Hakim Sabzevari University

Journal of Sport in Biomotor Sciences

Homepage:http://sbs.hsu.ac.ir

P- ISSN: 2228-723X
E- ISSN: 3041-959X

Sport and Biomotor Sciences ورزش و علوم زیست حرکتی

The effect of High-intensity interval training with Portulaca Oleracea Extract Supplementation on sirtuin 6 and insulin resistance in rats with non-alcoholic fatty liver disease

Mehri Sadat Fatemi[1], *Sadegh Cheragh-Birjandi*[2*], *Ali Kheyrandish*[3]

1. M.Sc Candidate, Department of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran. mehrisadatfatemi@gmail.com
2. Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran. s_birjandi2001@yahoo.com
3. Assistant Professor, Department of Motor Behavior, Birjand University of Technology, Birjand, Iran. kheyrandish@birjandut.ac.ir

Article Information

Article type: Research Article

Vol: 16
No: 32
P: 61-70
Received: 2024-04-06
Revised: 2024-09-05
Accepted: 2024-09-06

Cite this Article:

Mehri Sadat Fatemi, Sadegh Cheragh-Birjandi, Ali Kheyrandish. The effect of High-intensity interval training with Portulaca Oleracea Extract Supplementation on sirtuin 6 and insulin resistance in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Sport and Biomotor Sciences*. 2024-2025; 16(32): 61-70.
doi: 10.22034/sbs.2024.451340.1091

Publisher: Hakim Sabzevari University

© The Author(s)

10.22034/sbs.2024.451340.1091

Abstract

Introduction and Purpose: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) results from excessive triglyceride accumulation in the liver. NAFLD leads to inflammation and oxidative stress in the body. It appears that oxidative stress disrupts Sirtuin 6 (SIRT6) expression and accelerates telomere attrition. Therefore, the present study aims to investigate the effects of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) and purslane supplementation on SIRT6 levels and insulin resistance in rats with NAFLD.

Materials and methods: Twenty-five male Wistar rats, six weeks old, weighing between 160 and 185 grams, were randomly selected. To induce NAFLD, the rats were fed a high-fat diet for 12 weeks. They were then divided into five groups: healthy control, NAFLD control, exercise, purslane supplement, and exercise + purslane supplement. Purslane supplementation was administered to the relevant groups at a dose of 400 mg/kg based on body weight. The HIIT protocol lasted for eight weeks, five days per week, with seven one-minute repetitions at 90% of maximal speed, interspersed with two-minute active recovery periods at 20% of maximal speed. SIRT6 levels were measured using the Western blot method. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test at a significance level of $P \leq 0.05$.

Results: Insulin resistance was significantly higher in the NAFLD control group compared to the healthy control group. This indicator was significantly lower in the exercise, purslane supplement, and exercise + purslane supplement groups compared to the NAFLD control group. Additionally, SIRT6 protein levels were significantly lower in the NAFLD control group compared to the healthy control group. However, SIRT6 levels were significantly higher in the exercise, purslane supplement, and exercise + purslane supplement groups than in the NAFLD control group ($P \leq 0.05$).

Discussion and Conclusion: It appears that the combination of high-intensity interval training and purslane supplementation may serve as an adjunct therapy for individuals with non-alcoholic fatty liver disease.

Key Words: High-intensity interval training, Purslane supplement, Sirtuin 6, Insulin resistance, Non-alcoholic fatty liver disease.

Extended Abstract

1. Introduction and Purpose

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is becoming the most common chronic liver disease worldwide and the leading cause of liver cancer, liver transplantation, and fatal liver diseases.Recently, NAFLD has been attributed to a multifactorial process that includes lipotoxicity, chronic inflammation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction. Obesity, insulin resistance, and dyslipidemia are recognized as risk factors for NAFLD. Sirtuins are a group of NAD+-dependent protein deacetylases that play a role in regulating energy metabolism, stress responses, cell survival, and longevity. Sirtuin 6 (SIRT6) is a histone deacetylase that maintains lipid homeostasis mainly in a chromatin-dependent manner. SIRT6 suppresses free fatty acid and triglyceride synthesis, promotes fatty acid oxidation, regulates new cardiolipin biosynthesis, keeps LDL and cholesterol levels low, and suppresses gluconeogenesis. Studies have shown that increased physical activity reduces fat levels in the liver by decreasing lipogenesis and significantly lowering serum aminotransferase levels. In addition to reducing the expression of enzymes that limit the rate of fatty acid production in the liver and fatty acid synthetase, purslane extract can inhibit fat peroxidation due to its antioxidant properties. Therefore, intense interval training, in conjunction with caraway herbal supplements, may provide a new therapeutic strategy for people with NAFLD. Considering the limitations of existing studies, particularly concerning SIRT6, we investigate the effects of high-intensity interval training (HIIT) and purslane supplementation on SIRT6 levels and insulin resistance in rats with NAFLD.

2. Materials and Methods

Twenty-five male Wistar rats, aged six weeks and weighing 160-185 grams, were purchased from Bojnord University of Medical Sciences. They were housed for 20 weeks under controlled conditions regarding light, temperature, and humidity. The rats were fed a high-fat diet for 12 weeks. To confirm the presence of fatty liver disease, liver enzyme levels were tested, and an increase in these enzymes was used as a criterion for inclusion in the study. The rats were then randomly divided into five groups: 1) healthy control, 2) fatty liver control, 3) exercise, 4) purslane supplement, and 5) exercise + purslane supplement. The rats in the training group exercised five days a week with two rest days in between and on weekends for eight weeks. Purslane plant powder was administered via gavage to the respective groups at a dose of 400 mg per kg based on the rats' weight. Forty-eight hours after the last training session, the rats were anesthetized using an intraperitoneal injection of ketamine (60-80 mg/kg body weight) and xylazine (8 mg/kg body weight). A slit was then made in their abdomen, and liver tissue was isolated in less than one minute. Hepatic SIRT6 levels were measured using the western blot method.

