Department of Physical Education and Sport Science, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

² Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Science, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

(Received May 31, 2022 ; Accepted August 2, 2022)

Abstract

Background and purpose: Insulin resistance contributes to non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and a close association is reported between fetuin A and insulin resistance. The aim of this study was to investigate the effect of eight weeks of high intensity interval training (HIIT) and *Portulaca Oleracea* supplementation on fetuin level and insulin resistance in rats with NAFLD.

Materials and methods: This experimental research included two control groups and three experimental groups. Twenty five male Wistar rats were randomly divided into five groups: healthy control, fatty liver control, *Portulaca Oleracea* supplement, HIIT, and HIIT+ *Portulaca Oleracea* supplement. To induce NAFLD, the rats were fed a high-fat diet for 12 weeks. *Portulaca Oleracea* supplement (400 mg/kg) was given to the experimental groups. HIIT was performed for 8 weeks, 5 sessions per week with 7 repetitions of 1 minute at 90% maximum speed accompanied by active rest intervals including 2 minutes of running at 20% maximum speed.

Results: Insulin resistance was significantly higher in fatty liver control group than healthy controls ($P=0.002$). But it was significantly lower in HIIT group ($P=0.01$), *Portulaca Oleracea* supplement group ($P=0.037$), and HIIT+ *Portulaca Oleracea* supplement group ($P=0.012$) than that in fatty liver control group. Also, fetuin A level was found to be significantly higher in fatty liver control group than healthy control group ($P=0.01$). Findings showed that fetuin A level was significantly lower in HIIT group ($P=0.036$), *Portulaca Oleracea* supplement group ($P=0.019$), and HIIT+ *Portulaca Oleracea* supplement group ($P=0.007$) than fatty liver control group.

Conclusion: It seems that HIIT and *Portulaca Oleracea* supplement could improve insulin resistance in NAFLD by lowering hepatic fetuin A levels.

Keywords: High intensity interval training, *Portulaca Oleracea* supplement, fetuin A, insulin resistance, non-alcoholic fatty liver disease

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (212): 29-41 (Persian).

Corresponding Author: Ali Yaghoubi - Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.
(E-mail: Yaghoubiali65@gmail.com)

اثر تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل خرفه بر تغییرات سطح فتوئین آ کبدی و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی

طاهره خراسانی طرقي¹

علی یعقوبی²

چکیده

سابقه و هدف: مقاومت به انسولین باعث پیشرفت بیماری کبد چرب غیر الکلی می‌شود و ارتباط نزدیکی بین فتوئین آ و مقاومت به انسولین گزارش شد. هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر 8 هفته تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف مکمل خرفه بر سطح فتوئین آ کبدی و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی شامل دو گروه کنترل و سه گروه آزمایش بود. 25 سر موش صحرایی نر، به‌طور تصادفی در 5 گروه کنترل سالم، کنترل کبد چرب، مصرف مکمل خرفه، تمرین تناوبی و تمرین همراه با مصرف مکمل خرفه قرار داده شدند. جهت القای کبد چرب، موش‌ها به مدت 12 هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند. مکمل خرفه با دوز 400mg/kg به گروه‌های مربوطه خوراند شد. پروتکل تمرینی 8 هفته، 5 جلسه در هفته با 7 تکرار یک دقیقه ای با شدت 90 درصد سرعت بیشینه انجام شد که با تناوب‌های استراحت فعال شامل 2 دقیقه دویدن با شدت 20 درصد بیشینه همراه بود.

یافته‌ها: مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم کنترل بالاتر بود ($P=0/002$). سطح این شاخص در گروه تمرین HIIT ($P=0/01$)، مصرف مکمل خرفه ($P=0/037$) و تمرین همراه با مکمل ($P=0/012$) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود. سطح فتوئین آ در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معنی‌داری نسبت به کنترل سالم بالاتر بود ($P=0/01$). سطح این شاخص در گروه تمرین HIIT ($P=0/036$)، مصرف مکمل خرفه ($P=0/019$) و تمرین همراه با مکمل ($P=0/007$) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود.

استنتاج: تمرین ورزشی و مصرف مکمل خرفه از طریق کاهش سطح فتوئین آ کبدی، احتمالاً می‌تواند بهبود مقاومت به انسولین در بیماران NAFLD را در پی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، مکمل خرفه، فتوئین آ، مقاومت به انسولین، کبد چرب غیر الکلی

مقدمه

کبد چرب نزدیک به 20 نفر از هر 10000 نفر سالانه است و نقطه اوج ابتلا به این بیماری در دهه 60 زندگی و بیش‌تر در جنس مذکر دیده می‌شود (2).

کبد چرب غیر الکلی Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) یکی از شایع‌ترین شکل بیماری‌های مزمن کبدی در سراسر جهان است (1). بروز

E-mail: Yaghoubiali65@gmail.com

مؤلف مسئول: علی یعقوبی - دانشجوی دکتری، دانشکده علوم انسانی

1. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

2. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

تاریخ دریافت: 1401/3/10 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1401/4/5 تاریخ تصویب: 1401/5/11

مداخلات ترکیبی رژیم غذایی و فعالیت بدنی، سطح فتوئین آ را در کودکان مبتلا به سندرم متابولیک کاهش می‌دهد (16).

راهکارهای زیادی برای پیشگیری و درمان NAFLD بیان شده است ولی راهکار ثابتی مورد تأیید قرار نگرفته است (17، 18). درمان اصلی این بیماری سبک زندگی متعادل است. در حقیقت مهم‌ترین و تنها راه درمان شناخته شده برای این بیماران به کار بستن استراتژی کاهش وزن به علاوه رژیم غذایی پر فیبر، آنتی اکسیدان‌ها، محصولات پروبیوتیکی، ماهی، کاهش مصرف در فرآورده‌های گوشت قرمز و عدم استفاده از مواد غنی شده از فروکتوز و چربی به علاوه فعالیت بدنی می‌باشد. بررسی تاریخیچه عادات غذایی افراد مبتلا NAFLD در مطالعات مختلف نشان می‌دهد که مصرف فیبر در این افراد عمدتاً پایین بوده و رژیم غذایی غنی از فروکتوز و اسیدهای چرب اشباع شده مثل رژیم‌های غذایی غربی را دارند (19، 20).