3. Results

Insulin resistance in the fatty liver control group was significantly higher than in the healthy control group. The levels of this index in the exercise group, purslane supplement group, and the exercise + purslane supplement group were significantly lower than in the fatty liver control group. Additionally, the level of sirtuin 6 protein in the fatty liver control group was significantly lower than in the healthy control group. The levels of this index in the exercise group, purslane supplement group, and exercise + purslane supplement group were significantly higher than in the fatty liver control group ($P \leq 0.05$). Regarding sirtuin 6 and insulin resistance, no significant differences were observed among the healthy control group, exercise group, purslane supplement group, and exercise + purslane supplement group ($P > 0.05$).

4. Conclusions

The results of the present study demonstrate the positive effects of intense intermittent exercise and purslane extract on SIRT6 levels and insulin resistance in rats with NAFLD. Therefore, it appears that these exercises, either alone or in combination with the consumption of purslane extract, can help prevent the progression of the disease and reduce its complications.

5. Acknowledgment & Funding

Authors are thankful to all interview participants for supporting this research.

6. Ethical Consideration

All procedures related to animals were carried out in accordance with the ethical guidelines and the permission of the research assistant of the Islamic Azad University of Bojnourd branch, with the code of ethics IR.IAU.BOJNOURD.REC.1401.003.

7. Contribution of authors

All authors have contributed to the article. all authors read and approved the final manuscript.

8. Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

.

ورزش و علوم زیست حرکتی

دانشگاه حکیم سبزواری

تأثیر تمرین تناوبی شدید با عصاره خرفه بر روی سیرتوئین ۶ و مقاومت به انسولین موش‌های دارای کبدچرب غیرالکلی

مهری سادات فاطمی[۱]، صادق چراغ بیرجندی[۲*]، علی خیراندیش[۳]

۱. کارشناس‌ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی و علوم‌ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران. mehrisadatfatemi@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، تربیت‌بدنی و علوم‌ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران. s_birjandi2001@yahoo.com
۳. استادیار، گروه رفتار حرکتی، دانشگاه صنعتی بیرجند، بیرجند، ایران. kheyrandish@birjandut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی
دوره: ۱۶
شماره: ۳۲
صفحه: ۷۰-۶۱
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۱۸
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۶/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۱۶

نحوه ارجاع به این مقاله:
مهری سادات فاطمی، صادق چراغ‌بیرجندی، علی خیراندیش. تأثیر تمرین تناوبی شدید با عصاره خرفه بر روی سیرتوئین ۶ و مقاومت به انسولین موش‌های دارای کبدچرب غیرالکلی. نشریه ورزش و علوم زیست حرکتی. ۱۴۰۳؛ ۱۶(۳۲): ۶۱-۷۰.
Doi:10.22034/sbs.2024.451340.1091

ناشر: دانشگاه حکیم سبزواری

© نویسنده(گان).

10.22034/sbs.2024.451340.1091

چکیده

مقدمه و هدف: بیماری کبدچرب غیرالکلی از تجمع بیش از حد تری‌گلیسرید در کبد به وجود می‌آید. NAFLD در بدن منجر به التهاب و فشار اکسایشی می‌شود، به‌نظر می‌رسد براثر فشار اکسایشی بیان سیرتوئین ۶ دچار اختلال شده و تلومر دچار فرسایش می‌شود. بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی هشت هفته تمرینات تناوبی شدید (HIIT) و مصرف مکمل خرفه بر سطح SIRT6 و مقاومت به انسولین در موش‌های دارای کبدچرب غیرالکلی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن شش هفته و با دامنه وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۵ گرم، به طور تصادفی انتخاب و برای القای NAFLD، موش‌ها به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند. سپس موش‌ها در پنج گروه کنترل سالم، کنترل کبدچرب، تمرین، مکمل خرفه و تمرین+مکمل خرفه قرار گرفتند. مکمل خرفه با توجه به وزن موش‌ها با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به گروه‌های مربوطه خورانده شد. پروتکل تمرینی HIIT به مدت ۸ هفته ۵ روز در هفته با ۷ تکرار یک دقیقه ای با شدت ۹۰ درصد سرعت بیشینه انجام شد که با تناوب‌های استراحت فعال شامل ۲ دقیقه دویدن با شدت ۲۰ درصد بیشینه همراه بود. میزان SIRT6 باروش وسترن بلات اندازه‌گیری شد . داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $P\leq ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبدچرب به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود. سطح این شاخص در گروه تمرین، مکمل خرفه و تمرین+مکمل خرفه به‌طور معناداری پایین تر از گروه کنترل کبدچرب بود. همچنین سطح پروتئین سیرتوئین ۶ در گروه کنترل کبدچرب به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم پایین‌تر بود. سطح این شاخص در گروه تمرین، مکمل خرفه و تمرین+مکمل خرفه به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل کبدچرب بود ($P\leq ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد ترکیب تمرین تناوبی شدید با مصرف مکمل خُرفه می‌تواند به‌عنوان درمان مکمل در افراد مبتلا به کبدچرب غیرالکلی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، مکمل خرفه، سیرتوئین ۶، مقاومت به انسولین، کبدچرب غیرالکلی

مقدمه

در سراسر جهان بیماری کبدچرب غیرالکلی[1] (NAFLD) در حال تبدیل شدن به شایع‌ترین بیماری مزمن کبدی و عامل اصلی سرطان کبد[2](HCC)، پیوند کبد و بیماری‌های مرگ آور کبد است. هرچند تاثیر NAFLD باعث ایجاد نگرانی در جهان شده است، مکانیسم اساسی که باعث شروع NAFLD می‌شود، مبهم باقی مانده است (۱). این بیماری شامل طیف وسیعی از بیماری‌ها می‌شود که عبارتند از: کبدچرب غیر الکلی (NAFL) و استئاتوهپاتیت غیر الکلی[3] (NASH)، فیبروز[4] و سیروز[5] (۲). اخیرا بیماری NAFLD به یک فرایند چندضربه‌ای[6] نسبت داده شده است که شامل سمیت چربی، التهاب مزمن، استرس اکسایشی و اختلال در عملکرد میتوکندری است. چاقی، مقاومت به انسولین[7] و دیس‌لیپیدمی عوامل خطرزا برای NAFLD هستند (۳). در سال‌های اخیر نشان داده شده است که سیرتوئین‌ها[8] گروهی از پروتئین‌ها هستند که نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های متابولیک مختلف از جمله NAFLD دارند (۴). سیرتوئین‌های ۱ تا ۷ دارای موقعیت و عملکرد درون سلولی متفاوتی هستند و عملکرد پروتئین سلولی را از طریق تغییرات مختلف پس از ترجمه تنظیم می‌کنند (۵). سیرتوئین‌ها همچنین گروهی از پروتئین داستیلازهای وابسته به + NAD هستند که در تنظیم متابولیسم انرژی، پاسخ‌های استرسی، بقای سلول و طول عمر نقش دارند (۶). سیرتوئین ۶[9] (SIRT6) یک هیستون داستیلاز[10] (HDAC) است که هموستاز چربی را عمدتاً به روشی وابسته به کروماتین حفظ می‌کند. کبدچرب انسان و موش سطوح کاهش یافته SIRT6 را نشان می‌دهند. SIRT6 سنتز اسیدهای چرب آزاد و تری‌گلیسرید (TG) را سرکوب می‌کند، اکسیداسیون اسیدهای چرب را ترویج می‌کند، بیوسنتز جدید کاردیولیپین[11] (CL) را تنظیم می‌کند، سطوح LDL[12] و کلسترول را پایین نگه می‌دارد و گلوکونئوژنز را سرکوب می‌کند (۷). این را هم اضافه کنیم که SIRT6 از عواملی است که در به تأخیرانداختن پیری نقش برجسته‌ای دارد. از بین سیرتوئین‌های ۱ تا ۷ که در پستانداران شناسایی شده است، SIRT6 تنظیم‌کننده مهم فرایندهای مختلف ازجمله بازسازی DNA، بیان ژن، حفظ تلومرها، متابولیسم و پیری است. بیش‌بیانی SIRT6 طول عمر موش‌های نر را تا ۱۵ درصد افزایش می‌دهد که احتمالاً با کاهش مسیر پیامرسانی IGF-1 به‌ویژه در بافت چربی سفید حاصل می‌شود (۶). در میان سیرتوئین‌ها، SIRT1 و SIRT6 نقش‌های تنظیم‌کننده متابولیک برجسته‌ای دارند. علاوه بر این، SIRT1 و SIRT6 در چاقی، مقاومت به انسولین، دیابت نوع دو[13]، بیماری کبدچرب و بیماری‌های قلبی عروقی نقش دارند (۸). مقاومت به انسولین نیز به عنوان یکی از عوارض چاقی و اضافه وزن با کاهش پاسخ گیرنده‌های دیوار سلولی به انسولین در خون ایجاد شده و باعث افزایش قندخون و افزایش غلظت اسیدهای چرب آزاد می‌گردد (۹). بیماران سیروز کبدی دارای شیوع بالایی از دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین هستند (۱۰). با توجه به این که اکثر بیماران مبتلا به NAFLD، چاق می‌باشند، احتمالا درمان چاقی به وسیله فعالیت بدنی، خطر ابتلا به کبدچرب را کاهش خواهد داد (۱۱). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت بدنی بیشتر با کاهش لیپوژنز و کاهش قابل توجه آمینوترانسفراز سرم باعث کاهش سطح چربی در کبد می‌شود. آزمایش‌های بالینی و مطالعات روی حیوانات نشان داده‌اند که تمرینات تناوبی (۳۰ ثانیه تا ۴ دقیقه) غلظت TG در گردش خون، وضعیت فشار خون، حساسیت به انسولین، کنترل قند خون و ظرفیت هوازی را بهبود می‌بخشد (۲). علاوه بر این، تمرین تناوبی با شدت بالا[14] (HIIT) با کاهش شاخص‌های پیش‌التهابی و افزایش شاخص‌های ضدالتهابی بر سیستم ایمنی بدن تأثیر می‌گذارد. به طور کلی، اکثر مطالعات نشان داده اند که HIIT باید به عنوان بخشی از یک برنامه درمانی برای بیماران مبتلا به کبدچرب انجام شود (۲, ۱۰, ۱۲, ۱۳).

کیوانی و همکاران (۲۰۲۰) دریافتند که هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) افزایش معنادار پروتئین SIRT6 در سالمندان را به‌دنبال داشت (۶). اما کاروینن و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که دویدن اختیاری روی چرخ گردان ممکن است سطوح SIRT6 را در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی افزایش دهد که البته این افزایش از نظر آماری معنادار نبوده است (۱۴).

خرفه با نام علمی پرتولاکا اولراکیا[15] می‌تواند به عنوان درمان دارویی برای NAFLD با حداقل عوارض درنظر گرفته شود (۱۰). خرفه گیاهی علفی با خواص دارویی است که شامل میزان زیادی از اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶، عناصر معدنی و ترکیبات فنولی است. خرفه بخاطر داشتن درصد زیادی از ویتامین E و C و بتاکاروتن دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشد (۱۵). عصاره خرفه علاوه بر کاهش بیان آنزیم‌های محدودکننده سرعت ساخت اسید چرب

1. Nonalcoholic fatty liver disease
2. Hepatocellular carcinoma
3. non-alcoholic steatohepatitis
4. fibrosis
5. cirrhosis
6. Multi-hit
7. Insulin resistance (IR)
8 .Sirtuins
9. Sirtuin 6
10. histone deacetylase
11. cardiolipin
12. low-density lipoprotein
13. Type 2 diabetes
14. high-intensity interval training
15. Portulaca Oleracea