طب سنتی از گیاهان متنوعی برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها نظیر بیماری‌های التهابی و بسیاری از اختلالات کبدی استفاده کرده است؛ از جمله این گیاهان خرفه (*Portulanca Oleracea*) است (18). خرفه یک گیاه علفی است که بالاترین میزان امگا 3 را در برگ‌های خود دارد. هم‌چنین این گیاه دارای پروتئین، فیبر، مس، منگنز، پتاسیم، کلسیم، مقادیر بالای ویتامین E و C و بتاکاروتن است (21). مطالعات نشان داده است که ترکیبات آنتی اکسیدانی و اسیدهای چرب امگا-3 و امگا-6 موجود در عصاره خرفه از طریق افزایش مصرف انرژی و کاهش بیان آنزیم‌های محدودکننده سرعت سنتز اسید چرب در کبد (استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز (*Acetyl Coenzyme A Carboxylase*) و اسید چرب سنتتاز (*Fatty Acid Synthase*)) باعث مهار پراکسیداسیون لیپید می‌شود. از سوی دیگر، خرفه حاوی مقادیر زیادی آلکالوئیدهای (*Alkaloid*) فنولیک است که این آلکالوئیدها نیز از طریق افزایش اسید چرب غیراشباع باعث مهار سنتز کلسترول می‌شوند (18).

بیماری کبد چرب، شامل طیفی از بیماری خفیف کبد به صورت تجمع چربی در سلول‌های کبدی است که با مقاومت به انسولین در ارتباط است و در سیر آن ممکن است در گروهی از بیماران التهاب سلول کبدی ایجاد شده و با تخریب سلول کبدی به بیماری مزمن و غیرقابل برگشت به نام سیروز منتهی شود (3). این بیماری از استئاتوز ساده کبدی شروع شده و می‌تواند به استئاتوهپاتیت غیرالکلی، فیروز، سیروز، نارسایی و حتی سرطان کبد تبدیل شود (4). شمار مبتلایان به این بیماری به دلیل تغییر شیوه زندگی، کاهش فعالیت بدنی و عادات تغذیه‌ای نادرست در حال افزایش است (5، 6). مقاومت به انسولین وضعیتی است که در آن سلول‌های بدن نسبت به اثرات انسولین مقاوم می‌شوند و با ایجاد پرفشاری خون، دیس لیپیدمی، اختلال تحمل گلوکز و دیابت ملیتوس زمینه‌ساز بیماری‌های متعددی می‌شود (7، 8). مقاومت به انسولین می‌تواند باعث پیشرفت بیماری NAFLD شود و حتی پیشرفت آن سیروز کبدی را تسریع می‌کند (9، 10). بنابراین، از یک طرف با افزایش میزان پیشرفت بیماری کبدی و از طرف دیگر با اثرات خارج کبدی شامل دیابت و عوارض قلبی - عروقی باعث پیش آگهی ضعیف این بیماران می‌شود (11، 12).

فتوئین آ (*Fetuin A*) به عنوان یک پروتئین مترشحه کبدی در غلظت بالا در سرم انسان یافت می‌شود (13). تحقیقات اپیدمیولوژیک به طور پیوسته سطوح بالای فتوئین آ را در بیماران مبتلا به چاقی، سندرم متابولیک و NAFLD نشان می‌دهد (10، 13). در برخی مطالعات کاهش سطح سرمی فتوئین آ به دنبال کاهش وزن نشان داده شده است (13). کاهش فتوئین آ ممکن است با بافت چربی برای تنظیم آدیپوکاین‌ها در ارتباط باشد و با کاهش التهاب، به تنظیم هموستاز گلوکز کمک کند (14). در مطالعات متعددی غلظت بالای فتوئین آ در سندرم متابولیک گزارش شده است که به عنوان یک عامل خطر برای این سندرم در نظر گرفته می‌شود (15). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که کاهش وزن ناشی از

همچنین عنوان شده است که خرفه به عنوان یک گیاه دارویی دارای خاصیت هیپولیپیدمیک می باشد که می تواند در درمان بسیاری از بیماری های متابولیک مورد استفاده قرار گیرد (22).

تمرینات تناوبی شدید (High Intensity Interval Training: HIIT) شامل وهله های فعالیت با شدت بسیار زیاد به همراه استراحت فعال با شدت پایین می باشد، که مورد توجه محققین قرار گرفته است. این شیوه تمرینی از نظر زمانی، یک روش بسیار کارآمد بوده که سازگاری های متابولیکی متعددی را تحریک می کند (23). از فواید آن می توان به بهبود فاکتورهای چون آمادگی هوازی، آمادگی بی هوازی، پرفشاری خون، کنترل عوامل قلب و عروقی، نیرخ لیپیدی، کاهش وزن در اثر تجزیه چربی شکمی، حفظ توده عضلانی و افزایش حساسیت انسولینی به دلیل آمادگی بیش تر عضلات برای مصرف گلوکز اشاره کرد (24). به دلیل این که تمرینات تناوبی شدید به راحتی و در حداقل زمان، در همه سطوح آمادگی مورد استفاده قرار می گیرد، می تواند برای افراد با شرایط ویژه نیز مورد استفاده قرار گیرد (25). با توجه به کمبود مطالعات مربوط به تاثیر HIIT بر روی افراد مبتلا به کبد چرب، این نوع تمرین ورزشی برای این بیماران انتخاب شد. هم چنین تاکنون درمان های دارویی متعددی برای کبد چرب پیشنهاد شده است که به دلیل عوارض جانبی، افزایش وزن پیشرونده و هزینه بالا استفاده مداوم و منظم از آنها توصیه نمی شود (26). بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر یک دوره HIIT و مصرف مکمل خرفه بر سطح فتوئین آ کبدی در رت های مبتلا به NAFLD می باشد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون به همراه دو گروه کنترل و سه گروه تجربی بود که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. در این مطالعه از 25 سر رت نر بالغ نژاد ویستار با دامنه وزنی 160 تا 185 گرم و سن