در کبد و اسید چرب سنتتاز، به واسطه دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند پراکسیداسیون چربی را مهار کند (۱۶). عصاره خرفه همچنین دارای خاصیت هیپولیپیدمیک بوده و حاوی مقادیر زیادی آلکالوئیدهای فنولیک است که با افزایش اسیدهای چرب غیراشباع، ساخت کلسترول را مهار می‌کند. در این راستا زارعی و همکاران (۲۰۲۲) نتیجه گرفتند که HIIT به همراه مصرف مکمل خرفه ممکن است با بهبود تنظیم مسیرهای تولید چربی در کبد، در درمان NAFLD موثر باشد (۱۷). رعنایی و همکاران (۲۰۲۳) نیز گزارش کردند که HIIT به همراه مصرف مکمل خرفه از طریق کاهش کمرین[1] و مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به NAFLD می‌تواند نقش مهمی در کنترل پیشرفت این بیماری داشته باشد (۱۸).

بنابراین از آنجا که بیماری‌زایی NAFLD به سندروم متابولیک و اجزای آن مربوط است و تمرینات تناوبی شدید در هم‌افزایی با مکمل گیاهی خُرفه ممکن است یک استراتژی جدید درمانی برای افراد مبتلا به NAFLD به همراه داشته باشد. با در نظرگرفتن محدودیت مطالعات انجام‌شده به‌خصوص در مورد SIRT6، به بررسی تاثیر HIIT و مکمل خرفه برروی SIRT6 و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD می‌پردازیم.

روش‌شناسی

در پژوهش حاضر، پس از گرفتن مجوز کد اخلاق به شماره IR.IAU.BOJNOURD.REC.1401.003 و حمایت از کار با حیوانات آزمایشگاهی، ۲۵ سر موش نر نژاد ویستار با سن شش هفته و با وزن ۱۶۰ تا ۱۸۵ گرم از دانشگاه علوم پزشکی بجنورد خریداری شدند. سپس در آزمایشگاه این دانشگاه به مدت ۲۰ هفته شبانه روز در شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت نگهداری شدند. موش‌ها به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین) قرار گرفتند (۱۷). برای اطمینان از ابتلا به کبدچرب سطح آنزیم‌های کبدی موش مورد آزمایش قرار گرفت و افزایش آنزیم‌ها به عنوان معیار ورود به پژوهش در نظر گرفته شد. همچنین، چون هدف این پژوهش بررسی اثر مستقل تمرین ورزشی و عصاره گیاهی دانه خرفه است؛ گروه‌ها تا انتهای پژوهش، با رژیم غذایی پرچرب، تغذیه شدند.

موش‌های مبتلا به NAFLD به طور تصادفی به پنج گروه پنج تایی شامل ۱- کنترل سالم ۲- کنترل کبدچرب ۳- تمرین ۴- مکمل خرفه ۵- تمرین+مکمل خرفه تقسیم و نگهداری شدند. برنامه تمرین تناوبی شدید (HIIT) به این صورت بود که گروه‌های تمرین در هر هفته پنج روز تمرین کردند که بر روی تردمیل مدل حیوانی انجام شد. موش‌های گروه تمرین قبل از شروع برنامه ورزشی اصلی به مدت یک هفته تمرین (با سرعت ۶،۸،۱۰ متر بر دقیقه به عنوان مرحله آشنایی با نوارگردان و الگوی دویدن) را انجام دادند. جهت تعیین حداکثر اکسیژن مصرفی از آزمون فزاینده بدفورد و همکاران (۱۹۷۹) (۱۹)، که برای موش‌های نژاد ویستار استانداردسازی شدند استفاده شد که بر همین اساس، حداکثر سرعت دویدن در هر رت تا رسیدن به واماندگی ثبت شد. البته به دلیل چاق بودن موش‌ها پروتکل با شیب صفر اجرا و به پایان رسید. بعد از دو روز استراحت پس از مرحله آشنایی، برنامه ورزشی با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه که معادل هفت تلاش یک دقیقه‌ای و سرعت ۳۰ متر/ دقیقه و استراحت فعال بین اینتروال‌ها با شدت ۱۵ درصد سرعت بیشینه درهفته اول انجام شد که تدریجا با افزایش متوسط سرعت بیشینه ۸۰ درصد 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. تناوب‌های استراحت فعال شامل دو دقیقه دویدن با شدت ۳۰ درصد سرعت بیشینه از هفته اول تا سوم و ۲۰ درصد در ابتدای هفته چهارم تا پایان دوره تمرین بود. شروع تمرین با گرم کردن به مدت سه دقیقه با شدت۱۰ متر در دقیقه و دو دقیقه با شدت ۱۵ متر و سرد کردن به مدت یک دقیقه با شدت ۱۵ متر در دقیقه و دو دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه به پایان رسید. موش‌ها درگروه تمرین، پنج روز در هفته با دو روز استراحت در وسط و آخر هفته به مدت هشت هفته تمرین کردند. جدول ۱ خلاصه برنامه تمرینی را نمایش می‌دهد (۳). برگ گیاه خرفه از منطقه رویش آن در خراسان رضوی جمع‌آوری و پس از تایید کارشناس گیاه‌شناسی توسط آب شستشو داده شد و بعد از خشک شدن آسیاب شد تا پودر شود. پودر گیاه خرفه با اتانول آبی ۸۰ درصد استخراج شد و با تعیین محتوای اسید لینولئیک عصاره‌ها استاندارد شد. پس از تایید در آزمایشگاه کنترل کیفی براساس وزن موش با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به گروه‌های مربوطه به‌صورت گاواژ خورانده شد (۳).

به‌منظور اجتناب از تفسیر اشتباه داده‌ها به دلیل آثار باقیمانده از تمرینات ورزشی، موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ناشتایی شبانه بیهوش شدند. بیهوشی با استفاده از تزریق درون صفاقی ترکیبی از داروی کتامین (۶۰ تا۸۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (هشت میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) انجام گرفت. بعد از آن شکم حیوان شکافته و در کمتر از یک دقیقه بافت کبد جدا و با محلول طبیعی سالین به خوبی شست و شو داده شد تا خون اضافی روی بافت پاک شود. سطح SIRT6 کبدی به روش

1. Chemerin

وسترن بلات اندازه گیری شد. از جمله دقیق‌ترین و حساس‌ترین تکنیک‌های آشکارسازی باند پروتئینی موردنظر (که با آنتی بادی اولیه اختصاصی خود شناسایی شده است) استفاده از کیت‌های Chemoluminescnce می‌باشد. کیت ECL advanced reagents که در این بررسی استفاده شد شامل non-fat milk و Reagents A,B است و برای آشکارسازی Reagents A,B با نسبت ۱:۱ مخلوط شده و حجم نهایی محلول مذکور برای هر سانتی‌متر مکعب از کاغذ ۰/۱ میلی‌لیتر در نظر گرفته می‌شود. سطوح آنزیم‌های ALT، AST و گلوکز با استفاده از کیت اندازه‌گیری و به وسیله روش کالریمتریک توسط دستگاه اتوآناالایزر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقادیر انسولین (کیت سنجش‌های بیولوژیکی به ترتیب و با حساسیت 0/031 ng/ml و0/023 ng/ml) از روش الایزا استفاده شد (۲۰). شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) از حاصل‌ضرب مقدار گلوکز (میلی‌مول در لیتر) در انسولین ناشتا (میلی واحد بین‌المللی در لیتر) تقسیم بر ۲۲/۵ محاسبه شد (۱۰).

جدول ۱. برنامه تمرین تناوبی شدید

هفته‌های تمرین	HIIT		REST	
	تعداد ست‌ها (یک دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)	تعداد ست (یک دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)
اول	۷	۳۰	۶	۱۵
دوم	۸	۳۰	۷	۱۵
سوم	۸	۳۴	۷	۱۷
چهارم	۹	۳۸	۸	۱۹
پنجم	۹	۴۲	۸	۲۱
ششم	۹	۴۶	۸	۲۳
هفتم	۹	۵۰	۸	۲۳
هشتم	۹	۵۴	۸	۲۵

روش‌های آماری

پس از جمع‌آوری داده‌ها و ورود اطلاعات به نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۵، داده‌های خام مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، به‌طوری‌که برای محاسبه شاخص‌های گرایش مرکزی و پراکندگی و رسم نمودارهای متغیرها از آمار توصیفی استفاده شد. پس از تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو–ویلک، بررسی همگن بودن داده‌ها توسط آزمون لون، برای بررسی معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه (آنوا) و برای مقایسه تفاوت‌های بین گروهی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. آزمون فرضیه‌ها با سطح معناداری P≤۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته‌ها

مقادیر انسولین، گلوکز و آنزیم‌های کبدی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. مقادیر انسولین، گلوکز و آنزیم‌های کبدی

	کنترل سالم	کنترل کبدچرب	تمرین	مکمل خرفه	تمرین+مکمل خرفه
AST (U/ml)	۱۱۳/۴۵±۱۲/۴۱	۳۴۱/۱۰±۳۵/۲۱	۱۴۲/۲۳±۱۹/۱۵	۱۳۲/۱۲±۱۷/۶	۱۴۵/۲۸±۲۰/۱۲
ASL (U/ml)	۸۷/۵۱±۹/۴۵	۲۲۰/۸۲±۲۷/۸۰	۹۵/۱۶±۱۴/۱۸	۹۳/۵۵±۱۳/۴۱	۹۲/۸۱±۸/۷۵
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۱۷/۳۷±۹/۹۳	۱۶۷/۰۱±۱۸/۵	۱۳۰/۷۹±۸/۸۴	۱۳۳/۶±۱۱/۴۸	۱۱۵/۴±۵/۴۱
انسولین (نانوگرم در میلی‌لیتر)	۱/۷۶±۰/۲۵	۳/۶۸±۱/۸۱	۰/۹۸±۰/۲۵	۱/۲۸±۰/۹۶	۰/۷۲±۰/۳۷

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین سطح SIRT6 در گروه‌های تحقیق پس از هشت هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معناداری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح SIRT6 در گروه کنترل کبدچرب به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم پایین‌تر بود (P=۰/۰۰۱). سطح SIRT6 در گروه‌های تمرین و مکمل خرفه و تمرین+مکمل خرفه به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل کبدچرب بالاتر بود (P<۰/۰۰۱). بین سطح SIRT6 در گروه‌های کنترل سالم، تمرین، مکمل خرفه و تمرین+مکمل خرفه تفاوتی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین سطح مقاومت به انسولین در گروه‌های تحقیق پس از هشت هفته HIIT و مصرف عصاره خرفه، تفاوت معناداری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). در ادامه نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح مقاومت به انسولین در گروه کنترل کبدچرب به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم بالاتر بود (P=۰/۰۰۱). مقاومت به انسولین در گروه‌های تمرین و مکمل خرفه و تمرین+مکمل خرفه به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل کبدچرب پایین‌تر بود (P<۰/۰۰۱). بین سطح مقاومت به انسولین در گروه‌های کنترل سالم، تمرین، مکمل خرفه و تمرین+مکمل خرفه تفاوتی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۳. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفـه شاخص‌های مورد بررسی در گروه‌ها