شش هفته استفاده شد؛ که از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی خریداری شدند. مطابق با خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی در قفس های 3 یا 4 تایی و تحت شرایط استاندارد (چرخه 12 ساعته روشنایی - تاریکی، دمای 22 ± 3 درجه سانتی گراد) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی و سازگاری با محیط جدید، 5 سر رت به عنوان گروه رژیم غذایی استاندارد (گروه اول) برای بررسی تغییرات وزن در طول دوره مطالعه انتخاب شدند 20 سر رت دیگر، به مدت 12 هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند تا مبتلا به NAFLD شوند (27). پس از 12 هفته، موش های صحرایی نر بالغ به طور تصادفی به سه گروه کنترل کبد چرب، تمرین، تمرین + مکمل و مکمل با تعداد برابر در هر گروه (5 سر) تقسیم شدند. بامصرف رژیم غذایی پرچرب (60 درصد چربی) به مدت 12 هفته مبتلا شدن به کبد چرب غیر الکلی صورت خواهد گرفت. لازم به ذکر است، چون هدف این مطالعه بررسی اثر مستقل تمرین ورزشی و عصاره گیاهی دانه خرفه بود؛ گروه کنترل بیمار و 3 گروه آزمایشی تا انتهای مطالعه، با رژیم غذایی پرچرب، تغذیه شدند (کد مصوبه اخلاق: IR.IAU.BOJNOURD.REC.1401.003).

پروتکل تمرین HIIT: جهت آشنا سازی با نوارگردان، ابتدای رت های گروه تمرین به مدت یک هفته (5 جلسه)، به مدت 10 تا 15 دقیقه در هر جلسه با سرعت 6-10 متر بر دقیقه با شیب صفر درجه به فعالیت بر روی نوارگردان پرداختند تا با نوارگردان و الگوی دویدن روی آن آشنا شوند. سپس به منظور تعیین دقیق شدت تمرین، آزمون حداکثر سرعت دویدن با استفاده از نوارگردان به روش غیرمستقیم انجام شد. بر این اساس، بعد از 10 دقیقه گرم کردن با شدت پایین، آزمون دویدن موش های صحرایی شروع و سرعت نوارگردان هر 2 دقیقه یک بار به میزان 0/03m/s تا 1/8 m/min (2 تا 2) افزایش یافت، تا جایی که حیوانات

دیگر قادر به دویدن نباشند. سرعتی که در آن VO_{2max} به دست می آید به عنوان سرعت ماکزیمم تعریف شد (28-30). مطالعه صورت گرفته نشان داد ارتباط بالایی بین سرعت نوار گردان و VO_{2max} موش های صحرایی نر سالمند وجود دارد ($r=0/94-0/98$, $P<0/005$). از این رو می توان با توجه به سرعت دویدن میزان VO_{2max} موش های صحرایی نر سالمند را برآورد کرد (31). بعد از 2 روز استراحت پس از مرحله ی آشنایی و اندازه گیری VO_{2max} ، برنامه ورزشی اجرا شد. پروتکل تمرینی HIIT با شدت 75 درصد سرعت پیشینه که معادل 7 تلاش 1 دقیقه ای و سرعت 30 متر در دقیقه و استراحت فعال بین فعالیت ها با شدت 15 درصد سرعت پیشینه در هفته ی اول انجام شد که به تدریج با افزایش متوسط 80 درصد سرعت پیشینه و در هفته دوم 85 درصد سرعت پیشینه و در هفته سوم 90 درصد سرعت پیشینه و در هفته چهارم ادامه و تا پایان هفته هشتم انجام شد. تناوب های استراحت فعال شامل 2 دقیقه دویدن با شدت 30 درصد سرعت پیشینه از هفته اول تا سوم و 20 درصد در ابتدای هفته چهارم تا پایان دوره تمرین بود. شروع تمرین با گرم کردن به مدت 3 دقیقه با شدت 10 متر در دقیقه و 2 دقیقه با شدت 15 متر و سرد کردن با سرد کردن به مدت 1 دقیقه با شدت 15 متر در دقیقه، 2 دقیقه با شدت 10 متر در دقیقه به پایان رسید. رت ها در گروه تمرین، 5 روز در هفته با دو روز استراحت در وسط و آخر هفته به مدت 8 هفته تمرین کردند. بخش های هوایی گیاه خرفه از منطقه رویش آن در خراسان رضوی جمع آوری و پس از تایید کارشناس گیاه شناسی توسط آب شستشو داده شد و بعد از خشک شدن آسیاب شد تا پودر شود. پودر گیاه خرفه با اتانول آبی 80 درصد استخراج شد و با تعیین محتوای اسید لینولئیک عصاره ها طبق روشی که قبلاً توسعه داده شده بود، استاندارد شد (32). بعد از تایید در آزمایشگاه کنترل کیفی براساس وزن موش با دوز 400mg/kg به گروه های مربوطه به صورت گاوآژ خوراندند شد (33). تمامی آزمودنی ها، 48 ساعت پس از آخرین

جلسه تمرین و پس از ناشتایی شبانه، با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (60 تا 80 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم) و زایلازین (8 میلی گرم به ازای هر کیلو گرم) بیهوش شدند. سپس بلافاصله بعد از شکافتن قفسه سینه، به صورت مستقیم با سرنگ پنج سیسی دارای سر سوزن 24، خونگیری از بطن چپ قلب انجام شد. نمونه خون به آرامی در جدار داخلی لوله آزمایش تخلیه شد. قبل از سانتریفیوژ جهت جداسازی سرم، نمونه در لوله آزمایش در دمای اتاق (22 تا 25 درجه سانتی گراد) به مدت 30 دقیقه برای لخته شدن نگهداری شد. سپس لوله های آزمایش در چاهک های دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد و دستگاه روی سرعت 3000 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه جهت جداسازی سرم تنظیم شد. پس از سانتریفیوژ، سرم توسط سمپلر به میکروتیوپ 2 منتقل و در فریزر -70 درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد انجام خون گیری در کم تر از یک دقیقه بافت کبد جدا و با محلول طبیعی سالی به خوبی شستشو داده شد تا خون اضافی روی بافت پاک شود.

سطح گلوکز خون ناشتا با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون به روش فتومتریک اندازه گیری شد. سطح انسولین پلاسما به روش الایزا و با کیت شرکت کریاتو دیاگنوستیکال (Creative Diagnostics) آمریکا با شماره کاتالوگ DEIA1897 اندازه گیری شد. سطح فتوئین آکبدی به روش الایزا با استفاده از کیت تحقیقاتی کمپانی نووس بیولوژیکال (Novus Biologicals) مخصوص موش های صحرایی و طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه گیری شد. حساسیت روش اندازه گیری 3/75 نانوگرم در میلی لیتر بود. از آزمون شاپیروولیک جهت بررسی توزیع طبیعی داده ها استفاده شد. جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت میانگین پس آزمون متغیرها بین گروه های مطالعه، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS version 26 در سطح معنی داری $P<0/05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

در بخش اول اطلاعات توصیفی مربوط به وزن موش‌ها در ابتدا، پس از 12 هفته رژیم غذایی پرچرب و ابتلا به NAFLD و انتهای دوره پژوهش ارائه شده است. در ابتدا سعی بر آن شد که تمامی گروه‌ها همگن بوده و میانگین وزن موش‌های گروه‌های تحقیق یکسان باشد.

جدول شماره 1: مقایسه وزن آزمودنی‌ها در پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه‌های تحقیق

گروه ها	مرحله	
	پیش‌آزمون	هفته دوازدهم
کنترل سالم	206/68±5/07	235/66±10/67
کنترل کبد چرب	207/50±6/23	265/42±16/29
تمرین	209/38±5/76	257/20±10/05
مکمل	209/58±6/64	266/40±15/18
تمرین و مکمل	208/54±4/29	259/36±13/93
پس‌آزمون	276/78±18/35	309/48±21/85
کنترل کبد چرب	268/32±17/41	284/16±14/22
تمرین و مکمل	277/48±12/24	277/48±12/24

*: نشانه تفاوت معنی دار بین گروه‌های تحقیق در $P<0/05$.

با توجه به نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه که در جدول فوق گزارش شده می‌توان دریافت که وزن موش‌ها در گروه‌های تحقیق در گروه‌بندی اولیه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P=0/889$). پس از 12 هفته، دریافت رژیم غذایی پرچرب جهت القای NAFLD در موش‌های صحرایی، باعث افزایش وزن موش‌ها شده است ($P=0/008$). بعد از 8 هفته تمرین HIIT و دریافت مکمل خرفه نیز تفاوت معنی‌داری بین وزن موش‌ها در گروه‌های مطالعه مشاهده شد ($P=0/02$).

مقایسه سطوح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های مطالعه: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطح گلوکز خون ناشتای گروه‌های تحقیق پس از 8 هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P=0/001$ و $F=17/77$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح گلوکز خون ناشتا در گروه کنترل کبد چرب به طور معنی‌داری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ($P=0/001$). سطح این شاخص در گروه تمرین HIIT ($P=0/001$)، مصرف مکمل خرفه ($P=0/002$) و تمرین همراه با مکمل

($P=0/001$) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود. اما در سطح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های مصرف مکمل خرفه، تمرین HIIT و تمرین همراه با مکمل تفاوتی مشاهده نشد ($P>0/05$).

مقایسه سطوح انسولین در گروه‌های مطالعه: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین سطح انسولین پلاسما گروه‌های مطالعه پس از 8 هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($F=7/463$ و $P=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح انسولین پلاسما در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معنی‌داری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ($P=0/037$). سطح این شاخص در گروه تمرین HIIT ($P=0/002$)، مصرف مکمل خرفه ($P=0/007$) و

تمرین همراه با مکمل ($P=0/001$) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود. سطح انسولین پلاسما در گروه‌های مصرف مکمل خرفه، تمرین HIIT و تمرین همراه با مکمل تفاوتی مشاهده نشد ($P>0/05$). مقایسه مقاومت به انسولین در گروه‌های مطالعه:

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین مقاومت به انسولین گروه‌های مطالعه پس از 8 هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($F=6/150$ و $P=0/002$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبد چرب به‌طور معنی‌داری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ($P=0/002$). سطح این شاخص در گروه تمرین HIIT ($P=0/01$)، مصرف مکمل خرفه ($P=0/037$) و تمرین همراه با مکمل ($P=0/012$) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل کبد چرب بود. در میزان مقاومت به انسولین در گروه‌های مصرف مکمل خرفه، تمرین HIIT و تمرین همراه با مکمل تفاوتی مشاهده نشد ($P>0/05$). نمودار 1، مقایسه مقاومت به انسولین متعاقب 8 هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه را ارائه می‌دهد.

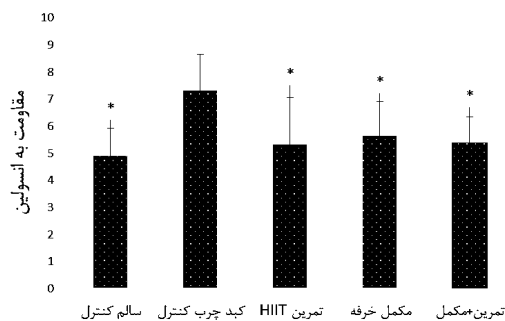
مقایسه سطوح فتوئین آ در گروه‌های مطالعه: نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین

بحث

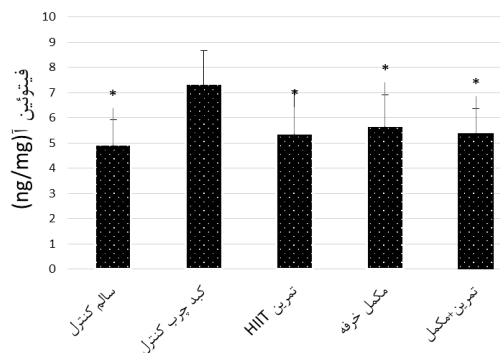
فتوئین آ به عنوان یک واسطه التهابی شناخته می شود و تصور می شود که در مقاومت به انسولین سیستمیک نقش دارد (34). هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر یک دوره HIIT و مصرف مکمل خرفه بر سطح فتوئین آ کبدی در رت های مبتلا به NAFLD بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطح فتوئین آ در موش های کنترل کبد چرب به طور معنی داری نسبت به موش های سالم بالاتر بود. تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه باعث کاهش سطح این شاخص شد، به طوری که سطح این شاخص در گروه تمرین HIIT، مصرف مکمل خرفه و تمرین همراه با مکمل به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود.