متغیر	گروه‌ها	میانگین±انحراف معیار	آماره	P
SIRT6 (ng/mg)	کنترل سالم	۱/۹۳±۰/۱۸	۱۱/۸۷	۰/۰۰۱*
	کنترل کبدچرب	۰/۹۱±۰/۲۳		
	تمرین	۲/۱۲±۰/۳۵		
	مکمل خرفه	۱/۹۱±۰/۳۹		
	تمرین+مکمل خرفه	۲/۱۵±۰/۱۸		
مقاومت به انسولین	کنترل سالم	۴/۹۴±۰/۷۰	۲۱/۵	۰/۰۰۱*
	کنترل کبدچرب	۷/۳۴±۰/۳۱		
	تمرین	۵/۳۶±۰/۷		
	مکمل خرفه	۵/۶۸±۱/۲۳		
	تمرین+مکمل خرفه	۵/۴±۰/۹۵		

* معنی داری در سطح P≤۰/۰۵

جدول ٤. نتایج آزمون تعقیبی توکی مربوط به تفاوت‌های بین‌گروهی در متغیرهای مورد مطالعه

گروه‌ها		SIRT6	مقاومت به انسولین
تمرین+مکمل خرفه	کنترل سالم	۰/۲۳۴	۰/۳۲۴
	کنترل کبدچرب	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*
	تمرین	۰/۵۷۳	۰/۳۶۴
	مکمل خرفه	۰/۲۱۶	۰/۱۶۸
تمرین	کنترل سالم	۰/۱۲۷	۰/۲۵۷
	کنترل کبدچرب	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*
	مکمل خرفه	۰/۲۶۳	۰/۴۳۶
مکمل خرفه	کنترل سالم	۰/۲۴۵	۰/۲۸۵
	کنترل کبدچرب	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*
کنترل کبدچرب	کنترل سالم	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*

* معنی داری در سطح P≤۰/۰۵

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر هشت هفته HIIT و مکمل خرفه برروی SIRT6 و مقاومت به انسولین در موش‌های نر مبتلا به NAFLD بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اجرای هشت هفته HIIT و مکمل خرفه موجب کاهش معنادار شاخص مقاومت به انسولین موش‌های نر مبتلا به NAFLD شده و همچنین سطح SIRT6 به طور معنادار در مقایسه با گروه کنترل کبدچرب افزایش یافت.

همسو با پژوهش حاضر، ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) دریافتند که هشت هفته تمرینات شنا، مقاومت به انسولین را کاهش داده و انتقال سیگنال انسولین با واسطه SIRT6 را در کبد موش‌های چاق بهبود می‌بخشد (۲۱). حذف Sirt6 در موش سبب هیپوگلیسمی شدید می‌شود. کمبود Sirt6 منجر به استئاتوز کبد شده و چاقی ناشی از رژیم‌غذایی و مقاومت به انسولین را افزایش می‌دهد (۲۲). کنوال و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که موش‌های تراریخته Sirt6 (Tg.Sirt6)[1] از چاقی و مقاومت به انسولین در هنگام تغذیه با رژیم غذایی پرچرب و پرساکاروز[2]

1. Sirt6 transgenic

2. high-fat, high-sucrose

محافظت شدند (۲۳). شاه‌حسینی و همکاران (۲۰۲۱) دریافتند که شش هفته تمرین تناوبی خیلی شدید شنا سبب افزایش معنادار بیان ژن SIRT6 در موش‌های پیر گردید (۲۴). محمدخانی و همکاران (۲۰۲۳) نیز نشان دادند که HIIT توسط مادر می‌تواند SIRT6 را در قلب فرزندان ماده بالغ نژاد ویستار افزایش دهد. بنابراین، یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که HIIT یک رفتار مثبت مادر قبل و در طول بارداری است که می‌تواند بر سلامت قلب در نسل بعدی تأثیر بگذارد (۲۵). له‌له‌ای و حق‌شناس (۲۰۲۳) نیز دریافتند که با استفاده از هشت هفته تمرین هوازی نوردیک[1] که گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین را در زنان سالمند مبتلا به دیابت را کاهش و PGC1α[2] و SIRT6 را افزایش می‌دهد می‌توان به بهبود سیستم متابولیک بدن سالمندان کمک نمود (۲۶). در خانواده سیرتوئین‌ها در پاسخ به فعالیت ورزشی به‌خصوص در بیماران مبتلا به NAFLD، در بیشتر مطالعات به بررسی تغییرات SIRT1 و SIRT3 پرداخته شده است. به عنوان مثال رعنایی و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که HIIT و مصرف عصاره خرفه از طریق افزایش سطح SIRT1 و کاهش مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا بهNAFLD احتمالاً نقش مهمی را در کنترل پیشرفت این بیماری بر عهده داشته باشند (۳). کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) نیز دریافتند که HIIT و همچنین امگا_۳ در شرایط NAFLD قادر به تعدیل بیوژنز میتوکندری از طریق افزایش در ژن‌های مؤثر مانند SIRT3 در این مسیر است (۲۷). اکبری و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که ۱۲ هفته HIIT و تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)[3] می‌تواند نقش مهمی در افزایش SIRT1 چربی احشایی موش‌های نر داشته باشد و به‌واسطه آن می‌تواند در کاهش مقاومت به انسولین موثر باشد. همچنین به‌نظر می‌رسد افزایش در SIRT1 وابسته به شدت تمرین ورزشی باشد (۲۸). چراغ بیرجندی و همکاران (۲۰۲۴) افزایش معنادار SIRT1 و کاهش معنادار مقاومت به انسولین را پس از هشت هفته تمرینات پیلاتس و هوازی در زنان مبتلا به دیابت نوع دو را گزارش کردند (۹). افضل‌پور و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که شش هفته HIIT و تمرین تداومی سبب افزایش سطح SIRT3 بافت کبد در موش‌های نر نژاد ویستار گردید (۲۹). ناهمسو با پژوهش حاضر، کولتای و همکاران (۲۰۱۰) کاهش معنادار SIRT6 بعد از شش هفته تمرین استقامتی در موش‌های پیر نشان دادند و در موش‌های جوان هم تغییرات SIRT6 معنادار نبود (۳۰). شاید بتوان این تناقض را به تفاوت در نوع تمرین نسبت داد یا شاید بخشی از تناقض موجود با نتایج مطالعه حاضر را بتوان به جایگاه بررسی SIRT6 نسبت داد که در تحقیق حاضر مقادیر سرمی آن بررسی شده است و تغییرات آن ممکن است از تغییرات در سطح بافت‌های گوناگون متفاوت باشد؛ هرچند برای تایید این نتایج باید مطالعات بیشتری به‌خصوص روی سطوح سرمی عوامل یادشده انجام شود (۶). یکی از مکانیسم‌های مهم و مورد مطالعه، مقاومت به انسولین است که از نظر مکانیکی در بافت‌های محیطی همچون بافت چربی سبب سرکوب ناقص لیپاز می‌شود و موجب افزایش لیپولیز و آزادسازی اسیدهای چرب آزاد[4] که توسط کبد جذب می‌شوند، می‌گردد. لذا بهبود مقاومت به انسولین احتمالا انتقال اسیدهای چرب آزاد به کبد را کاهش می‌دهد (۳۱). در ادامه همسو با کاهش معنادار مقاومت به انسولین، خراسانی طرقی و یعقوبی (۲۰۲۲) و حسینی و چراغ بیرجندی (۲۰۲۳) نشان دادند که هشت هفته HIIT همراه با مصرف مکمل خرفه سبب کاهش معنادار مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD گردید (۱۰, ۳۲). اما در پژوهش استپتو و همکاران (۲۰۲۰) با عنوان تمرین و مقاومت به انسولین در افراد مبتلا به PCOS[5] در مدت ۱۲ هفته تمرین استقامتی، میزان مقاومت به انسولین تغییری نکرد. با توجه به اینکه PCOS موجب کاهش در سیگنالینگ mTOR[6] می‌شود و تحقیقات نشان داده‌اند در اثر تمرینات هوازی این نقص سیگنالینگ بهبود می‌یابد، اما هیچ تفاوتی در فعالیت AKT و بیان GLUT-4 که در مسیر سلولی مولکولی مقاومت به انسولین دخیل است، به وجود نیامد. احتمالا این نتایج متناقض، به دلیل تعداد کم آزمودنی‌ها باشد (۳۳).

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج پژوهش حاضر بیان کننده تاثیر مثبت تمرین تناوبی شدید و عصاره خرفه بر سطح SIRT6 و مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به NAFLD می‌باشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد این تمرینات به تنهایی و همراه با مصرف عصاره خرفه می‌تواند از پیشرفت بیماری جلوگیری کرده و به کاهش عوارض آن کمک کند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات اساتید محترم، که در انجام این مطالعه کمال همکاری را داشته‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

1. Nordic training
2. Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1-α
3. moderate intensity continuous training
4. Free Fatty Acids (FFAs)
5. polycystic ovary syndrome
6. Mammalian target of rapamycin

منابع

1. Kazemi M, Abdi A, Barari A, Mehrabani J. The effect of interval training and omega-3 on endoplasmic reticulum stress in the liver tissue of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats. *Medical Science Journal of Islamic Azad Univesity-Tehran Medical Branch*. 2024;34(1):25-36.[10.61186/iau.34.1.3] [In Persian]
2. 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. *Obesity Medicine*. 2020;17:100177.[10.1016/ j.obmed.2019.100177]
3. Ranaei M, Yaghoubi A, Cheragh-Birjandi S. Effect of high-intensity interval training and portulaca oleracea extract supplementation on FGF-21 level and insulin resistance in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2023.[10.18502/ssu.v31i3.12806] [In Persian]
4. Bedalov A, Chowdhury S, Simon J. Biology, chemistry, and pharmacology of sirtuins. *Methods in enzymology*. 574: Elsevier; 2016. p. 183-211.[10.1016/bs.mie.2016.03.011]
5. Nassir F, Ibdah JA. Sirtuins and nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*. 2016;22(46):10084.[10.3748/wjg.v22.i46.10084]
6. Keyvani F, Kordi MR, Maghbooli Taghidizaj Z, Shabkhiz F. The effect of eight weeks high intensity interval training on serum levels of telomerase enzyme and sirtuin 6 protein in aged men. *Sport Physiology*. 2020;12(45):17-30.[doi.org/10.22089/spj.2019.1608] [In Persian]
7. Hou T, Tian Y, Cao Z, Zhang J, Feng T, Tao W, et al. Cytoplasmic SIRT6-mediated ACSL5 deacetylation impedes nonalcoholic fatty liver disease by facilitating hepatic fatty acid oxidation. *Molecular Cell*. 2022;82(21):4099-115. e9.[10.1016/j.molcel.2022.09.018]
8. Zhou S, Tang X, Chen H-Z. Sirtuins and insulin resistance. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:421838 .[10.3389/ fendo.2018.00748]
9. Cheragh-Birjandi S, Kheyrandish A, Tara SS, Sharifian SS, Masoodi H, Asghari S. The effect of Pilates and aerobic training on serum levels of sirtoin-1, plasminogen activator inhibitor-1 and insulin resistance index in women with type 2 diabetes. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2024(Articles in Press).[10.22049/jahssp.2024. 29241.1610] [In Persian]
10. Hosseini Z, Cheragh-Birjandi S. The effect of high-intensity interval training with portulaca oleracea hydroalcoholicextract on gene expression of selenoprotein P (SeP) and insulin resistance in rats with nonalcoholic fatty liver. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*. 2023;30(3):257-67. [In Persian]
11. Ghorbanian B, Egtesadi S. The effect of high intensity interval training (HIIT) on serum levels of selenoprotein P and glycemic and body composition indices in women with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2022;9(1):12-21.[10.22049/jahssp.2021.27318.1367] [In Persian]
12. Winn NC, Liu Y, Rector RS, Parks EJ, Ibdah JA, Kanaley JA. Energy-matched moderate and high intensity exercise training improves nonalcoholic fatty liver disease risk independent of changes in body mass or abdominal adiposity—a randomized trial. *Metabolism*. 2018;78:128-40.[10.1016/j.metabol.2017.08.012]
13. Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, Cassidy S, Anstee QM, Day CP, et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Clinical science*. 2015;129(12):1097-105.[10.1042/CS20150308]
14. Karvinen S, Silvennoinen M, Vainio P, Sistonen L, Koch LG, Britton SL, et al. Effects of intrinsic aerobic capacity, aging and voluntary running on skeletal muscle sirtuins and heat shock proteins. *Experimental gerontology*. 2016;79:46-54.[10.1016/j.exger.2016.03.015]
15. Kumar A, Sreedharan S, Kashyap AK, Singh P, Ramchiary N. A review on bioactive phytochemicals and ethnopharmacological potential of purslane (Portulaca oleracea L.). *Heliyon*. 2022;8(1).[10.1016/j.heliyon. 2021.e08669]
16. Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Rasekh F, Ramazani M. The effects of Portulaca oleracea alcoholic extract on induced hypercholesteroleomia in rats.*Zahedan journal of research in medical sciences*.2013;15 .(6)
17. Zarei M, Kadkhoda Z, Yaghoubi A. Effect of high-intensity interval training with portulaca oleracea supplementation on liver LXα and PPARγ receptors in rats with nonalcoholic fatty liver disease. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2022;24.178.87:(3) [In Persian]
18. Ranaei M, Yaghoubi A, Cheragh-birjandi S. Changes in chemerin level and insulin resistance in rats with non-alcoholic fatty liver disease: effect of high intensity interval training and portulaca oleracea extract. *medical journal of mashhad university of medical sciences*. 2023;65(6):2273-84.[10.22038/mjms.2023.69700.4135] [In Persian]
19. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *Journal of Applied Physiology*. 1979;47(6):1278-83.[10.1152/jappl. 1979.47.6.1278]
20. Dehbashi M, Fathi M, Attarzadeh Hosseini SR, Mosaferi Ziaaldini M. The Effect of Eight Weeks Endurance Training, Somatropin Injection, and Its Lipolytic Fragment (AOD9604) on Cytokeratin-18 and Liver Enzymes