فتوئین آ یک گلیکوپروتئین 64 کیلو دالتونی است که از بافت چربی و کبد ترشح می شود؛ بیان شده است که این هپاتوکاین ارتباط نزدیکی با NAFLD دارد (35). در این ارتباط لیو و همکاران (2021) در مقاله ای مروری به بررسی سطح فتوئین آ در بیماری NAFLD پرداختند و اشاره کردند که سطح آن در نمونه های NAFLD بیش تر از افراد سالم می باشد و افزایش سطح این شاخص همراه با افزایش شاخص توده بدنی (Body Mass Index: BMI) و چاقی پیشرفت بیماری از استئاتوز به سیروز را تضمین می کند (36). یک رژیم غذایی پرچرب می تواند اسیدهای چرب آزاد (Free Fatty Acid: FFA) زیادی را به ارمغان بیاورد و باعث ترشح فتوئین آ از سلول های کبدی شود که می تواند سیگنال های جذب شیمیایی ارسال کند و ماکروفاژها را وادار به نفوذ به بافت چربی نماید (37). در این راستا ماکروفاژهای فعال ترشح سایتوکاین های التهابی نظیر $\text{TNF-}\alpha$ و IL-6 را افزایش می دهند که می توانند روند پیشرفت بیماری NAFLD را تشدید نمایند. علاوه بر این FFA می تواند فعالیت فاکتور هسته ای kB (Nuclear Factor-kB: NF-kB) را از طریق پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین 5- مونوفسفات (Adenosine 5-Monophosphate-Activated Protein Kinase: AMPK)

سطح فتوئین آ گروه های مطالعه پس از 8 هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه، تفاوت معنی داری وجود دارد ($P=0/005$ و $F=5/221$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح فتوئین آ در گروه کنترل کبد چرب به طور معنی داری نسبت به سالم کنترل بالاتر بود ($P=0/01$). سطح این شاخص در گروه تمرین HIIT ($P=0/036$)، مصرف مکمل خرفه ($P=0/019$) و تمرین همراه با مکمل ($P=0/007$) به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل کبد چرب بود. در سطح فتوئین آ در گروه های مصرف مکمل خرفه، تمرین HIIT و تمرین همراه با مکمل تفاوتی مشاهده نشد ($P>0/05$). در نمودار شماره 2، مقایسه سطح فتوئین آ کبدی متعاقب 8 هفته تمرین HIIT و مصرف مکمل خرفه ارائه شده است.



نمودار شماره 1: مقایسه میزان مقاومت به انسولین در گروه های مطالعه * : نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کبد چرب کنترل در سطح معنی داری $P<0/05$.



نمودار شماره 2: مقایسه سطح فتوئین آ گروه های مطالعه * : نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کبد چرب کنترل در سطح معنی داری $P<0/05$.

و فعالیت ERK1/2 افزایش دهد(38). با توجه به این که NF-kB نقش مهمی در تنظیم بیان ژن فتوئین آ و افزایش بیش تر سطح mRNA فتوئین آ ایفا می کند، باعث سنتز بیش از حد فتوئین آ در سلول های کبدی می شود که ممکن است مستقیماً پروتئین متصل به عنصر تنظیمی استرول-1C¹ (SREBP-1C) را تحریک نماید. به طور کلی پذیرفته شده است که تنظیم افزایش آنزیم های لیپوژنیک توسط SREBP-1C منجر به تجمع تری آسید گلیسرول میشود(39). این چرخه باعث افزایش تجمع چربی در بافت چربی و کبد شده که تشدید NAFLD را در پی دارد. از طرف دیگر بیان شده است که فتوئین آ سیگنال دهی انسولین را مهار می کند و مستقیماً با NAFLD در ارتباط است(37). همچنین ساردانا و همکاران (2021) در مقاله مروری دیگری عنوان داشتند که فتوئین آ در بسیاری از عوامل دخیل در بیماری زایی NAFLD از جمله دیس لیپیدمی (Dyslipidemia)، مقاومت به انسولین، هایپرگلیسمی، اختلالات قلبی و عروقی، استرس اکسایش و بسیاری از عوامل دیگر درگیر می باشد(40). در این ارتباط اشاره شده است که این هپاتوکاین گلیکوپروتئینی با تأثیر بر گیرنده انسولین، باعث مهار فعالیت تیروزین کینازی این گیرنده و همچنین مهار اتوفسفوریلاسیون می شود که کاهش فعالیت آن را در پی دارد. به عبارت دیگر فتوئین آ در عضله و بافت چربی از طریق اتصال به گیرنده تیروزین کینازی در این بافت ها و کاهش جذب گلوکز، باعث مقاومت به انسولین می شود. هم چنین به دلیل اتوفسفوریلاسیون گیرنده انسولین توسط فتوئین آ، غلظت سرمی فتوئین آ به طور مستقیم با دیس لیپیدمی در ارتباط است(41).

هرچند در حال حاضر هیچ درمان مؤثری برای NAFLD وجود ندارد ولی تغییرات در سبک زندگی مؤثر همچون تمرینات ورزشی و کنترل تغذیه ای و کاهش وزن برای کنترل این بیماری مورد تأکید قرار گرفته است(42،43). هم راستا با نتایج مطالعه حاضر مالین

و همکاران (2013) نشان دادند که در تمرین ورزشی در بزرگسالان مبتلا به NAFLD کاهش سطح فتوئین آ در گردش خون را در پی داشته است که با بهبود مقاومت به انسولین و برداشت گلوکز عضلانی همراه بود(44). این محققان نتایج مشابهی را در مطالعه سال 2014 گزارش نمودند؛ نتایج آن ها نشان داد که تمرینات ورزشی برنامه ریزی شده برای 12 هفته، از طریق کاهش فتوئین آ می تواند حساسیت به انسولین کبدی را در بزرگسالان سالمند بهبود بخشد(45). همچنین شهرکی و همکاران (1399) کاهش سطح فتوئین آ و بهبود شاخص های سندروم متابولیک زنان دارای اضافه وزن و چاق را متعاقب 8 هفته تمرین هوازی و ترکیبی نشان دادند(46). اما شش ماه تمرین هوازی و برنامه کاهش وزن سطح این هپاتوکاین را افزایش داد که با بهبود متابولیسم گلوکز همراه بود(47). در برخی مطالعات کاهش سطح فتوئین آ به دنبال کاهش وزن نشان داده شده است(14). در این راستا اشاره شده است که کاهش سطح فتوئین آ می تواند در برقراری ارتباط با بافت چربی برای تنظیم سایر آدیپوکاین ها نقش داشته باشد و با کاهش التهاب به تنظیم هموستاز گلوکز کمک کند(48). این نشان دهنده اهمیت کاهش وزن در این بیماری است که می تواند مستقل از تمرین ورزشی کاهش فتوئین آ در این آزمودنی ها را در پی داشته باشد. هرچند در مطالعه فوق بهبود مقاومت به انسولین می تواند از مسیرهای دیگری اتفاق افتاده باشد که نتیجه تمرین ورزشی را بازتاب می دهند. برای مثال نشان داده شده است که فتوئین آ و VO₂max ارتباط معکوسی دارند که نشان دهنده ارتباط این هپاتوکاین و بهبود عملکرد عضلانی می باشد(47). از طرف دیگر رامیرز-والز و همکاران در مقاله ای مروری به بررسی دلایل احتمالی کاهش فتوئین آ در اثر تمرین ورزشی پرداختند و اشاره کردند که مکانیزم های مختلفی از جمله کاهش چربی های درون کبدی از طریق تنظیم کاهشی

پروتئین متصل به عنصر تنظیم استرول-1c و تنظیم افزایشی فعال کننده تکثیر پراکسی زوم گیرنده γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ : PPAR γ) کاهش گلوکولیپوتوکسیسیتی (Glucolipotoxicity) از طریق تعدیل گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species: ROS) همراه با مهار میانجی‌های پیش التهابی و فعال کردن پروتئین کیناز B (که Akt نیز نامیده می‌شود) و فسفوریلاسیون سوبسترای 160 کیلو دالتونی Akt، که نشان داده شده است تحمل گلوکز را بهبود و مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهند در کاهش سطح فتوئین آ در اثر تمرین ورزشی در گیر می‌باشند (49).

استفاده از گیاه دارویی خرفه به عنوان یک راهکار درمانی در بیماری NAFLD پیشنهاد شده است (32، 33). اشاره شده است که خرفه در مقایسه با دیگر سبزیجات غنی‌ترین منبع گیاهی اسیدهای چرب امگا3 است (50). علاوه بر این خرفه تنها گیاه عالی شناخته شده برای تولید اسید ایکوزا پنتانوئیک (Eicosapentaenoic Acid: EPA) و اسید دوکوزاهگزانوئیک (Docosahexaenoic Acid: DHA) است (51). نسبت اسیدهای چرب n-6 به n-3 در گیاه خرفه پایین است (کم‌تر از 2) (48)؛ این شاخص بسیار حائز اهمیت است زیرا عدم تعادل در نسبت اسیدهای چرب غیراشباع n-6 به n-3 که در رژیم‌های غربی وجود دارد - می‌تواند خطر بیماری NAFLD را افزایش دهد (52). نشان داده شده است که عصاره خرفه بر فعالیت آنزیم لیپاز پانکراس، دارای خاصیت مهاری می‌باشد (50). عصاره خرفه می‌تواند فعالیت استیل کوآ کربوکسیلاز (Acetyl-CoA Carboxylase: ACC) را کاهش دهد. این آنزیم اولین گام در سنتز اسید چرب می‌باشد. همچنین بیان شده است که فسفوریلاسیون AMPK توسط عصاره خرفه افزایش می‌یابد، که این عمل فعالیت ACC را کاهش می‌دهد (53). سیکاری و همکاران (2018) اشاره کردند که خرفه دارای ترکیبات فعال متنوع خاص این گیاه می‌باشد که می‌تواند مسئول اثرات هیپولیپیدمیک

آن باشد. چندین نوع فلاونوئید بسیار فعال در عصاره خرفه که شامل کوئرستین، آپیزین، کائمفرول، لوتولین و روتین می‌باشد، کشف شده است (21). در این راستا نشان داده شده است که عصاره‌های فلاونوئیدی از طریق کاهش سطح mRNA و پروتئین اسیدچرب سنتز (Fatty Acid Synthase: FAS) و مهار آنزیم لیپاز پانکراسی دارای خاصیت هیپولیپیدمیک می‌باشند (32). همان‌طور که در بالا اشاره شد افزایش سنتز و ترشح اسیدهای چرب باعث ترشح فتوئین آ از سلول‌های کبدی می‌شود که می‌تواند سیگنال‌های جذب شیمیایی ارسال کند و ماکروفاژها را وادار به نفوذ به بافت چربی نماید و پیشرفت این بیماری را سریع‌تر کند (37). بنابراین کاهش سنتز و تولید اسیدهای چرب در این بیماری می‌تواند بهبود سطح فتوئین آ در این بیماران را در پی داشته باشد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. از طرف دیگر نتایج مطالعه لان و فوئر (2003) نشان‌دهنده تأثیر مثبت مکمل خرفه بر مقاومت به انسولین می‌باشد (54). در این راستا نشان داده شده است که مصرف مکمل خرفه بهبود نیمرخ لیپیدی، وضعیت گلاسمیک و آنزیم‌های کبدی را در آزمودنی‌های NAFLD در پی دارد (32). با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای که به بررسی تأثیر تمرین ورزشی و همچنین گیاه دارویی خرفه بر سطح فتوئین آ در آزمودنی‌های مبتلا به NAFLD پیردازد انجام نشده است، بنابراین مطالعه حاضر اولین مورد در این زمینه می‌باشد. از طرف دیگر تعداد کم آزمودنی‌ها از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود. بنابراین توصیه می‌شود در مطالعات آتی از نمونه‌های انسانی و همچنین تعداد آزمودنی بیش‌تر برای نتایج قابل تعمیم به جامعه انسانی استفاده شود.