of Mice Induced Liver Damage Due to a High-Fat Diet. *Internal Medicine Today*. 2021;27(4):502-17.[10.32598/hms.27.4.3513.1] [In Persian]
21. Zhang Y, Yang Z, Xu Z, Wan J, Hua T, Sun Q. Exercise ameliorates insulin resistance and improves SIRT6-mediated insulin signaling transduction in liver of obese rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2021;99(5):506-11.[10.1139/cjpp-2020-0083]
22. Kuang J, Chen L, Tang Q, Zhang J, Li Y, He J. The role of Sirt6 in obesity and diabetes. *Frontiers in physiology*. 2018;9:135.[10.3389/fphys.2018.00135/full]
23. Kanwal A, Pillai VB, Samant S, Gupta M, Gupta MP. The nuclear and mitochondrial sirtuins, Sirt6 and Sirt3, regulate each other's activity and protect the heart from developing obesity-mediated diabetic cardiomyopathy. *The FASEB Journal*. 2019;33(10):10872.[10.1096/fj.201900767R]
24. Shahhosseini S, Ravasi A, Nouri R. Sirtuin 6 gene expression and telomere length ghanges in old rat hepatocytes after 6 weeks swimming exercise and resveratrol supplementation feeding. *Studies in Medical Sciences*. 2021;32(8):619-30.[10.52547/umj.32.8.619] [In Persian]
25. Mohammadkhani R, Khaledi N, Rajabi H, Komaki A, Salehi I. The influence of maternal high intensity interval training before and during pregnancy on the heart genes of adult female wistar offspring. *Razi J Med Sci*. 2023;29(10):258-267. [In Persian]
26. Lalei M, Haghshenas R. The effect of nordic training on plasma levels of peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1-α and Sirtuin 6 in elderly women with diabetes. *Koomesh*. 2024;25(1):65-70. [In Persian]
27. Kazemi M, Abdi A, Mehrabani J, Barari A. The effect of interval training and omega-3 on mitochondrial biogenesis in the liver tissue of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats. *Armaghane Danesh*. 2023;28(5):638-54.[10.61186/armaghanj.28.5.4] [In Persian]
28. Akbari A, Mohebbi H, Tabari E. The effects of high fat diet-induced obesity and interval and continuous exercise training on visceral fat SIRT1 and insulin resistance in male rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2020;19(2):93-102. [In Persian]
29. Afzalpour ME, Sarir H, Zanjirian Z, Moammadnia Ahmadi M, Ghasemi E. The effect of vigorous continuous and interval exercise training along with resveratrol on SIRT3 and OGG1 proteins in the liver tissue of male Wistar rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2020;13(1):111-27.[10.52547/joeppa.13.1.111] [In Persian]
30. Koltai E, Szabo Z, Atalay M, Boldogh I, Naito H, Goto S, et al. Exercise alters SIRT1, SIRT6, NAD and NAMPT levels in skeletal muscle of aged rats. *Mechanisms of ageing and development*. 2010;131(1):21-8.[10.1016/j.mad.2009.11.002]
31. Taran S, Ghorbanian B, Tutunchi H. The effect of eight weeks of Pilates exercise on serum levels of fibroblast growth factor 21 (FGF21), insulin resistance index and lipid profile in women with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2024.[10.22049/jahssp.2024.29350.1622] [In Persian]
32. 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. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2022;32(212):29-41. [In Persian]
33. Stepto N, Hiam D, Gibson-Helm M, Cassar S, Harrison C, Hutchison S, et al. Exercise and insulin resistance in PCOS: muscle insulin signalling and fibrosis. *Endocrine connections*. 2020;9(4):346-59.[10.1530/EC-19-0551]