در مجموع نتایج مطالعه حاضر بیانگر این مطلب است که تمرین ورزشی HIIT به تنهایی و همراه با مصرف مکمل گیاه خرفه تأثیر مثبتی بر میزان فتوئین آ و مقاومت به انسولین در موش‌های NAFLD دارد که به نظر می‌رسد از طریق کاهش سطح فتوئین آ کبدی

سپاسگزاری

از تمامی کسانی که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

بهبود مقاومت به انسولین در این بیماران را در پی داشته باشد و احتمالاً از پیشرفت بیماری پیشگیری نماید.

References

1. St George A, Bauman A, Johnston A, Farrell G, Chey T, George J. Independent effects of physical activity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 50(1): 68-76.
2. suneto A, Hida A, Sera N, Imaizumi M, Ichimaru S, NakashimaE, et al. Fatty liver incidence and predictive variables. *Hypertens Res* 2010; 33(6): 638-643.
3. Liver EAftSoT, Diabetes EAftSo. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Obesity Facts* 2016; 59(6): 1121-1140.
4. Nikroo H, Mohammadian M, Nematy M, Sima HR, Attarzadeh Hosseini SR. The effect of diet and exercise on improvement of quality of life in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Kerman Univ Med Sci* 2014; 21(1): 61-72 (Persian).
5. Akbari M, Zohari-Anboohi S, Borzabadi-Farahani Z, Nasiri M, Esteki T. Comparison of body mass index and waist circumference of patients with and without nonalcoholic fatty liver in Tehran. *Immunopathologia Persa* 2018; 4(2): e30.
6. Ghaemi A, Taleban F, Hekmatdoost A, Rafiei A, Hosseini V, Amiri Z, et al. Effect of weight reduction diet on non-alcoholic fatty liver disease. *Iranian J Nutr Sci Food Tech* 2013; 8(2): 123-134.
7. Nishida T, Tsuji S, Tsujii M, Arimitsu S, Haruna Y, Imano E, et al. Oral glucose tolerance test predicts prognosis of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(1): 70-75.
8. Romero-Gomez M. Hepatitis C and insulin resistance: steatosis, fibrosis and non-response. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98(8): 605-615.
9. Hickman IJ, Macdonald GA. Impact of diabetes on the severity of liver disease. *Am J Med* 2007; 120(10): 829-834.
10. Aroner SA, Mukamal KJ, St-Jules DE, Budoff MJ, Katz R, Criqui MH, et al. Fetuin-A and risk of diabetes independent of liver fat content: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Am J Epidemiol* 2017; 185(1): 54-64.
11. Semmler G, Datz C, Reiberger T, Trauner M. Diet and exercise in NAFLD/NASH: Beyond the obvious. *Liver Int* 2021; 41(10): 2249-2268.
12. Hallsworth K, Trenell M. Physical Activity in NAFLD: What and How Much? In: *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*: New York: Springer; 2020. p. 289-307.
13. Stefan N, Fritsche A, Weikert C, Boeing H, Joost H-G, Häring H-U, et al. Plasma fetuin-A levels and the risk of type 2 diabetes. *Diabetes* 2008; 57(10): 2762-2767.
14. O'Leary VB, Jorett AE, Marchetti CM, Gonzalez F, Phillips SA, Ciaraldi TP, et al. Enhanced adiponectin multimer ratio and skeletal muscle adiponectin receptor expression following exercise training and diet in older insulin-resistant adults. *Am J*

- Physiol Endocrinol Metab 2007; 293(1): E421-427.
15. Fisher E, Stefan N, Saar K, Drogan D, Schulze MB, Fritsche A, et al. Association of AHSG gene polymorphisms with fetuin-A plasma levels and cardiovascular diseases in the EPIC-Potsdam study. *Circulation: Cardiovascular Genetics* 2009; 2(6): 607-613.
 16. Reinehr T, Roth CL. Fetuin-A and its relation to metabolic syndrome and fatty liver disease in obese children before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(11): 4479-4485.
 17. Nikroo H, Nematy M, Sima H, Attarzade Hosseini S, Pezeshki M, Esmaeilzadeh A, et al. Therapeutic effects of aerobic exercise and low-calorie diet on nonalcoholicsteatohepatitis. *Govaresh* 2013; 17(4): 245-253.
 18. Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Rasekh F, Ramazani M. The effects of *Portulaca oleracea* alcoholic extract on induced hypercholesterolemia in rats. *ZJRMS* 2013; 15(6): 34-39.
 19. Zelber-Sagi S, Ratzin V, Oren R. Nutrition and physical activity in NAFLD: an overview of the epidemiological evidence. *World J gastroenterol* 2011; 17(29): 3377-3389.
 20. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Bugianesi E. Carbohydrate intake and nonalcoholic fatty liver disease: fructose as a weapon of mass destruction. *Hepatobiliary Surg Nutr* 2015; 4(2): 109-116.
 21. 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.
 22. Sahebkar KM, Azizi H, Yousefi M, Salari R, Bahrami TH, Behravanrad P. An evidence based review on integrative medicine in weight control. *Complementary Med J* 2017; 7(1): 1828-1850.
 23. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fatloss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes* 2008; 32(4): 684-691.
 24. Barzegarzadeh-Zarandi H, Dabidy-Roshan V. Changes in some liver enzymes and blood lipid level following interval and continuous regular aerobic training in old rats. *J Shahrekord Uni Med Sci* 2012; 14(5): 13-23 (Persian).
 25. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol Metab* 2015; 4(12): 903-915.
 26. Xu X, Ying Z, Cai M, Xu Z, Li Y, Jiang SY, et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300(5): R1115-1125.
 27. Dehbashi M, Fathie M, Attarzadeh HSR, Mosafieri 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. *J Knowledge & Health* 2021; 15(4): 12-19.
 28. 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): 1301-1309.
 29. 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.
30. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes* 2013; 62(7): 2287-2294.
 31. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14(6): 753-760.
 32. arvish 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. *Phytother Res* 2021; 35(6): 3145-3156.
 33. Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Taheri S. The effects of hydroalcoholic extract of *Portulaca Oleracea* on the serum concentration of Hepatic enzymes in Rats. *Iran South Med J* 2014; 17(5): 889-899.
 34. Ou H-Y, Wu H-T, Hung H-C, Yang Y-C, Wu J-S, Chang C-J. Endoplasmic reticulum stress induces the expression of fetuin-A to develop insulin resistance. *Endocrinology* 2012; 153(7): 2974-2984.
 35. Pan X, Kaminga AC, Chen J, Luo M, Luo J. Fetuin-A and Fetuin-B in non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis and meta-regression. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17(8): 2735.
 36. Liu S, Xiao J, Zhao Z, Wang M, Wang Y, Xin Y. Systematic review and meta-analysis of circulating fetuin-A levels in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Transl Hepatol* 2021; 9(1): 3-14.
 37. Kim M, Lim SJ, Lee H-J, Kim SY, Nho CW. Gomisin J inhibits oleic acid-induced hepatic lipogenesis by activation of the AMPK-dependent pathway and inhibition of the hepatokine fetuin-A in HepG2 cells. *J Agric Food Chem* 2015; 63(44): 9729-9739.
 38. Trepanowski J, Mey J, Varady K. Fetuin-A: a novel link between obesity and related complications. *Int J Obes* 2015; 39(5): 734-741.
 39. Jung TW, Youn B-S, Choi HY, Lee SY, Hong HC, Yang SJ, et al. Salsalate and adiponectin ameliorate hepatic steatosis by inhibition of the hepatokine fetuin-A. *Bioch Pharmacol* 2013; 86(7): 960-969.
 40. Sardana O, Goyal R, Bedi O. Molecular and pathobiological involvement of fetuin-A in the pathogenesis of NAFLD. *Inflammopharmacology* 2021; 29(4): 1061-1074.
 41. Denecke B, Gräber S, Schäfer C, Heiss A, Wöltje M, Jahnen-Dechent W. Tissue distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem J* 2003; 376(1): 135-145.
 42. Lazo M, Solga SF, Horska A, Bonekamp S, Diehl AM, Brancati FL, et al. Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2010; 33(10): 2156-2163.
 43. Barikani A, Pashaeypoor S. Lifestyle in non-alcoholic fatty liver: A review. *IJNR* 2019; 13(6): 39-47.
 44. Malin SK, Mulya A, Fealy CE, Haus JM, PagadalaMR, Scelsi AR, et al. Fetuin-A is linked to improved glucose tolerance after short-term exercise training in nonalcoholic fatty liver disease. *J Appl Physiol* 2013; 115(7): 988-994.

45. Malin SK, Del Rincon JP, Huang H, Kirwan JP. Exercise-induced lowering of fetuin-A may increase hepatic insulin sensitivity. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46(11): 2085-2090.
46. Shahraki A, Vahidian-Rezazadeh M, Nikoofar M. Impact of aerobic and combined exercise training on serum levels of Fetuin-A and some metabolic syndrome indices of overweight and obese women: A clinical trial study. *Feyz* 2020; 24(3): 322-331.
47. Blumenthal JB, Gitterman A, Ryan AS, Prior SJ. Effects of exercise training and weight loss on plasma Fetuin-a levels and insulin sensitivity in overweight older men. *J Diabetes Res* 2017; 2017: 1492581.
48. Mukhopadhyay S, Bhattacharya S. Plasma fetuin-A triggers inflammatory changes in macrophages and adipocytes by acting as an adaptor protein between NEFA and TLR-4. *Diabetologia* 2016; 59(4): 859-860.
49. Ramírez-Vélez R, García-Hermoso A, Hackney AC, Izquierdo M. Effects of exercise training on Fetuin-a in obese, type 2 diabetes and cardiovascular disease in adults and elderly: a systematic review and Meta-analysis. *Lipids Health Dis* 2019; 18(1): 23.
50. Nemzer B, Al-Taher F, Abshiru N. Phytochemical composition and nutritional value of different plant parts in two cultivated and wild purslane (*Portulaca oleracea* L.) genotypes. *Food Chem* 2020; 320: 126621.
51. Uddin M, Juraimi AS, Hossain MS, Nahar M, Un A, Ali M, et al. Purslane weed (*Portulaca oleracea*): a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. *Scientific World Journal* 2014; 2014: 951019.
52. Jeyapal S, Kona SR, Mullapudi SV, Putcha UK, Gurumurthy P, Ibrahim A. Substitution of linoleic acid with α -linolenic acid or long chain n-3 polyunsaturated fatty acid prevents Western diet induced nonalcoholic steatohepatitis. *Sci Rep* 2018; 8(1): 1-14.
53. Lee JH, Park JE, Han JS. *Portulaca oleracea* L. extract reduces hyperglycemia via PI3k/Akt and AMPK pathways in the skeletal muscles of C57BL/Ksj-db/db mice. *J Ethnopharmacol* 2020; 260: 112973.
54. Lan S, Fu-er L. Effects of *Portulaca oleracea* on insulin resistance in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chinese J Integr Med* 2003; 9(4): 289-292.